

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Química

DETERMINACION DE LA GAMMA GLUTAMYL
TRANSPEPTIDASA Y LA TENSION SUPERFICIAL
EN SUEROS DE ENFERMOS CON PADECIMIEN-
TOS HEPATICOS.

173

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

EFREN ANTONIO HOLGUIN CARDENAS

MEXICO, D. F.

1975



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS _____
ABO _____
FECHA T 167 _____
PROC _____
S _____



PRESIDENTE	FERNANDO VELAZQUEZ
VOCAL	OSCAR AMOR DODERO
SECRETARIO	RAMON GUEVARA ESTRADA
1er. SUPLENTE	DEA CORONADO PERDOMO
2do. SUPLENTE	GUILLERMO RENDON PADILLA

TEMA DESARROLLADO EN CD. JUAREZ, CHIH.

SUSTENTANTE:	EFREN ANTONIO HOLGUIN CARDENAS
ASESOR:	OSCAR AMOR DODERO

A MIS PADRES

A MIS HERMANOS

A MIS MAESTROS

CAPITULO I -

INTRODUCCION

a.- Antecedentes

b.- Generalidades sobre padecimientos
hepáticos y de vías biliares.

a.- Antecedentes.

Trabajando en el Departamento de pruebas funcionales hepáticas del laboratorio de análisis clínicos del Centro Médico de Especialidades, S. A. en Ciudad Juárez Chihuahua, me vino a la cabeza la idea de realizar un trabajo orientado a conocer nuevas pruebas de laboratorio para detectar diferentes tipos de enfermedades hepáticas, que nos den una mayor precisión en los datos encontrados en el laboratorio, y al mismo tiempo permitirnos eliminar algunas pruebas que ya se antojan antiguas o que carecen de exactitud en sus diagnósticos, o que son demasiado tardadas en proporcionarnos resultados.

Tomé dos pruebas para efectuar mi trabajo: una enzimática, y la otra de tipo físico; la determinación de gamma glutamyl --transpeptidasa y la determinación de la tensión superficial en dializados de sueros provenientes de enfermos con padecimientos hepáticos para la diferenciación de los tipos de ictericias.

El propósito fundamental es conocer la utilidad neta de estas dos pruebas y en caso positivo introducirlas al medio clínico diagnóstico de esta ciudad, y así, pasar a ser pruebas imprescindibles.

Para empezar a introducirlas, solicité la cooperación de casi la totalidad de los médicos de Ciudad Juárez, Chihuahua, enterándoles del objeto de mi trabajo, facilitándoles informes y literatura sobre ella, informándoles además, que sus pacientes recibirán el resultado de estas dos pruebas sin costo alguno, al

solicitar cualquiera de las pruebas funcionales hepáticas.

Para conocer la utilidad comparativa de estas dos pruebas, se efectuaron también las determinaciones de: fosfatasa alcalina; transaminasa Glutámico Oxalacética; transaminasa Glutámico pirúvica; Bilirrubinas, Turbidez del timol.

Se utilizaron sueros: de 300 pacientes, con enfermedades hepáticas, la mayoría de ellas pertenecientes a hospitales, tanto privados como oficiales, del area de Cd. Juárez, Chih., así como 100 de personas sanas que no padecen de alguna enfermedad renal, pancreática y/o hepática, aislada o asociada.

Para la determinación de la tensión superficial en dializados de suero, se utilizaron bolsas de diálisis de celulosa, -- una estufa a temperatura constante de 30° C. y un tensiómetro de Du Nouy modelo 8551, el cual se muestra en una de las páginas interiores.

Para la determinación de actividad de Gamma Glutamyl ---- Transpeptidasa, se utilizaron 3 métodos diferentes, dos de ellos cinéticos, el otro colorimétrico.

b.- Generalidades sobre padecimientos hepáticos y de vías biliares.

HEPATITIS VIRAL

Hepatitis con período de incubación corto (infecciosa)

Hepatitis con período de incubación largo (Sérica)

A. Hepatitis de incubación corta: Es una infección viral que ya sea en forma esporádica o en epidemias, la lesión hepática es --

parte de una infección generalizada, pero predomina en el cuadro clínico. Es la infección más común del hígado y puede constituir un problema grave de salud pública en casos de aglomeración; por ejemplo, bases militares, hospitales mentales, campos, etc. El Virus se transmite generalmente por la vía intestinal-oral. También se puede transmitir por la sangre de donadores en la fase preictérica de la enfermedad. El virus se encuentra presente en las heces y sangre durante la etapa prodrómica y las fases agudas de la enfermedad icterica y en las heces y sangre en la forma anictérica de la enfermedad, ocasionalmente se observa en portadores asintomáticos. El período de incubación es de 2-6 semanas.

B. Hepatitis de incubación prolongada: La hepatitis "Sérica es una infección viral transmitida generalmente por la inoculación de sangre contaminada o sus derivados, aunque estudios recientes han demostrado que el virus de la hepatitis Sérica, puede ser infectante por la vía fecal-oral. El Virus es semejante al que causa la hepatitis infecciosa, pero sus características inmunitarias son distintas, y la inmunidad cruzada es nula o muy ligera entre ambas enfermedades. El virus se encuentra sólo en la sangre y los tejidos de la persona infectada y no siempre se excreta por vía intestinal. El período de incubación es de 6 semanas a 6 meses. Los datos anatomopatológicos son idénticos a los de la hepatitis infecciosa. El cuadro clínico también es se

mejante, pero siempre existe el antecedente de una inyección, es más frecuente en las personas de edad avanzada y su instalación es más insidiosa que súbita. Lo anterior unido al mayor período de incubación, frecuentemente permite la diferenciación clínica, pero en muchos casos el tipo exacto no puede ser determinado.

Los datos anatomopatológicos en ambas enfermedades muestran grados variables de necrosis de las células parenquimatosas y un número variable de linfocitos y células plasmáticas en las células de la vena porta y en áreas de necrosis. La trama reticular generalmente está conservada, aunque puede condensarse. La reparación se efectúa por regeneración de las células sobrevivientes, usualmente sin distorsión de la arquitectura normal.

El cuadro clínico es extremadamente variable, y va desde una infección asintomática sin icterias, hasta un cuadro fulminante y muerte en unos cuantos días.

Datos de Laboratorio: La fórmula blanca está normal o baja y puede haber linfocitos anormales. Es común la proteinuria ligera, y la bilirrubinuria a menudo precede a la aparición de la ictericia. Durante la fase inicial de ictericia, frecuentemente hay heces acólicas. Las pruebas funcionales hepáticas tienden a reflejar el daño hepatocelular con alteración de las cifras de transaminasas (glutámica oxalacética y glutámico pirúvica), aumenta la globulina gamma y urobilinogenuria.

En la variedad colangioliítica, las pruebas funcionales hepáticas pueden también ser sugestivas de obstrucción. En la hepa

titis sérica, se puede hallar el antígeno de Australia. La biopsia Hepática generalmente muestra las alteraciones morfológicas características.

VARIANTES DE LA HEPATITIS INFECCIOSA

Hepatitis colangioltica: Habitualmente hay una fase colestática en la fase inicial icterica de la hepatitis infecciosa, pero ocasionalmente ésta constituye la manifestación dominante de la enfermedad. El curso tiende a ser más prolongado que en la hepatitis ordinaria y puede desarrollarse una cirrosis biliar.

Los síntomas son a menudo muy ligeros pero la ictericia es más acentuada y frecuentemente hay prurito. Las pruebas de funcionamiento hepático indican colestasis con bilirrubina y fosfatasa alcalina elevada y colesterol.

La diferenciación de la obstrucción extrahepática puede ser difícil aún con biopsia del hígado. Esta debe practicarse con cautela excesiva en presencia de obstrucción biliar extrahepática.

Hepatitis Fulminante: la hepatitis puede seguir un curso rápidamente progresivo y terminar en menos de 10 días. Hay extensa necrosis de grandes porciones del hígado, la cual da la imagen patológica característica de la atrofia hepática aguda. La toxemia y los síntomas gastrointestinales son más graves y con frecuencia hay fenómenos hemorrágicos. Pueden aparecer manifestaciones neurológicas del coma hepático.

La ictericia puede faltar o ser mínima, pero los exámenes de laboratorio indican un daño hepatocelular muy acentuado. Las exanguinotransfusiones han sido recomendadas en la hepatitis fulminante. Aunque el coma hepático puede mejorarse transitoriamente, el pronóstico en esta forma de enfermedad no es modificado. Puesto que los pacientes mueren en coma y no por el coma hepático, no se recomienda el procedimiento.

Hepatitis prolongada: La persistencia de síntomas 6 meses o más después de un período agudo de hepatitis, presenta el problema de diferenciación entre psiconeurosis, hepatitis persistente y hepatitis crónica activa.

Los Hallazgos patológicos en la hepatitis persistente son idénticos a aquellos de la enfermedad aguda independientemente de la duración de la enfermedad. Los resultados de las pruebas de funcionamiento hepático son similares si no idénticas a la fase aguda de la enfermedad.

HEPATOPATIA INDUCIDA POR MEDICAMENTOS Y TOXINAS

La introducción de nuevas drogas en la medicina ha dado por resultado un aumento de reacciones tóxicas de muchos tipos. No es raro que el sitio de la reacción tóxica sea el hígado.

El diagnóstico de hepatopatía por drogas no es siempre fácil, y en muchos casos el diagnóstico se hace sólo después de un largo período de observación o cuando la administración repetida del agente aclara la relación causal. Las hepatopatías por dro--

gas pueden simular hepatitis infecciosa o ictericia obstructiva. El Clínico debe estar conciente de este tipo de reacciones e interrogar cuidadosamente al paciente en lo que se refiere al uso de varios medicamentos antes de poder descartar a la hepatopa--tía tóxica como posibilidad diagnóstica.

Aunque se han informado casos fatales por hepatopatías --por drogas, la mayor parte de los pacientes se recuperan sin --complicaciones graves si la droga se suspende pronto y en la mayoría de los casos en forma permanente a partir de entonces. Se han observado fallecimientos cuando los medicamentos hepatotóxicos se reinstalan en pacientes susceptibles.

A continuación se enumera substancias y medicamentos de--otros muchos que pueden causar hepatopatía tóxica:

Alcohol, tetracloruros de carbono, cloroformo, metales --pesados, fósforo, hongos venenosos cincofeno, cloramfenicol, --iproniacida novobiocina, arsenicales, ácido amino salicílico, --cloropropamida, sulfadiacina, etilurea, etc.

En ocasiones han sido reportadas anormalidades de la función hepática incluyendo transaminasas elevadas, retención de --la bilirrubina sérica y bromosulfaleína debido al uso de anti--conceptivos; algunos estudios sugieren que el efecto hepatotóxico de los anticonceptivos orales es debido primariamente a su --contenido de progesterona.

CIRROSIS

La Cirrosis es la forma más común de padecimiento hepático crónico. Se debe a muchas causas, pero en la mayor parte de los casos ésta no puede ser determinada. Los siguientes factores probablemente desempeña un papel importante en la etiología: Desnutrición (Complejo B) alcoholismo, hepatitis, contacto crónico y repetido con hepatotoxinas.

Las características anatomopatológicas esenciales son la degeneración y necrosis de los hepatocitos, a menudo son metamorfosis grasosa; regeneración modular con pérdida de la imagen lobulillar normal y las relaciones con vasos sanguíneos y los conductillos biliares; aumento en el tejido fibroso, habitualmente en bandas delgadas; proliferación de los conductillos biliares, e infiltrado celular inflamatorio durante las fases de degeneración parenquimatosa activa.

La característica principal que la distingue de otros tipos de cirrosis, es la uniformidad del proceso, siendo los nódulos de menos de 0.5 mm. de diámetro. La alteración en la circulación porta conduce a la esplenomegalia congestiva y a otras manifestaciones de hipertensión porta como son las várices esofágicas. La frecuencia más elevada en el sexo masculino y se presenta entre los 40 y 60 años.

Datos de laboratorio: Durante el período latente de la enfermedad puede no haber anormalidades en las pruebas de laboratorio o ser estas mínimas. La anemia es un hallazgo frecuente. Ge-

neralmente es normocítica, rara vez macrocítica. La cuenta de -- leucocitos puede ser baja, elevada o normal y puede reflejar un estado de hiperesplenismo. La velocidad de sedimentación esta -- aumentada; puede haber anormalidades en la coagulación como re-- resultado de la síntesis insuficiente de los constituyentes de la coagulación en el hígado. Puede haber proteinuria y es frecuente la oliguria en las fases activas con formación de ascitis. Las - pruebas de funcionamiento hepático muestran principalmente una - disfunción hepatocelular.

La diferenciación de la cirrosis porta de otros tipos de cirrosis es difícil. La hemocromatosis se presenta casi exclusivamente en el sexo masculino y se acompaña de pigmentación cutánea. La cirrosis postnecrótica se presenta con más frecuencia en mujeres y en individuos jóvenes, con antecedentes de hepatitis - infecciosa. La Cirrosis biliar se caracteriza por ictericia, hiperlipemia y pigmentación cutánea.

CIRROSIS POSTNECROTICA

Los datos clínicos y de laboratorio en la cirrosis postnecrótica son indistinguibles de los de la cirrosis porta, pero los siguientes datos son de valor diagnóstico: La cirrosis postnecrótica no se relaciona con el alcoholismo; su incidencia es más alta en el sexo femenino y la edad de su instalación es antes de los 40 años en ambos sexos, el comienzo es a menudo similar al de la hepatitis viral aguda; la ictericia es habitualmen

te más intensa y de aparición más temprana; y la hiperglobulinemia (predomina la gamma globulina) es un hallazgo constante pudiendo alcanzar niveles extremos (10 gr/100 ml).

HEMOCROMATOSIS

La hemocromatosis idiopática se caracteriza por absorción excesiva de hierro, con depósito de hemosiderina en hígado, páncreas, corazón, suprarrenales, testículos y riñón. Eventualmente el paciente puede desarrollar insuficiencia hepática, cardíaca y pancreática. La enfermedad comúnmente se presenta en hombres y es raro encontrarla antes de la segunda y tercera década de la vida. Las manifestaciones clínicas incluyen hepatomegalia e insuficiencia hepática, pigmentación cutánea (gris pizarra por el hierro y pardo por la melanina), cardiomegalia e insuficiencia cardíaca, y diabetes mellitus con sus complicaciones. Puede ocurrir sangrado de várices esofágicas y carcinoma hepático.

Los datos de laboratorio incluyen la elevación de hierro en plasma, capacidad saturada de la proteína que fija el hierro, y biopsia característica de hígado con tinción para hierro.

ESTADOS DE HIPERBILIRRUBINEMIA

Disfunción hepática constitucional (enfermedad de Gilbert)

Es una forma benigna de ictericia que debe diferenciarse de enfermedad hemolítica y hepatitis crónica. La bilirrubina en plasma se encuentra principalmente en su forma no conjugada. El

resto de los exámenes de laboratorio son normales.

Ictericia Idiopática crónica familiar (síndrome de Dubin-Sprinz-Johnson).

Se cree que esta forma de ictericia es debida a una función excretoria deficiente del hepatocito y se caracteriza por elevación de la bilirrubina sérica (forma conjugada), y fosfatasa alcalina normal. La vesícula es negativa en rayos X, y la biopsia hepática revela pigmentación acentuada.

Síndrome de ROTOR.- Este es similar al síndrome de Dubin-Sprinz-Johnson y, de hecho, puede ser una variante de él. Sin embargo en el síndrome de Rotor no hay pigmentación del hígado y la vesícula se visualiza fácilmente en la colecistografía.

Síndrome de Crigler-Najjar.- Esta es una forma rara de ictericia severa hereditaria y no hemolítica; aparece poco tiempo después del nacimiento y se debe a la ausencia de glucuroniltransferasa. La Bilirrubina no conjugada se acumula en el niño.

Colestasis Intermitente Benigna.- El paciente con colestasis intermitente benigna presenta característicamente períodos prolongados de prurito, ictericia y malestar general. Es típico que se encuentren elevadas la bilirrubina sérica, la fosfatasa alcalina y la retención de bromosulfaleína. El hígado muestra colestasis y durante las remisiones es completamente normal.

La cirrosis biliar es una enfermedad crónica del hígado, manifestada clínicamente por colestosis. Este se obstruye con más frecuencia fuera del hígado por un cálculo, neoplasia, cica

triz o atresia congénita. La estasis por sí misma, puede producir cirrosis pero frecuentemente la infección agregada acelera el proceso. Las obstrucciones intrahepáticas, más raras, pueden no tener una causa identificable, pero se ha notado que siguen a la hepatitis viral, especialmente de tipo colangioliático, y a la colangitis intrahepática. Algunos casos pueden deberse a toxinas. La enfermedad es mucho más frecuente en mujeres.

Los datos anatomopatológicos varían con la causa y la etapa del proceso, pero los siguientes son característicos; Estasis biliar con trombos de bilis, pigmentación, proliferación-acentuada de conductillos biliares, pérdida nodular de la arquitectura normal, escasas manifestaciones de necrosis hepática o regeneración y ausencia de degeneración grasosa. Las lagunas biliares y los infartos biliares son características de obstrucción extrahepática.

Datos de laboratorio: No se encuentran anomalías en las pruebas hematológicas fuera de aquellas debidas a la lesión inicial.

Las evacuaciones son frecuentes, descoloridas, de aspecto grasoso, y el urobilinógeno fecal está disminuido. La orina es oscura y contiene bilis. Las pruebas de funcionamiento hepático al principio son características de obstrucción: (Fosfatasa alcalina elevada y Colesterol sérico alto, especialmente la fracción no esterificada; disminución en la protrombina, elevación de la bilirrubina); pero a medida que persiste la obstruc-

ción aparece evidencia de disfunción hepatocelular. La hiperlipemia, con un aumento predominante en el colesterol y fosfolípidos, puede llegar a cifras extremas de más de 3 gr/100 ml. Sin embargo el suero no aparece lechoso.

COLECISTITIS AGUDA

La Colecistitis se asocia con cálculos biliares en el 90% de los casos. La colecistitis aguda generalmente se instala sobre un proceso crónico y se desencadena por obstrucción del conducto cístico por un cálculo (u ocasionalmente por edema en ausencia de cálculos). Rápidamente la vesícula se hace tensa, edematosa e inflamada. La infección se presenta a menudo como resultado de la invasión por organismos residentes.

Datos de Laboratorio: La leucocitosis moderada es un dato típico. Las cifras de billirrubina sérica pueden ser de 1-4 mg/100 ml. sin que haya obstrucción de colédoco; la ictericia clínica aparece cuando la bilirrubina excede cifras de 2.5 mg/100 ml. Rara vez se encuentra una ligera elevación de la amilasa sérica.

Los trastornos que son más susceptibles de confundirse -- con colecistitis son la úlcera péptica perforada, pancreatitis aguda, absceso hepático, congestión hepática, hepatitis viral aguda y neumonía con pleuresía derecha.

COLELITIASIS

La elevada frecuencia de cálculos biliares en la población general es responsable de la frecuencia clínica de coloci-

titis. Los estudios de autopsia revelan que el 32% de las mujeres y 16% de hombres de más de 40 años de edad tienen cálculos biliares. La frecuencia de cálculos aumenta bruscamente alrededor de los 40 años. El embarazo es una causa predisponente importante de los cálculos biliares, y la obesidad puede ser también un factor contribuyente; de aquí que la descripción de un paciente típico de cálculos biliares sea: mujer obesa y de 40 años de edad.

Los cálculos biliares habitualmente consisten de colesterol, bilirrubinato de calcio, carbonato de calcio o una mezcla de éstos. Cerca del 90% de los cálculos que se asocian a colecistitis crónica son de la variedad mixta, mientras que los tres tipos precedentes de cálculos puros pueden verse en vesículas relativamente normales. Los cálculos de bilirrubinato de calcio tienden a presentarse, algunas veces en edades tempranas, en enfermedades tales como la anemia hemolítica congénita y anemia de células falciformes como resultado del aumento de bilirrubina en la bilis.

La infección juega un papel importante tanto en la coledocolitiasis como en la colecistitis. La afección bacteriana de la vesícula en forma crónica y de baja intensidad produce detritus celulares en los cuales se precipitan las distintas sales en las etapas tempranas de la formación de cálculos mixtos. Cuando hay obstrucción mecánica del cístico es frecuente la infección invasiva de la vesícula distendida. En cerca de la mitad de los ca-

Los cálculos de vesículas calculosas extirpadas quirúrgicamente pueden obtenerse cultivos de bacterias de origen intestinal (estreptococos, coliformes y estafilococos).

COLEDOCOLITIASIS

Cerca del 10% de los pacientes con cálculos biliares tienen coledocolitiasis. El porcentaje aumenta con la edad, y la frecuencia en personas de edad avanzada puede elevarse hasta el 50%. Los cálculos del colédoco habitualmente se originan en la vesícula pero pueden formarse también en el colédoco mismo. Estos cálculos frecuentemente son "silenciosos" ya que los síntomas no aparecen a menos que exista cierto grado de obstrucción.

Datos de Laboratorio: Deben practicarse pruebas de función hepática en todos los casos. Si el colédoco se encuentra obstruido habrá bilirrubinuria y elevación de bilirrubina en suero. La elevación de la Fosfatasa alcalina es especialmente sugestiva de ictericia obstructiva. En vista de que la retención de bromosulfaleína aumenta por obstrucción biliar, esta prueba no valora la función hepatocelular en estas circunstancias. La prolongación del tiempo de protrombina se hace aparentemente cuando la bilis ha sido excluida del tubo gastrointestinal durante varias semanas, aparece lesión hepática y la diferencia entre ictericia obstructiva y hepatocelular se hace cada vez más difícil.

CARCINOMA DE LAS VIAS BILIARES

El carcinoma de la vesícula biliar se presenta en aproxi-

madamente 2% de los pacientes operados por enfermedades de las vías biliares. Es afección característicamente insidiosa y, por lo general, el diagnóstico se hace en la mesa de operaciones. - Las manifestaciones iniciales pueden ser metástasis que por extensión directa invaden el hígado o el peritoneo.

El carcinoma del conducto biliar es menos frecuente. Por lo general se presenta como ictericia obstructiva aguda.

Los datos de laboratorio consisten en anormalidades de las pruebas funcionales hepáticas, indicativas de obstrucción de flujo biliar.

CAPITULO II

LAS PRUEBAS CLASICAS

- a.- Fosfatasa alcalina
- b.- Transaminasas
 - glutámico oxalacética
 - glutámico pirúvica
- c.- Bilirrubinas
- d.- Turbidez del timol

En este capítulo se detallan brevemente las pruebas de laboratorio que se usaron para comparar y poder la utilidad de la determinación de la actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa sérica y de la tensión superficial en los sueros de pacientes con enfermedades hepáticas.

a.- Fosfatasa Alcalina.

Fosfohidrolasa del monoéster ortofosfórico. Al principio, el interés por la fosfatasa alcalina del suero se refería a las altas concentraciones encontradas en enfermos osteópatas, probablemente como reflexión de una actividad osteoblástica aumentada, ya que el osteoblasto es rico en enzima. Pero pronto le sucedió la observación de que también aumentaban los índices de esta fosfatasa en enfermos de ictericia obstructiva.

Cuando la obstrucción es completa y prolongada, la actividad de la enzima del suero está casi siempre aumentada, con índices a menudo superiores a 25 Unidades Bodanzky (normal: 1-4 UB). Sin embargo, se encuentran otros menos de 25 Unidades en casos de ictericia obstructiva, sobre todo de poca duración, o cuando la obstrucción es incompleta. La obstrucción biliar a causa de carcinoma produce valores más altos que los apreciados en pacientes con lesiones obstructivas benignas. Una variedad de ictericia obstructiva en concentraciones normales de fosfatasa alcalina en el suero es la observada en lactantes con atresia congénita del árbol biliar extrahepático; con ellos, el índice de fosfa

tasa alcalina del suero no está elevado, a menos que sobrevengan lesiones óseas de raquitismo hepático. En contraste, las criaturas con atresia biliar intrahepática muestran sorprendentes elevaciones de fosfatasa en el suero.

También se encuentran índices altos de fosfatasa alcalina del suero en la ictericia hepatocelular. Un 90% de los enfermos de hepatitis vírica o de hepatocelular tóxica los tienen elevados, casi todos ellos de menos de 15 UB; un 5% de los últimos -- pueden tenerlos de 15 a 25 unidades. En la hepatitis vírica, característica en otro aspecto, es raro hallar índices de fosfatasa alcalina de más de 25 unidades.

En intéricos con concentraciones mayores ha de tenerse en cuenta la variedad poshepática.

Algunos enfermos de hígado pueden presentar un esquema de laboratorio y clínico que simule ictericia obstructiva. Esto se ha denominado "Hepatitis colangioliítica" o "colestasis intrahepática", y a veces se considera como una variante de hepatitis. Se ha observado una afección análoga que muestra una reacción adversa frente a ciertos fármacos, como clorpromacina, metiltestosterona y arsenicales orgánicos.

Los pacientes con hepatitis colangioliítica tienen índices de fosfatasa alcalina por lo menos tan altos como los observados en enfermos de ictericia poshepática.

La concentración de fosfatasa alcalina en el suero es --- útil para diferenciar la ictericia hepatocelular de la obstructi

va, con varias salvedades, como ya se ha dicho pueden observarse índices típicos de ictericia obstructiva en casos de afección hepática intrínseca, y otros propios de ictericia hepatocelular en pacientes con obstrucción biliar incompleta. Combinada con otras medidas propias de afecciones hepáticas y de datos clínicos, --- constituye un recurso auxiliar útil de diagnóstico.

A veces se encuentra también elevada la fosfatasa alcalina del suero en pacientes no ictericos con afección hepatobiliar. En enfermos con lesiones expansivas del hígado, como afección -- granulomatosa, cáncer metastático o primario del hígado, absceso hepático y amiloidosis, el grado de elevación de la fosfatasa al calina puede ser sorprendente en ocasiones (50 a 100 U.B.), con escaso o nulo aumento de los índices de bilirrubina en suero.

Este tipo de disfunción hepática es muy útil para diagnosticar tales lesiones expansivas, particularmente metástasis del hígado en pacientes carcinomatosos.

Hay otro tipo de enfermedad asociado a índices de bilirrubina normales en el suero, pero con los de fosfatasa alcalina muy aumentados; es la oclusión de un conducto hepático o la incompleta del colédoco o del conducto hepático. Este caso debe tenerse en cuenta, sobre todo, ante enfermos de colelitiasis que desarrollan este tipo "disociado" de disfunción hepática.

Los índices de fosfatasa alcalina en la cirrosis de Laennec suelen estar normales o poco elevados; en la cirrosis posnecrótica son generalmente algo mayores, y en la cirrosis biliar -

se ven regularmente altos.

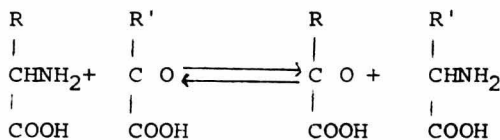
En la cirrosis biliar obstructiva, las elevaciones son -- discretas, por lo regular de menos de 15UB, salvo durante crisis de colangitis ascendente.

No se conoce bien la causa de esta elevación de índice de fosfatasa alcalina del suero en pacientes con enfermedad hepato-biliar. Se ha sugerido que provenga de una defectuosa elimina--- ción hepática de la enzima formada en los huesos, en el hígado o en ambos; o acaso de una producción mayor de fosfatasa alcalina- por células hepáticas o de una descarga más abundante desde es-- tas.

Para la determinación de la fosfatasa alcalina en este -- trabajo, se utilizó el método colorimétrico de Klein-Babson-Read, el cual emplea como sustrato un amortiguador de fosfato de fenofta- leína, hidróxido de sodio como desarrollador de color, y se mide la cantidad de fenoftaleína liberada por la enzima.

b.- Transaminasas.

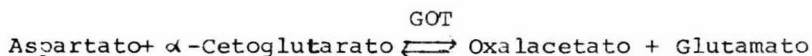
Enzimas que catalizan el transporte reversible de un gru- po amino desde un aminoácido a un ácido cetónico, fueron descu-- biertas primeramente en tejidos animales por Braunshtein y Kritz- mann en 1937. Estos autores les dieron el nombre de aminotransfe



rasa. Aunque se han demostrado numerosas transaminasas con especificidad de sustrato en diversos tejidos animales, sólo han sido descritas dos en el suero: Transaminasas Glutámico Oxalacética (GOT) y Glutámico Pirúvica (GPT).

Se observan índices anormales de GOT en pacientes con afección hepática, necrosis del miocardio y de músculos estriados y otras enfermedades que se describiran. La Transaminasa Glutámico-Pirúvica no se eleva apenas en dolencias que no interesen el hígado con carácter primario y secundario.

Transaminasa Glutámico Oxalacética.- Esta enzima cataliza el transporte reversible del grupo amino del ácido glutámico al ácido oxalacético. Se ha encontrado en el suero y los tejidos de todos los animales estudiados. El hombre la contiene, a concentra



ciones decrecientes, en los tejidos cardíaco, hepático, muscular, estriado, renal y cerebral. La comprobación de su abundancia en el miocardio llevó en 1953 al descubrimiento de que los pacientes con infarto de miocardio agudo tenían un índice elevado de esta enzima en el suero durante unos días después de la crisis. Poco después, investigaciones en diversos laboratorios relevaron grandes concentraciones de ella en el suero de personas y animales -- con necrosis hepática aguda.

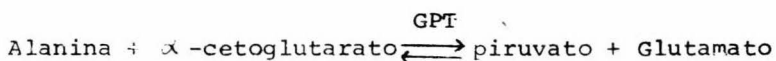
Se observaron elevaciones sorprendentes (200 a 2000 UI/Lt)

en el suero de casi todos los enfermos de necrosis hepática aguda (hepatitis vírica, intoxicación con tetracloruro de carbono). Los pacientes con ictericia poshepática y hepatitis colangiolitica tienen elevaciones mas modestas (usualmente, de menos de 150-UI/Lt). En casos de cirrosis del hígado, la frecuencia de índices elevados de GOT (también menores de 150 UI/Lt) es de 60 a --70%.

Aproximadamente, la mitad de los enfermos con cáncer me--tastático tienen índices elevados de GOT en el suero, con igual--margen que los de cirrosis e ictericia poshepática.

Con menos frecuencia se encuentran tales índices moderada--mente elevados de GOT en pacientes con linfoma y leucemia. En --80% de los enfermos con mononucleosis infecciosa se observan ob--servaciones moderadas (50 a 300 UI/Lt) de GOT. en infartos de --miocardio se ven índices de GOT de menos de 200 UI/Lt.

Transaminasa Glutámico Pirúvica.- Esta enzima cataliza el transporte reversible de un grupo amino del ácido glutámico al --pirúvico.



También se ha encontrado muy difundida en personas. Su elevada --proporción en el hígado, comparada con su relativa escasez en el miocardio y en otros tejidos, ha inducido a aplicar la determinación de GPT al estudio de las afecciones hepáticas.

Los pacientes con hepatitis vírica y otras formas de ne--

crosis hepática muestran elevaciones muy notables del índice de GPT en el suero (500 a 2000 UI/Lt). La frecuencia de GPT anormal en enfermos de ictericia poshepática, hepatitis colangioliítica y cáncer metastático es análoga a la de GOT en estas afecciones. - En pacientes con cirrosis hepática de Laennec y la intensidad de elevaciones de GPT son menores que las de GOT. Hemos comprobado que la GPT se eleva más que la GOT en el 75% de los enfermos de hepatitis vírica, cifra mas baja que la comunicada por De Ritis y sus asociados. Los índices de GPT son normales o muy poco elevados en pacientes con infarto al miocardio.

Utilidad clínica de la determinación de las Transaminasas.-

La evaluación de las transaminasas del suero es un recurso clínico valioso.

La diferenciación entre ictericia hepática y obstructiva se facilita determinando los índices de GOT y GPT, pues las concentraciones de mas de 150 UI/Lt. son raras en enfermos de la variedad obstructiva.

En el tipo hepatocanalicular (colangioliítico) de ictericia hepática, los índices de GOT (o de GPT) son como los encontrados en la obstructiva.

De igual modo, en cirrosis del hígado, aún con intensa ictericia, el índice moderado de GOT y el reducido de GPT contrastan con los elevados de ambas transaminasas que se observan en la hepatitis vírica aguda. La determinación de GOT, de GPT o de ambas es útil para el diagnóstico precoz de la hepatitis vírica o -

tóxica y sirve por ello para examinar a pacientes expuestos a la acción de medicamentos hepatotóxicos. Las elevaciones del índice de GPT parecen reflejar una hepatopatía aguda algo más eficazmente que los índices de GOT. La concentración de cualquiera de estas enzimas, particularmente de la GOT, puede estar elevada en pacientes con enfermedad extrahepática.

Para determinación de Transaminasas en este trabajo se utilizó el método colorimétrico de REITMA-FRANKEL; el cual se basa en que la cantidad de oxalacetato o piruvato formado en una hora, es determinado colorimétricamente por la formación de hidrazonas que son coloridas. Este método utiliza Aspartato-cetoglutarato como sustrato para GOT, y Alanina-Cetoglutarato para GPT, 2, 4 dinitrofenilhidrazina como desarrollador de color, --- NaOH 0.4 N para parar la reacción y se lee a 505 m μ .

c.- Bilirrubina

Conocer el metabolismo de la bilirrubina es esencial para comprender bien una afección hepática. La bilirrubina es un producto de la hemoglobina, formada a expensas de esta última en el sistema reticuloendotelial. Allí se separa de la protoporfirina del hierro y la globina contenidos en la molécula y se abre el anillo. La bilirrubina resultante es transportada por la sangre (flojamente ligada a albúmina) al hígado. En este órgano se conjuga con ácido glucurónico para formar el diglucurónido, que el hígado vierte en el duodeno. En los intestinos, la acción enzimá

tica bacteriana convierte la bilirrubina, a través de un grupo de compuestos intermedios, en varios otros afines designados por el nombre colectivo de "urobilinógeno" pasa por absorción a la sangre y vuelve a ser excretada por el hígado. Normalmente se -- descargan pequeñas cantidades (1 a 4 mg. en 24 horas) con la orina. Empleando el método de dos horas de Watson, los individuos normales tienen menos de una unidad Erlich en la muestra de dos horas. Los índices de urobilinógeno fecal en personas normales varían entre 50 y 250 mg. diarios.

El índice de bilirrubina en el suero fué determinado primeramente por Van den Bergh y Muller, quienes descubrieron que la bilirrubina en el suero normal reaccionaba con el diazorreactivo de Ehrlich (ácido sulfanílico diazoado) sólo cuando se añadía alcohol. Su observación de que el pigmento de la bilis humana reaccionaba con el mencionado reactivo sin añadir alcohol condujo a reconocer que el hígado había introducido algún cambio en la bilirrubina. Van den Bergh calificó de "Directa" la forma de bilirrubina que reaccionaba con el diazorreactivo sin añadir alcohol, y de "Indirecta", que sólo reaccionaba en presencia de alcohol. El suero de pacientes ictericos por excesiva hemólisis -- mostraba la reacción indirecta, mientras que en el de los ictericos por obstrucción del árbol biliar, los elevados índices de bilirrubinemia daban la reacción "directa". La respuesta del suero a la prueba de Van den Bergh ha servido de base a varias clasificaciones de la ictericia. Sólo en estos últimos años se han con-

seguido aclarar las razones fisicoquímicas de los diferentes tipos de respuesta.

La Bilirrubina "indirecta" se dirige al hígado desde el sistema retículo endotelial, en que se ha formado. Esta bilirrubina es no polar, y por ello no se disuelve en agua. Por consiguiente, reacciona con el diazorreactivo sólo en presencia de un agente (alcohol) donde ambos son solubles. La insolubilidad en agua es también la supuesta base de que bilirrubina indirecta no aparezca en la orina más que en indicios. La bilirrubina directa (conjugada) es el diglucurónido, compuesto polar, soluble por ello en solución acuosa; reacciona directamente con el diazorreactivo y puede aparecer en la orina.

Estudios recientes han demostrado que puede haber también bilirrubina en forma de monoglucurónido. Aunque el diglucurónido se forma en el hígado, a veces se encuentra monoglucurónido en animales hepatectomizados. No se han demostrado hasta ahora los lugares extrahepáticos de formación de monoglucurónido.

En este trabajo utilizamos para la determinación de la bilirrubina el método de Malloy y Evelin con modificación de Duccy y Watson donde se determina la cantidad de bilirrubina que ha reaccionado con el diazorreactivo al cabo de un minuto. Esta bilirrubina de "un minuto" constituye la porción "directa", de Van der Bergh.

La bilirrubina total se valora 15 minutos después de añadir alcohol metílico; y, como ya hemos dicho, la diferencia entre

la bilirrubina total y la de un minuto es la "Indirecta".

El índice de bilirrubina en el suero de personas normales, en nuestro laboratorio, es menor del 1 mg%, casi enteramente de la no conjugada. En algunos laboratorios se da como límite superior normal el de 1.5 mg%; en otros varía de 0.2 a 0.4 mg. el de bilirrubina conjugada.

Los índices de bilirrubina total en el suero por encima de 2.5 mg% suelen producir ictericia.

d.- Turbidez al Timol.

En ciertas enfermedades, una alteración anormal del complejo fosfolípido-proteína de las Beta-globulinas séricas permite la precipitación de un complejo de proteína-timol-fosfolípido cuando se agrega al suero una solución de timol en amortiguador de barbital con escasa potencia iónica. Primeramente fué desarrollada como una prueba de turbidez visual para la función hepática. Al observarse el material precipitado por el reactivo de timol, se encontró que es alto en colesterol y fósforo; se hizo una extracción de los sueros positivos al reactivo de timol con éter para eliminar los lípidos y nos da como resultado que estos sueros ya no precipitan con el reactivo de timol. Análisis electroforéticos de un suero positivo al reactivo de timol antes y después del tratamiento con el reactivo de timol, indica que la eliminación del precipitado de timol causó una disminución en las Beta-globulinas; la movilidad del precipitado de timol fué también similar a movi-

lidad de la Beta globulina. Otras investigaciones indicaron que la eliminación de lípidos o de gamma globulinas de sueros de pacientes con hepatitis infecciosa invierten una reacción positiva de turbidez al timol.

En los primeros días de la hepatitis infecciosa, cuando los valores de turbidez al timol están elevados, hubo un aumento en las beta globulinas y lípidos plasmáticos, y más tarde en la enfermedad, hubo aumento en las gamma globulinas la cual, estuvo elevada todo el tiempo que la reacción de la turbidez al timol estuvo positiva. Ha habido progresos en la estabilidad y estandarización del timol, por medio de la recristalización, los sueros con índices elevados de lípidos pueden dar un entubiamiento "falsamente positivo"; en consecuencia, muestras posprandiales proporcionan a veces valores más altos que los obtenidos en ayunas. En nuestro laboratorio el margen de normalidad es inferior a 4 - unidades.

CAPITULO III

LAS PRUEBAS PROPUESTAS:

- a.- Gamma glutamyl transpeptidasa
- b.- Tensión superficial

a.- Gamma Glutamyl Transpeptidasa.

La Gamma Glutamyl Transpeptidasa es una enzima ligada a membrana, que se ha encontrado en varios órganos parenquimatosos. En individuos normales, esta enzima ha sido encontrada en riñón, páncreas, hígado, bazo e intestino delgado, pero está concentrada en su mayor parte en el riñón, aproximadamente 12 veces la encontrada en tejido pancreático y unas 25 veces la encontrada en tejido hepático; a pesar de esto, la aplicación clínica y de las vías biliares; en enfermedades del riñón aumenta solamente en -- síndromes nefróticos los cuales no han sido tratados; en todas -- las enfermedades hepáticas que han sido estudiadas (hepatitis -- viral, cirrosis, colecistitis, carcinoma metastático del hígado, granuloma hepático, colelitiasis, etc.) la actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa está por encima de lo normal), aunque -- provee información totalmente diferente a la dada por las transaminasas, las cuales indican el daño o la necrosis del hígado. Según Gibinsky, nos dice que mientras las células de un hígado normal contienen poca cantidad de enzima, algunos agentes o estímulos adecuados inducen a la célula hepática a incrementar su producción enzimática, y algunas veces (no siempre) estos aumentos pueden verse hacia la sangre, posiblemente porque la liberación de la enzima requiere de alguna otra clase de daño celular.

Resultados anteriores obtenidos en investigaciones sobre enfermedades hepáticas, nos hacen deducir algo acerca del agente o estímulo, el cual induce al hígado a la producción de Gamma --

Glutamyl Transpeptidasa; la mala nutrición, la enfermedad de -- Crohn's, o colitis ulcerativa tienen un pequeño efecto; el alcohol es un agente muy potente, pues aproximadamente 80 gr. tomados en un período de 5 horas da como resultado después de 18 ho un aumento del 40% para estar por encima del límite superior normal; la obstrucción del ducto biliar es un estímulo muy potente para la producción de esta enzima.

Junto con el fosfatasa alcalina, Leucino aminopeptidasa- y 5' nucleotidasa, la Gamma Glutamyl Transpeptidasa es usualmente enumerada en el grupo de enzimas de Colestasis. Sin embargo- esta clasificación no expresa completamente la importancia del- diagnóstico potencial de esta enzima tan sensible. Junto con -- las transaminasas, la fosfatasa alcalina y la Colinesterasa, la Gamma Glutamyl Transpeptidasa amplía las posibilidades de diag- nóstico diferencial y es uno de los indicadores más sensibles - usados para seguir el curso de enfermedades hepáticas o detec-- tar implicaciones del hígado en otras enfermedades.

La Gamma Glutamyl Transpeptidasa tiene propiedades atractivas como agente diagnóstico; es estable a temperatura ambiente por 2 días, y a 4°C. por más de una semana.

Los métodos para su determinación están todos basados en la transferencia del residuo Gamma Glutamyl de una amina aróma-tica a un receptor que puede ser un aminoácido o un péptido.

Esta enzima es más sensible que la fosfatasa alcalina y- mucho más que la Leucino-amino-peptidasa para indicar enfermeda

des hepáticas y es más activa en relación con las transaminasas - en los casos de obstrucción biliar intra o extrahepática; y lo -- contrario en casos de hepatitis viral.

La actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa es normal en niños, adolescentes y mujeres embarazadas; la actividad es muy alta en casos de obstrucciones hepáticas.

En enfermedades del páncreas se encuentra elevada, lo mismo que en epilepsia, infarto post miocardial, tumores cerebrales, pero más que todo es específica para enfermedades del hígado y -- del tracto biliar.

El interés por su estudio nació por el problema de dilu- - cidar cual tejido era el origen del aumento de la actividad de la fosfatasa alcalina en el suero. El medio convencional de separar- isoenzimas de la fosfatasa alcalina por electroforesis, inactiva- ción por calor o inhibición química no fue útil porque estas - -- isoenzimas frecuentemente son insensibles y dan resultados equivo- cados. En un intento por diferenciar entre las isoenzimas de la - fosfatasa alcalina originadas en hueso e hígado, se utilizó un -- sencillo análisis enzimático para la determinación de la Gamma -- Glutamyl Transpeptidasa. Esta enzima no sufre las inconvenien- - cias de la fosfatasa alcalina y parece más específica para enfer- medades hepatobiliares.

Hepatitis Viral Aguda.- En casos de hepatitis viral aguda- no complicada, donde los niveles de actividad de las transamina-- sas se elevan grandemente, la actividad de la Gamma Glutamyl - - -

Transpeptidasa nos presenta una elevación de aproximadamente una décima de la magnitud del aumento de las transaminasas, sin embargo la actividad de la GOT y GPT disminuyen más rápido que la actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa, y la relación cambia durante el curso de la enfermedad aproximadamente de 10:1 a aproximadamente 1:2, por eso una hepatitis viral declinante puede presentarnos valores mayores de ella que de transaminasas. De todas las enzimas hasta ahora investigadas, la actividad de la Gamma -- Glutamyl Transpeptidasa es la última en regresar a la normalidad, por eso su determinación es más útil para seguir el curso de la recuperación clínica que para el diagnóstico de hepatitis viral aguda.

En casos de hepatitis aguda persistente, la actividad de esta enzima es de aproximadamente 60UI/Lt., la cual es más alta que las actividades de las transaminasas.

El Curso colestático de la hepatitis viral aguda, el primer ataque se indica por una actividad alta de Gamma Glutamyl -- Transpeptidasa, mientras que las transaminasas no presentan más que dos veces la actividad de ella.

Inflamación Crónica del Hígado.- Con la excepción de ataques agudos, la hepatitis crónica agresiva usualmente presenta elevaciones más altas de Gamma Glutamyl Transpeptidas, que de -- transaminasas, usualmente la actividad anda entre 100 a 200 UI/Lt. A medida que la inflamación aguda retrocede y el tejido hepático continúa regenerándose su actividad caerá por debajo de 100 UI/Lt.

Por eso en cirrosis inactiva y no progresiva, los niveles de esta enzima son mas bajos que los encontrados en hepatitis crónica.

En casos establecidos de cirrosis, la elevación en la actividad de esta enzima, de 10 a 20 veces los niveles normales es una fuerte indicación de carinoma del hígado.

El caso raro de cirrosis primaria biliar presenta actividades de Gamma Glutamyl Transpeptidasa las cuales exceden de 1000 - UI/Lt., estas elevaciones tan grandes de la actividad de la enzima son encontradas en cirrosis Tóxica alcoholica durante el ataque agudo en un delirium Tremens alcoholico.

Daño Tóxico Nutritivo del Hígado.- Cuando la actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa excede dos veces el nivel normal en hígados grasos, podría indicar en ambos casos un estado tóxico (debido a alcohol) o una reacción inflamatoria secundaria del hígado. El daño tóxico agudo frecuentemente produce niveles de su actividad por encima de 500 UI/Lt., la cual es más alta que la correspondiente elevación de las transaminasas.

Una elevación moderada de Gamma Glutamyl Transpeptidasa puede algunas veces ser el único síntoma enzimológico de daño transitorio del hígado inducido por drogas u otras causas.

En caso de hígado graso no-tóxico, los valores de la enzima muestran una curva paralela a la de las transaminasas, sin embargo presenta 2 o 3 veces más la actividad normal.

En hepatosis Colestática, siempre hay un aumento de ella de 3 a 5 veces lo normal. Este aumento no es tan grande como el

encontrado en una ictericia obstructiva mecánica, solamente en casos serios se ha reportado excepciones.

Ictericia Obstructiva.- La actividad de la Gamma Glutamyl - Transpeptidasa en suero, está siempre elevada en ictericias obstructivas, el aumento es más rápido y más grande que el de la Fosfatasa alcalina y Leucino aminopeptidasa, usualmente encontramos valores de 200 a 300 UI/Lt. pero frecuentemente llegan a observarse valores hasta de 1000 UI/Lt. No hay distinción bien marcada entre una obstrucción benigna y maligna. En perturbaciones del tracto biliar se observan valores altos de su actividad, frecuentemente más de 500 UI/Lt. especialmente durante los ataques de Colangitis crónica y cirrosis colángica.

Metástasis Hepático.- De acuerdo con la localización, tamaño y especialmente el grado de crecimiento metastático en el hígado, los valores de Gamma Glutamyl Transpeptidase pueden estar en un rango de 40 UI/Lt. hasta 1000 UI/Lt.. Siempre se observan niveles elevados previamente al tiempo en que cualquier metástasis puede ser detectada por otros métodos.

Como en los casos de daño tóxico del hígado e inflamación crónicas del hígado debidas a alcohol, el tejido próximo a la metástasis (en algunos casos, la metástasis misma) nos presenta actividades muy altas de la enzima.

Enfermedades del Páncreas.- La pancreatitis aguda presenta siempre una elevación en la actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa, como todas las formas de pancreatitis crónica relaciona

das con inflamación activa y/o implicación del tracto biliar. El Carcinoma de la cabeza del páncrear da una elevación especialmente alta en la actividad de esta enzima. Esto es visto también en otras formas de obstrucción biliar mas baja.

Otras enfermedades.- Todas las enfermedades, las cuales -- pueden llevar una implicación secundaria del hígado, pueden mos-- trar una actividad elevada de la enzima Gamma Glutamyl Transpepti-- dasa ejemplo: mononucleosis infecciosa, Colitis, ulceras, Ente-- ritis Regionales, enfermedades cardiovasculares con insuficien-- cias cardíacas secundarias.

En el 50% de los pacientes con infarto al miocardio, la ac-- tividad esta enzima se encuentra elevada empezando el cuarto o -- quinto día, la actividad maxima se observa entre el octavo y do-- ceavo día y es aproximadamente 100 UI/Lt.

También se encuentra elevada la actividad de esta enzima - en nefrosis lipoides no tratadas y en algunas formas de carcinoma renal.

Embarazo.- En contraste con la fosfatasa alcalina y la - - Leucino amino peptidasa su actividad no está elevada durante el em-- barazo y por eso es mucho más útil en daños del hígado durante el embarazo.

La Orina de adultos sanos contiene aproximadamente 4 a 5 - veces la actividad de esta enzima encontrada en suero. Estudios - recientes han mostrado que enfermedades destructivas e infeccio-- sas agudas en el sistema uro-renal traen como consecuencia un au-

mento en la actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa en orina. Sin embargo en enfermedades crónicas destructivas y predominantemente en cambios renales inactivos debidos a la edad, la actividad de la enzima se encuentra que ha bajado mucho.

b.- La Tensión Superficial

Como una consecuencia de las atracciones intermoleculares, la interfase (zona que se delimita entre dos líquidos no miscibles) tiende a ocupar el área mínima consistente con el volumen de fluidos. El extender el área A de la interfase de una manera isotérmica requeriría el gasto de un trabajo T , donde T , el trabajo por unidad de área aumentada, se denomina tensión interfasial. T es la energía libre de la interfase por unidad de área, y es una función del estado del sistema. Su valor varía marcadamente con la naturaleza de los fluidos y con la temperatura, mientras que la variación por concepto de la presión es generalmente pequeña.

Su valor efectivo se puede ver afectado por la acumulación de materiales extraños en la interfase. Las dimensiones de T son energía/área que son las mismas de fuerza/longitud. Se acostumbra expresar los valores tabulados en dinas/centímetros.

Cuando uno de los fluidos es un gas, un cambio en la naturaleza de este gas, manteniendo todos los demás factores iguales, afecta en forma mínima el valor de T . Por lo tanto la tensión interfasial para un sistema gas-líquido se considera como una pro--

piedad del líquido solo y se le denomina tensión superficial.

Una porción pequeña de líquido dentro del seno de un gas - toma la forma de una esfera, dado que la esfera es el cuerpo que a igualdad de espacio ofrece menor superficie, se deduce que los líquidos presentan la tendencia de hacer su superficie lo más --- pequeña posible, como si la gota estuviera rodeada de una pelíc- la en tensión que ejerciera sobre cada punto una presión. Esta -- presión se considera como la tensión superficial.

Dicha tensión puede ser explicada considerando que las mo- léculas que se encuentran en el seno de un líquido están siendo - atraídas por las demás en todas direcciones y no presentan tenden- cias a desplazarse. Sin embargo, al considerar la capa de molécu- las del aire, estarán siendo atraídas hacia el interior con una - fuerza que da origen, en la superficie líquida, a una tensión se- mejante a la de una membrana, lo cual origina la llamada tensión - superficial.

La tensión superficial de un líquido disminuye al elevarse la temperatura y alcanza un valor extraordinario pequeño a unos - cuantos grados bajo la temperatura crítica. La mayor agitación -- térmica a temperaturas altas reduce la fuerza de atracción a las- moléculas hacia adentro.

La adición de un tercer componente puede disminuir la ten- sión superficial considerablemente, pero si el tercer componente- provoca un aumento en la tensión superficial, el efecto será pe- queño. Los solutos se clasifican en "capilarmente activos" y "ca-

pilarmente inactivos" según sea el efecto que produzcan en la tensión superficial. En el caso de una interfase acuosa solución-ai-re, los electrolitos inorgánicos, las sales de los ácidos orgáni-cos, las bases de bajo peso molecular y algunos no-electrolitos --no volátiles, tales como el azúcar y la glicerina, son capilarmen-te inactivos. Los solutos que son capilarmente muy activos son --los ácidos orgánicos, los alcoholes, los ésteres, los éteres, las aminas, las cetonas, etc. El efecto que producen las sustancias--capilarmente activas sobre la tensión superficial del agua, puede llegar a ser muy grande. Los jabones y los detergentes son espe--cialmente efectivos para disminuir la tensión superficial. Su ---efectividad durante el lavado es debida a la formación de pelícu-las superficiales sobre las partículas de suciedad.

La alta polaridad de una molécula de agua ayuda a explicar el fenómeno de la tensión superficial e, indirectamente, da la --respuesta a preguntas como, por qué se necesitan detergentes para una acción limpiadora en el agua, y por qué las personas cuyos --sistemas no producen bilis necesitan dietas pobres en grasas.

Cuando la superficie del agua está en contacto con el aire o con aceites y grasas, se comporta como si tuviera una membrana-elástica. A esto se debe que el polvo fino o los insectos peque--ños e incluso agujas limpias de acero puedan flotar sobre el agua, a pesar de ser más densos que ella. Bajo la superficie, las molé-culas de agua experimentan fuerzas eléctricas de atracción, en to-das las direcciones. Sin embargo, arriba de la superficie no hay-

moléculas de agua, ni moléculas de polaridad comparable, si arriba de la capa de agua hay aire, aceites o grasas. Por lo tanto, una molécula de agua que esté en una superficie, no puede experimentar fuerzas de atracción iguales en todas las direcciones. -- Existe una atracción hacia el interior, pero por supuesto, las moléculas de la superficie no pueden ser arrastradas muy lejos, de manera que se aglutinan con mayor fuerza en esta que en cualquier otro punto del líquido. Este aglutamiento produce el efecto de una membrana delgada, invisible y elástica, que cubre la superficie; esto es la tensión superficial.

Esta "membrana" superficial explica, en parte, la escasa capacidad del agua para dividir, por si sola, partículas de grasa o aceite.

Estas sustancias actúan como "pegamento" para unir el polvo a las telas y la piel. También pueden recubrir partículas de alimentos en los conductos digestivos. Puesto que las moléculas de grasa son sólo levemente polares, en la interfase situada el agua y la grasa son sólo, se origina practicamente ninguna fuerza sobre la superficie de la grasa para romper la "membrana" y permitir que el agua penetre en ella. Todas las reacciones químicas de la digestión de los alimentos, requieren agua por lo que, las partículas recubiertas con aceite se digieren mal. Afortunadamente, la bilis, uno de los jugos secretados hacia el conducto digestivo, contiene un "jabón" (sal biliar), que reduce notablemente la tensión superficial del agua. En general, los jabones son agentes --

tensoactivos, es decir modifican (disminuyen) la tensión superficial.

Precisamente, basados en que las sales biliares reducen --- notablemente la tensión superficial, fue como nació la idea de realizar estudios en los tres tipos de ictericias en relación con --- las sales biliares séricas y otras substancias tales como el diglucurónido de bilirrubina.

La tensión superficial se determina en dializados de estos sueros ictericos, ya que las sales biliares y el diglucurónido de bilirrubina reducen la tensión superficial del agua. De los dos, --- las sales biliares son más efectivas en disminuir la tensión superficial que el diglucurónido de bilirrubina.

Algunos métodos usados para la determinación de la tensión superficial son:

Experimento de Marwell. Se dispone de un marco en forma de U_x cerrado con una varilla que corre lateralmente. Se introduce en agua de jabón formándose una película; después se puede aplicar -- una fuerza que tiende a estirar la superficie líquida contra la -- tensión superficial, hasta que la película se rompe por la fuerza aplicada en la varilla. Se toma como unidad de medida de la tensión superficial la fuerza que corresponde a 1 cm. de longitud de varilla.

En la experiencia anterior, llamando F a la fuerza aplicada y L a la longitud de la varilla, la tensión superficial T por unidad lineal será, teniendo en cuenta que la película líquida tiene-

dos superficies y por lo tanto, doble tensión superficial.

$$T = \frac{F}{2L}$$

Esto explica fácilmente como, para aumentar la superficie, se hizo un trabajo.

Método del tubo Capilar pequeño, abierto y colocado en posición vertical y con un radio r , la columna del líquido en que se halle sumergido subirá a una altura mayor o menor que la que corresponde a la cabeza estática al pie de la columna. Esta altura será:

$$h = \frac{2T \cos \theta}{Gr (d_1 - d_2 \text{ cm.})}$$

donde T es la tensión superficial en dinas/cm. r es el radio interior del capilar en cm., d_1 y d_2 son las densidades de los fluidos comprendidos, expresadas en g/cc para el líquido y para el gas y G es la aceleración de la gravedad que vale 981 cm/seg.^2 θ es el ángulo de contacto formado por el líquido más pesado.

Cuando la interfase entre dos líquidos se encuentra con un sólido, el ángulo de contacto depende de la naturaleza del material sólido y de la de cada fluido. En la práctica, para un sistema dado, el ángulo varía dentro de límites más o menos definidos, pero el valor exacto depende de la historia del sistema. A la temperatura ambiente considerando el ángulo formado por el líquido en la unión entre la interfase aire-líquido y una superfi

cie de vidrio (1 a pared capilar para el presente caso) el valor aproximado es de 0 para el agua, la mayoría de las soluciones acuosas, el peróxido del hidrógeno y la mayoría de los líquidos orgánicos y el valor del coseno será de 1.

La fórmula se puede aplicar siempre y cuando el tubo sea suficiente pequeño para dar un menisco substancialmente esférico

El valor de la densidad del aire resulta tan pequeño que despreciables y la fórmula se reduce a:

$$h = 2T/Grd$$

Metodo comparativo de los tubos capilares:- Este método de tensión superficial relativa, generalmente en relación con el agua destilada. Para ello se utilizan dos tubos capilares de distinto diámetro.

La manipulación se efectúa de la siguiente manera:

Se hunden los tubos capilares en el agua destilada y se mide la diferencia de altura en los meniscos, se repite la experiencia con el líquido problema. Los tubos deben estar bien limpios y al hundirlos más o menos en el líquido, se observará la misma diferencia de altura en los meniscos y se calcula de la siguiente manera:

$$T' = \frac{h_1' - h_2'}{h_1 - h_2} d$$

lo que nos indica que la tensión superficial se obtiene dividiendo la diferencia de alturas en el líquido problema por la diferencia de alturas en el agua destilada y multiplicando este cociente por la densidad del problema.

Método del Estalagmómetro de Traube.- Este instrumento es un tubo de vidrio terminado en capilar a la salida, con una superficie plana y lisa que regula la formulación de las gotas. La parte ensanchada es de volumen fijo, teniendo además dos graduaciones. Se basa en que cuando un líquido sale de un tubo capilar la caídas en forma de gotas. Las gotas son como un saco dormado por la capa líquida exterior, que es donde se localiza la tensión superfi-cial. La gota se encuentra sostenida por el borde formado en la -- parte superior que se adhiere al tubo.

La tensión superficial relativa o sea comparada con el agua destilada se obtiene con la siguiente fórmula:

$$T' = \frac{n d'}{n'}$$

o sea dividiendo el número de gotas de agua destilada que corres--ponden al volumen del estalagmómetro por el número de gotas obteni-das con el líquido problema y multiplicando el cociente por la den-sidad del líquido.

Método Manométrico de Rebenstorff: Este método, ideado en 1906 consiste en el empleo de un tubo doblado en U que tiene en la parte media una escala. El tubo tiene una cantidad determinada de agua destilada y por uno de sus extremos se encuentran dos tubos -

de hule, uno que termina en una capilar de vidrio que apenas roza la superficie del líquido problema contenido en un vaso y -- otro que se conecta a la llave del aire. Al conectar el aire se procura que las burbujas salgan por el extremo del capilar en forma lenta y continua, a modo de verificar la lectura que corresponde al desnivel del agua en el tubo U.

La fórmula empleada es $T' = rgh^2$, en la que r es el radio de salida del capilar expresado en cm., g es la acción de la gravedad en cm/seg^2 y h es la diferencia de alturas expresada en cm. La tensión superficial T estará dada en dinas/cm.

CAPITULO IV
TRABAJO EXPERIMENTAL

Este trabajo fue realizado con objeto de conocer la utilidad de la determinación de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa y de la determinación de la tensión superficial en pacientes con enfermedades hepáticas al lado de algunas pruebas ya bastante establecidas tales como la actividad de las transaminasas, la actividad de la Fosfatasa alcalina, la determinación de bilirrubinas y la prueba de turbidez al timol.

Se estudiaron 300 pacientes con enfermedades hepáticas o de las vías biliares de varios hospitales pertenecientes al área de Cd. Juárez, Chihuahua, y un grupo menos numerosos de pacientes libres de enfermedades renales, pancreáticas y hepáticas con objeto de encontrar los valores normales tanto para la determinación de la actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa como para la Tensión superficial.

El rango se estableció calculando el porcentaje y la desviación standard. La fórmula utilizada para la desviación standard es:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (\bar{x} - x)^2}{n - 1}}$$

donde s es la desviación standard

\bar{x} es el valor promedio

x es cualquier valor observado

n es el número total de valores observados

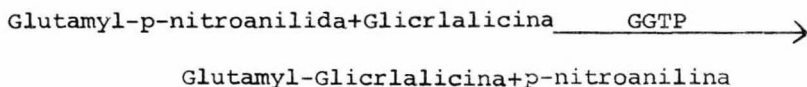
El término medio de la actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa para los hombres fue 13.6 ± 6.9 UI/Lt. (rango 2-39)

y para las mujeres fue 10.9 ± 6.4 U.I/Lt. (rango 2-36), no se encontró mucha diferencia en los valores normales entre hombres y mujeres.

En la determinación de la tensión superficial el término medio fue de 63.68 ± 0.17 dinas/cm. (rango 63.12 - 64.14).

Gamma Glutamyl Transpeptidasa

Para la determinación de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa se usaron equipos de 3 diferentes laboratorios, los cuales varían sólo un poco en su técnica, pero todos están basados en determinar la cantidad de p-nitroanilina formada, la cual es proporcional a la cantidad de enzima presente. La reacción es la siguiente:



La reacción está basada en la transferencia del residuo -- Gamma Glutamyl de una amina aromática a un receptor que puede ser un aminoácido o un péptido.

En el primer equipo se utilizó una combinación de L-Glutamyl-p-nitroanilida y Glicrlalicina liofilizados como substrato, -- los cuales fueron reconstituídos con una solución amortiguadora de 2 amino 2 metil 1,3 propandiol. A estos frascos liofilizados se les agregó 15.5 ml. de solución amortiguadora y se agitaron vigorosamente para completa disolución y obtener una solución clara y transparente, cuando la solución resultaba un poco turbia o contenía partículas sin disolver, se calentaba un poco a 37°C. por --

tres minutos para obtenerla clara.

Esta solución de sustrato ya reconstituida es estable por una semana a 5°C. y por un mes si es congelada.

Se utilizó suero, aunque puede usarse plasma preparado con heparina o con EDTA y la temperatura de reacción debe mantenerse constante.

Se tomaron tres ml. del sustrato reconstituido, se le adicionó 0.2 ml. de suero, se mezcló por inversión y se leyó la Densidad Optica en un espectrofotómetro Coleman Junior II modelo - - 6/20, en cubetas de 1 cm., contra blanco de dicromato de potasio (12 mg. de dicromato de potasio (12 mg. de dicromato de potasio en 100 ml. de agua) y a 405 m a esa lectura se le llamó densidad óptica inicial, exactamente 5 minutos después se volvió a - - leer la muestra contra el mismo blanco de dicromato de potasio pa ra obtener la Densidad Optica Final, luego se resta la inicial de la final:

$$D.O \text{ Final} - D.O \text{ inicial} = \Delta DO / 5 \text{ min.}$$

Si la diferencia era menos de 0.6 entonces se procedía con los cálculos; si la diferencia era más grande que 0.6 entonces -- se repetía la determinación utilizando solamente 0.1 ml. de suero y se multiplica el resultado final por dos.

Los cálculos se efectuaron de la siguiente manera:

$$UI/L_t = \frac{(\Delta DO) (3.2) (FC)}{(.009) (.2) (5)}$$

donde (3.2) representa el volúmen de líquido en la cubeta
 (FC) es el factor de corrección de la temperatura
 (.009) es el coeficiente de extinción micromalar de la p-ni-
 tro anilina a 405 m μ
 (0.2) representa el volumen de suero en la cubeta
 (5) convierte la $\Delta DO/5$ min. en $\Delta DO/1$ min.

A continuación enumeramos algunos de los factores de co- --
 rrección para la temperatura:

°C	Factor	°C	Factor	°C	Factor	°C	Factor	°C	Factor
20	1.32	21	1.25	22	1.17	23	1.11	24	1.05
25	1.00	26	.95	27	.91	28	.87	29	.84
30	.8	31	.77	32	.75	33	.72	34	.67
25	.65	36	.63	37	.61	38	.59		

La actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa puede ser-
 afectada cuando están demasiado ictéricos los sueros o demasiado -
 hemolizados, entonces se utiliza como blanco, la solución de dicro-
 mato de potasio adicionada de 0.2 ml. del suero.

En este método se recomienda EDTA o heparina si se utiliza-
 plasma, porque se ha encontrado que el citrato y el oxalato inhi- --
 ben la acción de esta enzima aproximadamente en un 15%.

El otro equipo usado utiliza una combinación de reactivos--
 liofilizados. Este reactivo contiene gamma glutamyl p-nitroanilida,
 glicylglicina y solución amortiguadora de Tris a pH de 9 cuando se
 reconstituye.

Cada frasco con el reactivo liofilizado se reconstituye -- con 4 ml. de agua destilada, se tapa y esperamos 5 minutos a que se disuelva, se mezcla suavemente, cuando se dificulta la disolución se calienta a 37°C. por 5 o 10 minutos.

Para cada una de las determinaciones se usaron 3 tubos de 16 x 125 mm., para la muestra, el blanco de reactivos y el blanco muestra y se procedió de la siguiente manera:

	muestra	blanco muestra	blanco de react.
substrato amortiguador	0.5 ml	-----	0.5 ml
agua destilada	-----	0.5 ml	-----

Se colocaron los tres tubos en baño maría a 37°C por 5 o 10 min. luego con intervalos de 30 segundos se les añadió:

0.1 de agua destilada al blanco de reactivos

0.1 ml. de suero a la muestra

0.1 ml. de suero al blanco muestra

Se incubaron todos los tubos por 15 minutos exactamente y usando los mismos 30 segundos de intervalo se les agregó 6 ml. de ácido clorhídrico 0.02 N a cada tubo y se mezcló. Se usó para parar la reacción.

Luego se leyó la densidad óptica del tubo de la muestra -- contra el blanco de reactivos y el blanco muestra contra agua en el mismo espectrofotómetro Coleman Junior II model 6/20, en cubetas de 19 mm y a 405 m μ y los cálculos se hicieron de la siguiente manera: Por medio de la curva de calibración se determinaron las UI/Lt. de la muestra y del blanco muestra, se restan para saber -

D.O.

CURVA DE CALIBRACION

DE EBT A 405 NM

.9

.8

.7

.6

.5

.4

.3

.2

.1

50

100

150

200

UI/LT

250



el valor final.

$$UI/L_t \text{ de GGT} = UI/L_t \text{ muestra} - UI/L_t \text{ blanco muestra}$$

Preparación de la curva de Calibración.- Esta curva fue --
revisada cada vez que se cambiaba de reactivo o de patrón y se --
elaboró de la siguiente manera.

Se reconstituyó un frasco de reactivos liofilizado con --
4 ml. de agua como se hizo anteriormente.

Se aumentaron 7 tubos de 16 x 125 mm y se procedió:

tubo	substrato (ml)	amortiguador (ml)	patrón (ml)	HCL .02N (ml)	UI/L _t .
1	.5		0	6.1	0
2	.5		0.1	6.0	25
3	.5		0.2	5.9	50
4	.5		0.4	5.7	100
5	.5		0.6	5.5	150
6	.5		0.8	5.3	200
7	.5		1.0	5.1	250

El tubo 1 se tomó como blanco y se leyó la Densidad Optica
del tubo 2 al 7 antes de que transcurrieran 30 min. en el mismo --
espectrofotómetro, cubetas de 19 mm y a 405 mμ .

Los datos obtenidos fueron:

tubo	2	3	4	5	6	7
D.O	.09	.165	.32	.465	.58	.70
UI/L _t	25	50	100	150	200	250

La solución patrón utilizada, está constituida por 3.75×10^{-4} M de p-nitroanilina en 1×10^{-2} M de ácido clorhídrico; este patrón es una sustancia venenosa, así que es aconsejable no pipetear con la boca y evitar su contacto con la piel.

El siguiente método está basado al igual que los anteriores en la cantidad de p-nitroanilina liberada usando L-Glutamyl-p-nitroanilina como sustrato. La p-nitroanilina liberada es proporcional a la actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa y se determina a $405 \text{ m}\mu$ por la intensidad del color amarillo formado.

Se utiliza una solución amortiguadora de Tris y Glicyl glicina, la cual es calentada antes de usarse a $50^\circ - 60^\circ\text{C}$. aproximadamente.

Se le agregaron 3 ml. de esta solución al sustrato liofilizado y se introdujo al baño maría nuevamente para volver a tomar la temperatura de $50^\circ - 60^\circ\text{C}$; se le adicionó .2 ml. del suero a investigar, se mezcló y se leyó a $405 \text{ m}\mu$ en cubetas de 1 cm. y en un espectrofotómetro Coleman Junior II modelo 6/20; a la primera lectura se le llamó inicial y se empezó a correr el tiempo, después de 5 minutos se volvió a leer y se le llamó lectura final; se obtuvo la diferencia de D.O. por minuto y se calculó el valor de la actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa usando la siguiente fórmula:

$$UI/I_t = \frac{\Delta DO/\text{min} \times \text{volumen} \times 1000}{\text{coef. abs.} \times 1\text{cm.} \times \text{volumen de la muestra donde}}$$

el volumen total es 3.2 ml.

1 cm. es el correspondiente a la medida de la cubeta
el coeficiente de absorbanza de la p-nitroanilina a 405 -
m μ es de 9.9 cm².

el volumen de la muestra es 0.2 ml.

Despejando la fórmula se transforma en un factor que es -
1616

$$\Delta D.O_{405 \text{ m}\mu} / \text{min} \quad X \quad 1616 = UI/L_t. \text{ de suero}$$

Cuando la D.O./min. era mayor que .15 entonces diluímos
.1 ml. de suero con 0.9 ml. de esta solución salina y se repitió-
la determinación con 0.2 ml. de esta dilución y el resultado se -
multiplicó por ¹⁰10.

Tension Superficial

Se determinó la tensión superficial en dializados de suero
contra agua de varios pacientes hepáticos. Se pusieron 0.3 ml. de
suero en una bolsa de diálisis, la cual se introdujo en 5 ml. de
agua a 30°C. y el contenido fué suavemente agitado. Después de --
una hora, el dializado fue removido, se agregaron 5 ml. más de --
agua y se continuó la diálisis por 1 hora más, luego al dializado
se le determinó la tensión superficial usando el tensiómetro de-
DU Nouy modelo 8551 de la casa Krüss. Para mantener la temperatu-
ra a 30°C. se hizo el dializado dentro de una estufa a dicha tem-
peratura.

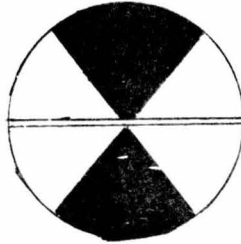
El tensiómetro de Du Nouy trabaja basado en el principio -
de la medición de la fuerza necesaria para separar un anillo de -

platino de la superficie de un líquido y se le conoce como tensiómetro de superficie; la fuerza es medida por una balanza de torsión altamente sensible, ajustando el nivel de la superficie del líquido hasta el punto de rompimiento (justamente cuando el anillo se separa de la superficie del líquido) en que el brazo de torsión permanece en la posición balanceada.

El tensiómetro de Du Nouy es uno de los más simples y convenientes instrumentos para la medida de la tensión superficial y rinde resultados muy precisos. Se le ha encontrado una amplia aplicación en pruebas de agentes activos de la superficie tales como detergentes, agentes emulsificantes, agentes humectantes etc., en el campo de la oxidación y polimerización de grasas, aceites y ahora últimamente en los análisis clínicos para ayudar a investigar los tres tipos de ictericias.

El tensiómetro de Du Nouy consta de un alambre delgado de acero que está unido a ambos extremos de las cabezas de torsión, las cuales pueden ser movidas sólo con herramienta adecuada. Un alambre delgado está sujeto al centro del alambre de torsión en un extremo, el otro extremo de este alambre tiene forma de gancho. El anillo de Platino e iridio es cuidadosamente removido de la caja de madera, donde se encuentra en una superficie suave y acolchonada, el anillo en su parte terminal tiene un gancho con el cual puede ser colgado en el gancho de la balanza. Se coloca sobre la mesa el vaso con el dializado al cual se le determinará la tensión superficial. Ahora por movimiento del tornillo lo hacemos

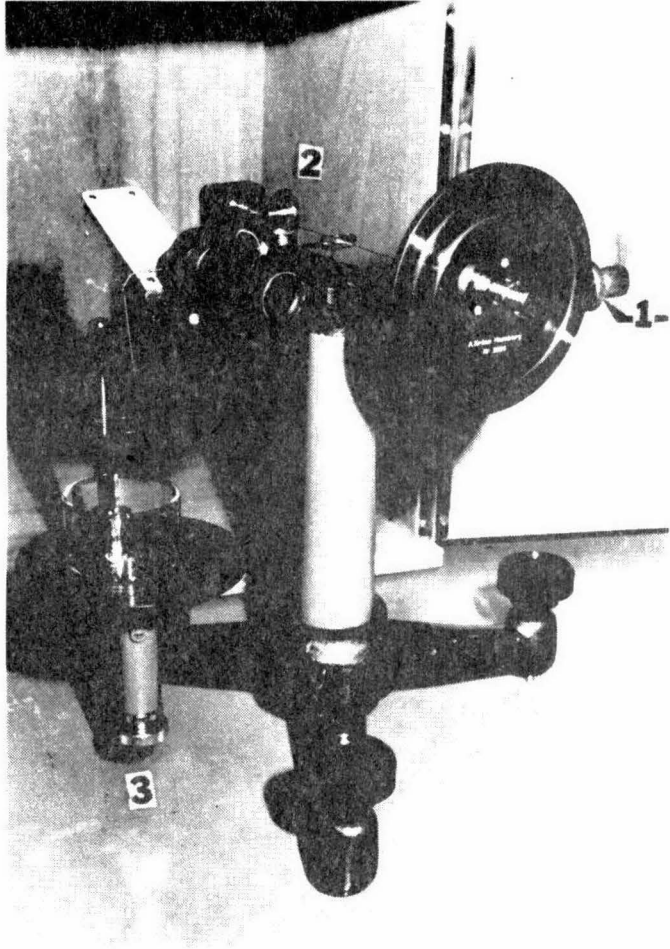
coincidir la línea de cero del vernier con la línea de cero de la escala circular; el brazo de la escala debe entonces aparecer en la pieza ocular, entre los dos campos oscuros (fig. 1)



Si este no es el caso, entonces corregimos el ajuste por un movimiento del tornillo 2.

Antes de la medición, la plataforma es colocada en su posición más baja por movimiento del tornillo 3. Entonces se eleva la plataforma con la muestra moviendo el tornillo 3. lo suficiente hasta que el anillo se introduzca en el líquido. Moviendo el tornillo 1 el anillo es jalado hacia arriba; simultáneamente bajamos la plataforma con el vaso moviendo el tornillo 3 viendo que el brazo de la escala este siempre en la mitad entre los dos campos oscuros de la pieza ocular. Se repite alternativamente, cuidando aumentar la tensión y simultáneamente bajando la vasija hasta un tiempo tal que el valor de la tensión superficial ha sido alcanzado y el anillo sale de la superficie. El valor de la tensión superficial puede ser leído directamente en el vernier de la graduación circular con una precisión de 0.1 dinas/cm. La longitud del anillo de platino e ididio es de 6 cm. de largo.

El tensiómetro se calibró, ajustándolo a la tensión super-



ficial del agua destilada, la cual a 18°C nos da un valor de 72.9 dinas/cm.

Debe haber absoluta limpieza en el anillo de platino e iridio y en el recipiente. El anillo se calienta al rojo vivo antes de cada medida en un mechero de Bunsen y el recipiente de vidrio se hierve por un rato con agua destilada.

La superficie del anillo debe estar respectivamente en el mismo plano con la superficie del líquido. Para esto debemos colocar el nivel del aparato usando los tornillos de ajuste y por ayuda del nivel de burbuja.

El anillo, además, puede girar sobre su eje, y no debe pegar contra nada. El recipiente debe ser ajustado de tal manera -- que la distancia del anillo a las paredes del recipiente sea la misma en todas las direcciones.

La tensión superficial del dializado de suero de personas clínicamente normales es de 63.5 a 63.9 dinas/cm.

Resultados

Se estudiaron 218 casos de hepatitis, 25 con Colecistitis o Colelitiasis, 25 con cirrosis hepática, 25 de alcohólicos crónicos y 7 con carcinoma metastásico del hígado.

A continuación se muestran 2 o 3 ejemplos de c/u de las enfermedades estudiadas, estos ejemplos han sido escogidos a la vez del número de casos estudiados para cada enfermedad.

Al final se muestra una "tabla general" en la cual apare--

cen recopilados los datos de todos los casos estudiados en cada enfermedad; en esta aparece el valor promedio de c/u de las pruebas elaboradas, así como el "rango" de valores encontrados en dicha enfermedad; se introdujo el llamado "VLSN" que corresponde a las "veces el límite superior normal". Esto se hizo con objeto de poder comparar los resultados más fácilmente unos con otros. El límite superior normal lo establecí de acuerdo a mi criterio. Por ejemplo, el límite normal para GGT fue establecido en 30 UI/Lt. entonces si obtengo de valor promedio 210 UI/Lt. se dice que se elevó 7 veces y esto es lo que corresponde a "VLSN".

TS	- - - - -	Tensión Superficial
GGT	- - - - -	Gamma Glutamyl Transpeptidasa
FA	- - - - -	Fosfatasa Alcalina
TT	- - - - -	Turbidez al Timol
BT	- - - - -	Bilirrubina Total
BD	- - - - -	Bilirrubina Directa
BJ	- - - - -	Bilirrubina Indirecta
GOT	- - - - -	Transaminasa Glutámico Oxalacética
GPT	- - - - -	Transaminasa Glutámico Pirúvica

Modelos de 3 casos de Hepatitis

1.- Paciente (GCS) Siglas

Tensión Superficial	58.5 dinas/cm.
GGT	133 UI/Lt.

Fosfatasa Alcalina	9 UB
Turbidez del Timol	8 Unidades
Bilirrubina Total	9.4 mg.%
Bilirrubina Directa	1.3 mgs.%
Bilirrubina Indirecta	8.1 mgs.%
GOT	1123 UI/Lt.
GPT	1045 UI/Lt.

2.- Pacientes M.J.S.R. Siglas

Tensión Superficial	57.1 dinas/cm.
GGT	215 UI/Lt.
Fosfatasa Alcalina	12 UB
Turbidez del Timol	9 Unidades
Bilirrubina Total	14.1 mgs.%
Bilirrubina Directa	2.9 mgs.%
Bilirrubina Indirecta	11.2 mgs.%
GOT	1615 UI/Lt.
GPT	1913 UI/Lt.

3.- Paciente (S.G.P.) Siglas

Tensión Superficial	59.1 dinas/cm.
GGT	90 UI/Lt.
Fosfatasa Alcalina	7 UB
Turbidez del Timol	6 Unidades
Bilirrubina Total	7.2 mgs.%
Bilirrubina Directa	1.1 mgs.%
Bilirrubina Indirecta	6.1 mgs.%
GOT	842 UI/Lt.
GPT	863 UI/Lt.

GGT - Gamma Glutamyl Transpeptidasa.

Modelos de 2 casos de Colecistitis o Colelitiasis

4.- Paciente (F.S.P.) Siglas

Tensión Superficial	54.38 Dinasc/cm.
GGT	315 UI/Lt.
Fosfatasa Alcalina	14 UB
Turbidez del Timol	4 Unidades
Bilirrubina Total	13.5 mgs.%
Bilirrubina Directa	11.3 mgs.%
Bilirrubina Indirecta	2.2 mgs.%
GOT	45 UI/Lt.
GPT	42 UI/Lt.

5.- Paciente (S.G.B) Siglas

Tensión Superficial	54.6 dinasc/cm.
GGT	185 UI/Lt.
Fosfatasa Alcalina	8 UB
Turbidez del Timol	3 Unidades
Bilirrubina Total	9.2 mgs.%
Bilirrubina Directa	7.9 mgs.%
Bilirrubina Indirecta	1.3 mgs.%
GOT	37 UI/Lt.
GPT	30 UI/Lt.

Modelos de 2 casos de cirrosis hepática

6.- Paciente (A.O.R.)

Tensión Superficial	58.5 dinas/cm.
GGT	114 UI/Lt.
Fosfatasa Alcalina	9 UB
Turbidez del Timol	6 Unidades
Bilirrubina Total	7.4 mgs.%
Bilirrubina Directa	0.9 mgs.%
Bilirrubina Indirecta	6.5 mgs.%
GOT	51 UI/lt.
GPT	14 UI/Lt.

7.- Paciente (G.R.)

Tensión superficial	56.9 dinas/cm.
GGT	164 UI/Lt.
Fosfatasa Alcalina	18 UB
Turbidez del Timol	9 Unidades
Bilirrubina Total	10.3 mgs.%
Bilirrubina Directa	1.2 mgs.%
Bilirrubina Indirecta	0.1 mgs.%
GOT	93 UI/Lt.
GPT	42 UI/Lt.

Modelos de 2 casos de Alcohólicos Crónicos

8.- Paciente (F.S.G.) Siglas

Tensión Superficial	59.5 dinas/cm.
---------------------	----------------

GGT	85 UI/Lt.
Fosfatasa Alcalina	3.5 UB
Turbidez del Timol	5 Unidades
Bilirrubina Total	3.2 mgs.%
Bilirrubina Directa	0.6 mgs.%
Bilirrubina Indirecta	2.6 mgs.%
GOT	41 UI/Lt.
GPT	11 UI/Lt.

9.- Paciente (V.M.M.) Siglas

Tensión Superficial	58.8 dinas/cm.
GGT	143 UI/Lt.
Fosfatasa Alcalina	6.5 UB
Turbidez del Timol	7 Unidades
Bilirrubina Total	2.6 mgs.%
Bilirrubina Directa	0.8 mgs.%
Bilirrubina Indirecta	1.8 mgs.%
GOT	47 UI/Lt.
GPT	21 UI/Lt.

Modelo de 2 pacientes con Carcinoma
Metastático del hígado

10.- Paciente (T.A.P.H.)

Tensión Superficial	54.25 dinas/cm.
GGT	415 UI/Lt.
Fosfatasa Alcalina	28.5 UB
Turbidez del Timol	6 Unidades

Bilirrubina Total	10.3 mgs.%
Bilirrubina Directa	8.9 mgs.%
Bilirrubina Indirecta	1.4 MGS.%
GOT	125 UI/Lt.
GPT	85 UI/Lt.

11.- Paciente (R.G.B.)

Tensión Superficial	54.41 dinas/cm.
GGT	274 UI/Lt.
Fosfatasa Alcalina	21.5 UB
Turbidez del Timol	4 Unidades
Bilirrubina Total	9.2 mgs.%
Bilirrubina Directa	8.1 mgs.%
Bilirrubina Indirecta	1.1 mgs.%
GOT	110 UI/Lt.
GPT	58 UI/Lt.

" Tabla General "

		Valor Promedio	"VLSN"	Rango
Hepatitis	TS	58.7 dinas/cm.	---	56.72-60 dinas/cm.
	GGT	120 UI/Lt.	4	26-320 UI/Lt.
	FA	8 UB	2	4-15 UB
	TT	8 Unidades	2	5-9 Unidades
	BT	9 mgs.%	9	5-18 mgs.%
	BD	1.3 mgs.%	3.7	0.8 -3.3 mgs.%
	BI	8 mgs.%	10.5	3-16 mgs.%
	GOT	985.5 UI/Lt.	36.5	220-2125 UI/Lt.
	GPT	820 UI/Lt.	41	354-2430 UI/Lt.

Colecistitis	TS	54.42 dinas/cm	--	54.22-54.81 dinas/cm.
	GGT	210 UI/Lt.	7	85-410 UI/Lt.
Colelitiasis	FA	12 UB	3	8-18 UB
	TT	3 Unidades	.75	0-4 Unidades
	BT	12 mgs.%	12	5-17 mgs.%
	BD	8 mgs.%	22.8	4-16 mgs.%
	BI	1.5 mgs.%	2	1-3 mgs.%
	GOT	40.5 UI/Lt.	1.5	36-95 UI/Lt.
	GPT	36 UI/Lt.	1.8	21-102 UI/Lt.

Cirrosis	TS	58.3 dinas/cm.	----	56.6 -59.4 dinas/cm.
	GGT	132 UI/Lt.	4.4	35 -256 UI/Lt.
Hepática	FA	14 UB	3.5	4 -21 UB
	TT	8 Unidades	2	5 -10 Unidades

		Valor Promedio	"VLSN"	Rango
	BT	8.2 mgs.%	8.2	4 -19 mgs.%
	BD	1.1 mgs.%	3.1	.8 -1.9 mgs.%
	BI	7 mgs.%	8.5	2.5 -18 mgs.%
	GOT	54 UI/Lt.	2	36 -217 UI/Lt.
	GPT	19 UI/Lt.	.9	11 -64 UI/Lt.

Alcohólicos	TS	59.3 dinas/cm.	---	58.39-59.7 dinas/cm.
Crónicos	GGT	99 UI/Lt.	3.3	27-750 UI/Lt.
	FA	5.2 UB	1.3	4-8 UB.
	TT	6.4 Unidades	1.6	4-9 Unidades
	BT	1.7 mgs.%	1.7	1.1 -3.5 mgs.%
	BD	.6 mgs.%	1.7	0.2 -0.9 mgs.%
	BI	1.9 mgs.%	2.5	0.9 -3 mgs.%
	GOT	43 UI/Lt.	1.6	8 -50 UI/Lt.
	GPT	14 UI/Lt.	.7	6 -28 UI/Lt.

Carcinoma	TS	54.30 dinas/cm.	---	54.15-54.91 dinas/cm.
Metastásico	GGT	320 UI/Lt.	10.6	180-687 UI/Lt.
del Hígado	FA	26.4 UB	6.6	6-31 UB
	TT	5 Unidades	1.25	3-7 Unidades
	BT	10.2 mgs.%	10.2	4-15 mgs.%
	BD	7 mgs.%	9.3	3-13 mgs.%
	BI	1.2 mgs.%	1.5	1-2.5 mgs.%
	GOT	112 UI/Lt.	4.4	33-523 UI/Lt.
	GPT	60 UI/Lt.	3	15-415 UI/Lt.

Valores Normales

GGT	(2 - 39 UI/Lt.)
Tensión Superficial	(63.51 - 63.85 dinas/cm.)
Fosfatasa Alcalina	(0 - 4 U. Bodansky)
Turbidez del Timol	(0 - 4 Unidades)
Bilirrubina Total	(0.5 - 1 mgs.%)
Bilirrubina Directa	(0 - .35 mgs.%)
Bilirrubina Indirecta	(.3 - .8 mgs.%)
GOT (Oxalacética)	(6 - 27 UI/Lt.)
GPT (Pirúvica)	(3 - 20 UI/Lt.)

CAPITULO V
DISCUSIONES Y CONCLUSIONES

Los datos presentados en la Tabla General hacen notar más claramente que la actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa sérica está aumentada en todas las formas de enfermedades hepáticas estudiadas, y en los casos de ictericia hepatocelular y obstructiva se abate la tensión superficial del agua de los dializados.

En los casos de Hepatitis viral, la actividad de las transaminasas aumentó desproporcionadamente en comparación con la actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa, indicando necrosis celular hepática aguda, en esta enfermedad se encuentran altos de turbidez del timol, lo que de Bilirrubinas especialmente de la bilirrubina indirecta y la fosfatasa alcalina se encuentra ligeramente aumentada. En estos casos, la tensión superficial tuvo un descenso, no tan bajo como el alcanzado en la ictericia obstructiva.

En los casos de Colecistitis y Colelitiasis, la actividad de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa se elevó desproporcionadamente a la actividad encontrada en las transaminasas; la tensión superficial del dializado fué considerablemente en descenso.

En los Casos de cirrosis hepática, la Gamma Glutamyl Transpeptidasa, la fosfatasa alcalina y la turbidez del timol estuvieron aumentadas mientras que la transaminasa Glutámico Oxalacética estuvo moderadamente aumentada y la transaminasa Glutámico Oxalacética estuvo moderadamente aumentada y la transaminasa Glutámico Pirúvico permaneció normal, la bilirrubina total estuvo aumentada

y este aumento correspondió en su mayor parte a la bilirrubina indirecta, la tensión superficial tuvo un descenso poco significativo.

Creemos que la Gamma Glutamyl Transpeptidasa pueda ser un indicador sensible del daño hepático en alcohólicos crónicos. Pues en la tensión superficial se observó un ligero descenso.

En la serie de pacientes con Carcinoma metastásico del hígado con sitios primarios localizados en la lengua, ovario, estómago y piel, la actividad de la Gamma Glytamyl Transpeptidasa fue extremadamente alta comparando con el aumento experimentado por las transaminasas y esto concuerda con los reportes de la literatura en el sentido de que esta enzima es útil para la detección de metástasis hepáticas; también hallamos descenso en la tensión superficial y marcada elevación de la fosfatasa alcalina, mientras que la turbidez del timol subió apenas ligeramente.

Los estudios realizados en enfermos con padecimiento hepáticos de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa, nos demuestra que las más altas actividades de esta enzima son encontradas en las ictericias obstructivas además se puede distinguir fácilmente por medio del radio GPT/GGT si se trata de una enfermedad hepática obstructiva o de una hepatitis viral se encuentra muy elevada también en los casos de cáncer metastásico del hígado.

La determinación de la actividad de esta enzima es muy útil para poder deducir cual tejido fue el que originó un aumento de la fosfatasa alcalina, pues algunas enfermedades óseas donde se eleva

la fosfatasa alcalina, la Gamma Glutamyl Transpeptidasa permanece normal.

La Tensión superficial de los dializados fue considerablemente en descenso en caso de ictericias obstructivas, esto ya era esperado, dado que las sales y pigmentos biliares no alcanzaron a los intestinos y volvieron a la sangre por regurgitación debido a la obstrucción. Estas sales y pigmentos biliares solubles en agua causaron un descenso considerable en la tensión superficial de los dializados. Otro de los constituyentes del suero, importante como reductor de la tensión superficial son la proteína, pero no son dializadas debido a su tamaño coloidal. La contribución de los fosfolípidos y cloruro de sodio a las alteraciones de la tensión superficial puede considerarse casi igual en las muestras experimentales que en los sueros escogidos como controles debido a que su diferencia en las concentraciones es muy poco significativa.

La determinación de la Gamma Glutamyl Transpeptidasa resultó una prueba bastante útil, sencilla y poco costosa, que debería ser incluida en cualquier grupo de pruebas funcionales hepáticas ya que se puede decir que es específica para ictericias obstructivas y además se encuentra elevada en cualquier otro tipo de enfermedad hepática; mientras que la determinación de la tensión superficial tiene poca utilidad práctica ya que solamente nos puede ayudar a diferenciar entre los tres tipos de ictericias y no es específica de alguna determinada enfermedad; además necesita de-

una inversión mayor tanto económica como de tiempo; económica por la adquisición del tensiómetro de Du Nuoy u otro aparato necesario para poder determinarla; y de tiempo porque tarda más de 2 -- horas.

En otras palabras se podrían mencionar como conclusiones a este trabajo las siguientes:

1.- Se considera que la Gamma Glutamyl Transpeptidasa es -- prueba sencilla, económica y bastante útil para ser incluida como -- prueba funcional hepática.

2.- Que aunque en un principio del trastorno hepático son -- más sensibles las variaciones de las transaminasas y normalizan -- pronto en tanto que la Gamma Glutamyl Transpeptidasa permanece en -- valores elevados hasta que se alcance la recuperación hepática -- completa.

3.- Por lo que hace a la determinación de la tensión superficial, no es de considerarse de la importancia práctica suficiente como para que amerite considerarse una prueba rutinaria en la -- investigación de un daño hepático, y por lo mismo no justifica -- la inversión económica para obtener el tensiómetro necesario para la determinación de la tensión superficial.

Bibliografia

- Orlowski, M., The role of gamma-glutamyl-transpeptidase in the internal diseases clinic. Arch. Immunol. Ther. Exp. 11, 1 (1963).
- Zein, M., and Discombe, G., Serum Gamma glutamyl transpeptidase - as a diagnostic aid. Lancet ii, 748 (1970).
- Rutenburg, A., Goldbarg, J., and Pineda, E., Serum gamma glutamyl trans peptidase activity in hepatobiliary pancreatic disease. - - Gastroenterology 45, 43 (1963).
- Honttinen. A., Hartel. G., and Louhija, A., Multiple serum enzyme analyses in chronic alcoholics. Acta Med. Scand. 188, 257 (1970).
- Ravens, K., et al., Gamma glutamyl transpeptidase in myocardial - infraction. Circulatio 39. 623 (1962).
- Gifford, L., and Cambino, R., Serum gamma glutamyl transpeptidase activity as an indicator of disease of liver, pancreas or bone. - Clin. Chem. 14, 608 (1968).
- Szewczuk, A., A soluble form of gamma glutamyl transpeptidase in- humantissue. Clin. Che. 18, 110 (1972).
- Enhroing, . G., The surface tension of amniotic fluid. Amer. J. - Obs. and Gyenc. 88, 519, (1964).
- Ramakrishnan, S., and Krishnan of surface tension of blood serum-

in Jaundice. Amer. J. Med. Tech. 38, 511 (1972).

Frank-Teitman-Sonnenwirth

Clinical Laboratory Methods and Diagnosis

Gradwohl's

The C.V. Mosby Company

Volumn 1 pag. 120 - 129

Balcells A.

La clínica y el laboratorio

Editorial Marin S.A.

& 7 edición

Barcelona 1969

pag. 63 - 134

Todd- Sanford

Diagnóstico clínico por el laboratorio

Davidsohn - wells

Editorial Marin

4 edición

Barcelona 1966

pag. 529 - 530 - y 546 - 550

Cocdley Eugene

Diagnóstico enzimológico

Editorial Medica Panamericana

1972

pág. 17 - 50

Holum John R.

Principios de fisico química, química orgánica y bioquímica

Editorial Limusa- Willey

México, D.F. (1971)

1 edición pág. 163 - 165

Daniels Alberty

Fisico Quimica

Editorial Continental

Mexico, D. F. 1965

pag. 671 - 681

Standard Methods of clinical chemistry

Theamerican association of clinical chemists

Academic Press

New York and London 1970

Lynch- Raphael-Mellor-Spare-Inwood

métodos de Laboratorio

Editorial Interamericana

2 edición

México, D.F. 1972

Diéduez Rivas Carlo J.

Mediciones Físicas

Editorial Química, S.A.

Mexico, D.F.

Pag. 93 - 100