

5.2(04)

Universidad Autónoma de Guadalajara

Incorporada a la Universidad Nacional
Autónoma de México

Facultad de Ciencias Químicas

Reacción de Kunkel

Estudio Comparativo

Tesis

que presenta

Polanda Ana Ma. Villanueva Ortega

para obtener el Título de

Químico = Farmacéutico = Biólogo



QUÍMICA

Guadalajara, Jal., Mayo de 1952



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.

A la Memoria de mis Queridos
e Inolvidables Padres,
con veneración.

Con cariño, Respeto y Gratitud
a mi Madre.

A mi Hermana.

Con Sincera Gratitud a todos aquellos
que fueron mis Maestros

Con todo Respeto al Sr. Prof.
D. Ignacio Pérez Becerra,
Sub-Director de la
Facultad.

A mis Estimados Compañeros
de Estudios.

Con Cariño
a mis
Tios y Primos.

Al Sr. Dr.
Guillermo Santescoy
con Gratitud
por su
cooperación
al
Presente Trabajo.

Al Sr. Dr.
Abraham Baruqui.

- I. INTRODUCCION. FUNCIONAMIENTO HEPATICO. GLOBULINAS. PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO HEPATICO.
- II. FUNDAMENTO DE LAS REACCIONES DE MAC-LAGEN, WUNDERLY, HANGER. REACCION DE KUNKEL.
- III. METODO SEGUIDO. MATERIAL CLINICO EMPLEADO.
- IV. RESULTADOS OBTENIDOS.
- V. DISCUSION.
- VI. SUMARIO Y CONCLUSIONES.
- VII. BIBLIOGRAFIA.

INTRODUCCION

La importancia de la medición de la cantidad de globulinas circulantes en un individuo es muy grande, ya que están íntimamente relacionadas con el funcionamiento de la celdilla hepática.

La correcta cuantificación de las distintas globulinas, se hace por medios electroforéticos; sin embargo desgraciadamente estos métodos no son aplicables a la clínica en la práctica diaria, por lo que han surgido una serie de procedimientos; con el fin de hacer una cuantificación arbitraria de las globulinas en sus diferentes formas.

Todos estos procedimientos dentro de su bondad y sencillez no han podido dejar completamente satisfechos a los clínicos, por lo que día a día se siguen buscando modificaciones a estas técnicas o forjando nuevas, con el fin de obtener mejores resultados.

Ahora nosotros tratamos de hacer un pequeño estudio comparativo entre una reacción no conocida en nuestro medio, la reacción de Kunkel Zn y Cu, con un grupo de reacciones ya consagradas como son: Maclagen, Wuderly y Hanger.

FUNCIONAMIENTO HEPATICO

Las pruebas de laboratorio para valorizar el funcionamiento de la celdilla hepática son innumerables, ya que el hígado está considerado, como el órgano dinámico con funciones muy diversas y su capacidad para desempeñarlas varía mucho con cualquier alteración por pequeña que sea.

Las funciones del hígado se relacionan entre si.

Las más importantes funciones del hígado son:

1o.—La secreción de la bilis.

2o.—La actividad hepática con relación a la clase de alimentos.

La primera puede ser acelerada por estimulantes fisiológicos tales como ciertos alimentos, principalmente los ácidos biliares.

La segunda empieza inmediatamente después de la ingestión de la comida.

El hígado tiene un ciclo diurno definido de acuerdo con estas actividades, las cuales lo hacen variar de tamaño y peso, al aumentar su contenido del agua y glicógeno, posiblemente grasas y proteínas. (1)

Las mayores actividades en relación con la utilización de alimentos por el hígado son:

Almacenamiento de diversas clases de alimentos.

Transformación de estas substancias en productos aprovechables por el organismo. carbohidratos como glicógeno y grasa pueden ser almacenados en el hígado en grandes cantidades, algunas proteínas son almacenadas en las células hepáticas. Los aminoácidos son desaminados por el hígado, la porción de N es convertida en Urea, al mismo tiempo se forma heparina proteína del plasma, fibrinógeno y trombina.

La actividad hepática protege al organismo de algunas sustancias nocivas que pueden originarse dentro del cuerpo o alcanzar el torrente circulatorio.

El hígado protege al cuerpo de sustancias tóxicas, en la excreción de la bilis la retiene temporalmente en las células hepáticas para dejarla en pequeñas cantidades y ser destruida en otro punto menos vulnerable a su acción.

Estas funciones se llaman detoxicantes.

El hígado ha sido estudiado en relación con la circulación y fluidez de la sangre portal.

El hígado ha sido estudiado en relación con la circulación y fluidez de la sangre relacionados con el restablecimiento hepático. Dicho restablecimiento después de una lesión depende de la fluidez de la sangre portal.

La circulación intrahepática de la sangre es muy interesante porque este órgano posee una arteria y una vena suplementaria. La arteria hepática suministra sangre arterial al parenquima hepático a través de diversas rutas.

Las terminaciones arteriales se vacían directamente a los sinusoides. Se ha demostrado en ciertas condiciones que el hígado puede alternativamente almacenar y despedir la sangre almacenada. (2)

Cuando se lesiona el hígado parece funcionar mejor con una dieta alta de hidratos de carbono con suficientes proteínas. Una dieta que tienda a aumentar excesivamente la grasa contenida en el hígado es perjudicial. La relación del hígado con la vitamina K tiene que ser tomada en consideración en determinadas funciones y pruebas funcionales. La bilis debe estar presente en el tracto intestinal para la absorción de la vitamina contenida en los alimentos; estando presente la bilis o sales biliares la vitamina K es suficiente para aliviar una hipoprotobinemia. Un hígado muy lesionado es incapaz de mantener su nivel de protobina en la sangre igual que cuando la vitamina K está disponible. Cuando hay alguna lesión por cloroformo o tetracloruro de C, la hipoprotobinemia no es alterada por la administración de una gran cantidad de vitamina K. (3)

Mann opina que la función hepática puede ser alterada ya sea directa o indirectamente por muchas de las hormonas actuando so-

bre el comportamiento general del organismo así como el funcionamiento intrínseco del hígado.(4)

La anestesia tiene un efecto importante sobre la función hepática. El cloroformo produce una lesión en el hígado y cuando dicha anestesia es con pentobarbital sódico y se hace la separación parcial del hígado el efecto disminuye cuando el órgano es restaurado. (3)

En seguida vamos a ver las funciones del hígado cada una por separado y más detalladamente.

FUNCION BILIAR

De los componentes de la secreción biliar estudiaremos 3 aspectos del metabolismo: Origen, lugar de producción, y mecanismo de eliminación que cuando está alterado, produce ictericia.

El pigmento biliar se forma en el hígado de la hemoglobina que proviene de los glóbulos rojos. El sistema retículo endotelial es el responsable de la formación extrahepática de pigmento biliar, la cual está en constante circulación. La hemoglobina se descompone en una proteína globina y un grupo ferruginoso coloreado que tiene un grupo tetrapirrólico, el cual se rompe por sus grupos metílicos liberando hierro y bilirubina después de pasar por biliverdina.

Las células poligonales del hígado toman bilirubina de la circulación y la excretan por las vías biliares al duodeno en donde gran parte es cambiada por las bacterias intestinales en urobilinógeno, el cual a su vez es transformado en urobilina. La eliminación se hace por el hígado y vías biliares y cuando ésta es defectuosa viene la ictericia que se puede presentar por un exceso de producción de bilirubina cuando el hígado y vías biliares están en perfecto estado. Por desviación de los conductos de Disse cuando el hígado no funciona bien y por deficiencia de las vías biliares. La primera se llama retención hemolítica, la segunda hepato-celular y tercera, es la que origina la ictericia por retención. La cantidad de bilirubina eliminada en 24 horas, es alrededor de 0.5 grms. (5)

La formación de bilirubina en la corriente sanguínea en cantidades indebidas se debe: 1o. cuando se elabora más de la que puede excretarse. 2o. cuando se produce como resultado de las lesiones

del hígado y vías biliares: Ej. En la ictericia hepatógena, 3o. En la ictericia por obstrucción resultado de la obstrucción de una vía biliar.

Hay tres clases de bilirrubina: La directa que es prontamente excretada por el riñón y no es soluble en cloroformo. La indirecta que pasa a la orina y que sí es soluble en cloroformo. La reacción bifásica es vista cuando hay ambos tipos de bilirrubina en el suero.

Sobre el origen de esta diferencia hay diversas opiniones, para unos autores se debe al tamaño de las partículas, para Rosental se debe a que la indirecta está combinada con lipoides y albúmina, y para Van Demberg a que la directa es hepato-celular y la indirecta no. Puede ser también a la variación del PH. en el suero. (6).

La reacción directa se hace sobre el suero total, la indirecta sobre el extracto alcohólico sacado del suero, después de que ha sido precipitado por alcohol o sulfato amónico. La aparición rápida de un color rojo púrpura dentro de 30 segundos indica una reacción directa. La reacción bifásica está indicada por la aparición dentro de 30 segundos de un color rojo que gradualmente aumenta su intensidad a violeta.

UROBILINA

La formación de ésta se hace a partir de la bilirrubina, que por reducción de hemibilirrubina que a su vez da por oxidación urobilina; esta oxidación puede hacerse por la luz, por la acción de las bacterias como bacilos gram positivos, por anaerobios o aerobios. Este lugar es el intestino como se comprobó en un enfermo que tenía el colédoco obstruido, no había urobilina y dándole en estas condiciones bilis de vaca volvía a producir urobilina.

De esta urobilina formada, la mayor parte es excretada por las heces fecales y una pequeña cantidad vuelve al hígado que se transforma cuando hay mucha bilirrubina y cuando ésta no la puede retener, pasa a la orina y circulación.

Normalmente se eliminan por el intestino unos 150 mgrs., por la orina un mgm. según Walson, y de 10 a 20 según Dover. (7)

El urobilinógeno es una substancia coloreada y puede ser descubierta por la aparición de un color rojo que resulta cuando el

reactivo de Ehrlich es añadido a la orina, aparte para la eliminación de la urobilina se emplea la prueba de Watson: se inyecta 50 mg. de urobilina cristalizada disuelta en alcohol diluido alcalino. Normalmente se encuentra en la orina de 2 a 5 mg., en las hepatopatías hasta 30 mgs.

SALES BILIARES

La sustitución de los grupos C. H. 3 por grupos alcohólicos en el ácido cólico da lugar a los glucocólicos y taurocólicos que se encuentran en el organismo en forma de sales sódicas.

Su lugar de producción es el hígado, no se sabe si en las células hepáticas o en las de Kupffer. (7). Se eliminan de 8.2 a 8.6 gramos diarios, su concentración es de 1.20 por 1,000 en la bilis A. y 10.8 en la B, y 0.1 % o menos en la sangre. (7).

En el jugo duodenal se encuentra normalmente bilis A y bilis B. Las sales biliares tienen acción tóxica principalmente bradicárdica contraria a la adrenalina.

En el intestino actúan sobre las grasas reduciendo la tensión superficial formando ácido cólico de escasa tensión que ayuda a la absorción.

Cuando llegan los ácidos cólicos a las células intestinales se desdoblán dejando en libertad ácidos grasos que se combinan con la glicerina transformándose en los vasos quilíferos para volver al hígado.

Tienen acción colerética por vía parenteral ayudando al peristaltismo intestinal.

Su acción hidrotropa facilita la solubilidad de los ácidos grasos insolubles.

METABOLISMO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO

Cuando se ingieren hidratos de carbono son desdoblados en el intestino en glucosa, galactosa y levulosa son absorbidos por la vena porta que los lleva al hígado donde los dos últimos son transformados en glucosa y ésta con la que se absorbió va como tal, transformada en glicógeno hepático (almidón animal de 12 a 18 moléculas de

glucosa) que a su vez se transforman nuevamente en glucosa cuando las necesidades del organismo

La galactosa es transformada en glucosa, únicamente por el hígado y la fructosa también por la mucosa intestinal, el músculo puede formar glucógeno a partir de la glucosa circulante.

Esta propiedad del hígado y músculo hace que cuando haya exceso de hidrocarburos no se produzcan hiperglucemias y glucosurias.

La cantidad del glucógeno almacenado en el organismo es de 300 g. de los que 150 corresponden al hígado o sea el 14% de su peso.

La desintegración de la glucosa se hace en dos fases anaerobia y aerobia terminando en H_2O y CO_2

La anaerobia es la primera, del glucógeno se forma glucosa y ésta toma la forma enólica uniendo luego con 2 moléculas de fosfórico para formar una exosadifosfato. O sea el lactidógeno de Emden: con la fosfatasa se separa el fósforo y queda la glucosa que forma 2 moléculas del aldehído glicérico y éste perdiendo agua, da metilgloxal que con una molécula de agua da ácido láctico.

2a. Fase: metaldihoxal con Oxígeno da ácido pirúvico que por acción de la carboxilasa forma aldehído acético el cual con más oxígeno nos dá ácido acético para al oxidarse más, formar CO_2 y H_2O . (8)

Para que haya glicólisis hepática se necesita formación de glucógeno aunque no la fosforilización; la combustión total es más grande, cualidades que la diferencian de la muscular.

La glucosa puede obtenerse también a partir del ácido láctico.

También puede originarse por hidrólisis u oxidación de los aminoácidos. De las grasas también pueden obtenerse partiendo de la glicerina por intermedio del aldehído glicérico.

Se forma generalmente de los hidrocarburos de los aminoácidos y grasas solamente en los periodos de inanición o cuando no se puede aprovechar la glucosa en el diabetes. (7)

La formación y aprovechamiento del glucógeno está dirigido por varias hormonas, la glicogénesis por la insulina y la glicólisis por la adrenalina que cuando es demasiado dá lugar a la hiperglicemia y glicosuria.

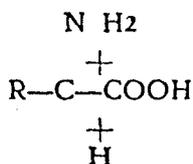
Actúan, también excitando éstas secreciones, el sistema simpático y las suprarrenales. (9)

En los perros hepatectomizados se puede demostrar que la glucosa puede ser formada fuera del hígado por lo que el valor de la sobre carga de glucosa es muy bajo pues si hay glicemia puede ser por enfermedad pancreática. (7)

"AMINOACIDOS"

Son el resultado final de la hidrólisis de las proteínas.

De las proteínas que se utilizan en la alimentación se pueden obtener 22 aminoácidos; la forma tipo para casi todos es:



Se dividen:

- 11 monoaminomonocarboxílicos
- 3 monoaminodicarboxílicos
- 4 diaminomonocarboxílicos
- 1 aminoácidoconucleoíndol
- 1 diaminodicarboxílico
- 2 aminoácidos.

Propiedades generales de los aminoácidos.— Con excepción de la glicina los 21 aminoácidos son ópticamente activos, su solubilidad en el agua es variable, la mayoría son insolubles en el alcohol. Su sabor también difiere puede ser dulce, amargo, etc.

SUS REACCIONES PRINCIPALES.

Reacción de Millon: el reactivo se prepara disolviendo mercurio en ácido nítrico concentrado, calentando dicho reactivo da coloración roja.

Reacción xantoproteica: La adición de ácido nítrico concentrado a una solución o suspensión de proteínas nos dá un precipitado blanco que se vuelve amarillo por el calor.

Reacción del ácido glicoxílico: Se efectúa mezclando en una solución de proteínas en un tubo de ensayo en volumen igual de ácido glicoxílico, y para evitar que los dos líquidos se mezclen ácido sulfúrico concentrado. En la unión de las dos fases se forma un anillo color púrpura.

La histidina y la tirosina dan, la diazorreacción de Pauli que consiste en la aparición de un color rojo cuando se le extracta con un acidodiazobenzol sulfónico en presencia de un alcali débil.

Para formar las moléculas de proteínas se van uniendo por deshidratación al grupo COOH. De un aminoácido con el NH₂ del otro y así sucesivamente se forman cadenas largas o sea polipeptidos: cuando 2 dipeptidos, 3 tripeptidos llamando enlace péptido el grupo NHCO. (10)

PROTEINAS.

Son sustancias complejas indispensables para el buen funcionamiento del organismo.

Están formadas de C, N, H, O, y la mayoría tienen S, y algunas pocas P, Fe, o I.

Se han clasificado según sus propiedades físicas más salientes, como su solubilidad, dividiéndose en simples, conjugadas y derivadas o productos que resultan de la hidrólisis, aunque algunos de éstos ya no tengan ninguna característica proteínica.

PROTEINAS SIMPLES. — Compuesto sólo de aminoácidos aunque algunos en la hidrólisis dan pequeñas cantidades de fosfato o hidratos de C.

Los principales son albúminas y globulinas.

ALBUMINAS.—Coagulables por el calor, solubles en agua pura precipitables por Sulfato Amónico a saturación completa.

Su reacción es casi neutra. Ejem: la albúmina del plasma sanguíneo y la ovoalbúmina del huevo.

GLOBULINAS.—Precipitan en el Sulfato Amónico a media saturación, son insolubles en el agua pura pero solubles en las soluciones salinas diluidas. Ejem: Globulina del plasma, ovoglobulina

del huevo, además de éstas son también proteínas simples las glutelinas, protaminas, escleroproteínas e histonas.

PROTEINAS CONJUGADAS.—Además de los aminoácidos de que ordinariamente se componen las proteínas pertenecientes a éste grupo tienen un grupo prostético o sea un radical que no tiene naturaleza aminoácida.

CROMOPROTEINAS.—Proteínas con grupo prostético coloreado, a este grupo pertenece la hemoglobina.

LECITOPROTEINAS.—Están compuestas de lecitinas unidas con el grupo proteínico, y se esperan con mucha dificultad por lo que se cree que sea una combinación química. Pertenecen también a este grupo las glucoproteínas que tienen un radical hidrato de C. nucleoproteínas formados de proteínas y ácido nucleínico y fosfoproteínas con radicales fosfato. (11)

PROTEINAS DERIVADAS.—Son los productos de la hidrólisis de las proteínas que por acción de los ácidos diluidos dan sucesivamente proteínas, metaproteínas, proteosas, peptonas, polipeptidos y finalmente aminoácidos.

"METABOLISMO DE LAS PROTEINAS"

Viendo la importancia del hígado en la formación del amoníaco y urea en la desintegración de aminoácidos se han hecho pruebas funcionales que no han dado gran resultado debido a que intervienen también otros órganos principalmente el riñón.

Además de su función analítica el Hígado tiene otra de síntesis en el metabolismo de los prótidos formando albúminas superiores, aunque no sólo el hígado lo hace sino todos los tejidos; aquél tiene mucha influencia en las variaciones cualitativas y cuantitativas de las albúminas plasmáticas.

Cuando a un perro se le quita el hígado aumentan las globulinas y disminuyen la serina y el fibrinógeno.

La cantidad de albúminas plasmáticas en el hombre es de 60 a 100% agrupándose en la siguiente forma: globulina que a su vez comprende en orden de estabilidad y complejidad creciente, fibrinógeno en globulina y pseudoglobulina en una proporción de 3.1 aproximadamente y seroglobulina de 4.5. Otros autores dan cifras diferentes.

Cuando aumentan las globulinas aumenta el poder floculante del suero ya sea que el aumento sea real o que disminuyan las seroalbúminas que son más estables e hidrófilas, alterando la relación Albúmina Globulina.

Además de las afecciones hepáticas también las renales, etc. cambian las albúminas del protoplasma.

El fibrinógeno que se creía de origen hepático se ha demostrado que se forma en el retículo endotelial, y según Jugens, éste y las globulinas son de origen óseo. (12)

En la atrofia amarilla aumenta el NH₂ de la orina hasta 5 gramos diarios (normal menos de 4 gramos) así como en la cirrosis.

Se han establecido relaciones entre el nitrógeno ureico y el amoniacal como el de Maillard para obtener el nitrógeno transformado en urea con el siguiente coeficiente:

Nitrógeno—N Amoniacal (Fermol)

x 100 (normal 6 a 8)

N Amoniacal—N Ureico (hipobromito)

Fiesinger hace intervenir el pH de la orina teniendo así presente la influencia renal en el metabolismo amoniacal.

N Amoniacal. (pH—4.2)

N Ureico x 100

————— (normal 4 a 6)

1.6

En la atrofia amarilla del hígado se encuentran en el sedimento de la orina leucina y tirocina.

También se ha encontrado triptófano en la sangre debido según Surós a albúminas anormales ricas en el y que precipitan como las globulinas; en la cirrosis el valor es alto, más que en otras enfermedades: 5.6 mgs. por 100 (normal 2.4 mgs. por 100).

Cuando no se forma bien la urea disminuye de 50 a 75% en la orina aumentando en cambio el NH₂

"METABOLISMO DE LA COLESTERINA"

La colessterina es un alcohol monovalente secundario.

Se encuentra en la sangre de 1.20 a 1.80 gms., por litro en forma de colessterina libre y de ésteres con ácidos grasos en la proporción de un 70% de la colessterina total.

La mayor parte proviene de los alimentos ricos en ellas (yemas de huevo, mantequilla) de tal manera que con un régimen rico en grasas se ingieren cerca de 1.5 gms. diarios; es absorbida y emulsionada con los ácidos biliares, siendo facilitada esta absorción por la presencia de grasas en la alimentación que disuelven las esterinas.

Además, el organismo elimina más colessterina de la que ingiere por lo que es capaz de sintetizarla. Chauffard creó que las capas corticales de la suprarrenales ayudan a esta síntesis; Grigant creó que se crea del cuerpo amarillo, otros, que el sistema retículo-endotelial, además en su función fagocitaria recoge la colessterina de la destrucción globular principalmente.

La bilis elimina la colessterina en forma libre en estado de solución coloidal a la concentración de 0.003 a 0.097% en la bilis. A concentrándose en la vesícula biliar hasta 0.15 a 0.1%.

En parte es absorbida al nivel del intestino delgado y el colon, la que no es absorbida se elimina por las heces fecales en forma de coproesterina.

La cantidad de colessterina en la sangre así como la relación entre libre y esterificada es siempre constante en un individuo normal variando un poco en la digestión.

Hay hipercolessterinemia en el embarazo y arterioclerosis y producen hipocolessterinemia, la enfermedad de Basedow, la colitis ulcerosa, el sprue, la diarrea grave, la anemia perniciosa y las neoplasias en general.

Hay hipercolessterinemia en la ictericia mecánica, en las calculosas, en las neoplásicas en este caso siempre que no produzca una caquexia más o menos avanzada, pudiendo llegar hasta 6% y conservando las proporciones normales entre la presión libre y la esterificada.

En las afecciones hepatoceculares, ictericia catarral, atrofia amarilla o ictericia mecánica complicada de colangitis puede haber una disminución más o menos acentuada de la colessterinemia prin-

cialmente en a fracción esterificada y generalmente en relación con la gravedad de la lesión celular, es lo que Burger ha llamado "despeño de ésteres" o "esterturz" de Panhausser. Rosental atribuye este descenso de los ésteres de coleslerina que, puedan llegar al 40% o menos (normal 70%) a la disminución de los ácidos grasos necesarios para la esterificación debida a su escasa absorción por falta de bilis en el intestino; pero probablemente es debido a trastornos metabólicos originados por la lesión hepatocelular. En la cirrosis hepática generamente es normal la coleslerinemia disminuyendo en las fases de gravación del proceso.

"METABOLISMO DEL AGUA"

El H₂O ingerida es llevada al hígado por la vena porta y en éste se almacena impidiendo que halla hidremia; para evitar el paso del hígado a la sangre, la vena suprahepática tiene unos espesamientos musculares que disminuyen el paso de la capacidad de la vena.

Además el hígado actúa por medio de hormonas diuréticas y anti-diuréticas, observándose que los enfermos hepáticos tienen avidez por el agua y tendencia a retenerla.

En las hepatopatías, uno de los principales síntomas es la ascitis que aparece acompañada de hipertensión portal que aumenta la presión capital y provoca extravasación líquida. Al mismo tiempo actúa la presión osmótica que disminuye en la hepatopatía porque disminuyen las seroglobulinas y aumentan las globulinas, de molécula más grande y que tienen menor tendencia a absorber agua. Además hay alteraciones de las paredes capilares y linfáticas de la cavidad peritoneal.

Cuando hay estas alteraciones además de la avidez de agua de los tejidos hay una estancación de agua, en estas alteraciones del ritmo urinario, se presenta: Opsuria oliguria por ingerir mucha agua de una vez, que a veces se acompaña de hipertensión arterial y congestión renal e intestinal frecuentes en las fases de hipertensión portal. (13)

principalmente en la fracción esterificada y generalmente en relación con la gravedad de la lesión celular, es lo que Burger ha llamado "despeño de ésteres" o "esterturz" de Fanhauser. Rosental atribuye este descenso de los ésteres de colesteroína que, pueden llegar al 40% o menos (normal 70%) a la disminución de los ácidos grasos necesarios para la esterificación debida a su escasa absorción por falta de bilis en el intestino; pero probablemente es debido a trastornos metabólicos originados por la lesión hepatocelular. En la cirrosis hepática generalmente es normal la colesteroíemia disminuyendo en las fases de agravación del proceso.

"METABOLISMO DEL AGUA"

El H₂O ingerida es llevada al hígado por la vena porta y en éste se almacena impidiendo que halla hidremia; para evitar el paso del hígado a la sangre, la vena suprahepática tiene unos espesamientos musculares que disminuyen el paso de la capacidad de la vena.

Además el hígado actúa por medio de hormonas diuréticas y anti-diuréticas, observándose que los enfermos hepáticos tienen avidez por el agua y tendencia a retenerla.

En las hepatopatías, uno de los principales síntomas es la ascitis que aparece acompañada de hipertensión portal que aumenta la presión capital y provoca extravasación líquida. Al mismo tiempo actúa la presión osmótica que disminuye en la hepatopatía porque disminuyen las seroglobulinas y aumentan las globulinas, de molécula más grande y que tienen menor tendencia a absorber agua. Además hay alteraciones de las paredes capilares y linfáticas de la cavidad peritoneal.

Quando hay estas alteraciones además de la avidez de agua de los tejidos hay una estancación de agua, en estas alteraciones del ritmo urinario, se presenta: Opsuria oliguria por ingerir mucha agua de una vez, que a veces se acompaña de hipertensión arterial y congestión renal e intestinal frecuentes en las fases de hipertensión portal. (13)

TROMBINA.

ESQUEMA DE SCHMIT.

TROMBOQUINASA
De origen Tisular y Plaquetas.

PROTOMBINA—CALCIO
de origen Hepático.

TROMBINA — FIBRINOGENO. FIBRINA

De origen Tisular y Plaquetas. De origen Hepático.

En los enfermos hepáticos graves hay hemorragias graves y principalmente tendencia a sangrar durante el acto quirúrgico de los enfermos ictericos.

Quick y otros demostraron que es debido a la disminución de protombina en la sangre.

El hígado interviene en el mantenimiento de la cantidad de trombina formando protombina y ayudando a la absorción de Vitamina K, pues es necesaria la bilis en el intestino para que pueda haber absorción.

Por lo tanto en la ictericia por retención disminuye la protombina por falta de vitamina K y en las lesiones parenquimatosas graves, atrofia amarilla, etc. disminuye la trombina porque el hígado no la puede formar aún administrando vitamina K.

Las hemorragias de origen hepático recuerdan las formas purpúricas.

El tiempo de sangría y el de coagulación están aumentados.

Puede hallarse protombinopenia con perfecto estado de la célula hepática en los casos de déficit de absorción de vitamina K, por mala absorción de grasas, sprue, enfermedades hepáticas, pancreáticas, etc. (13).

FUNCION CROMAGOGA

Es la propiedad que tiene el hígado de eliminar los colorantes inyectados por via endovenosa después que han sido retenidos por el sistema reticulo endotelial y células de Kupffer aun cuando éstas estén bloqueadas.

FUNCION ANTITOXICA.

Es la propiedad para extraer y eliminar de la circulación, las sustancias que son nocivas para el organismo, ya sea transformándolas en sustancias inocuas o destruyéndolas. Es una función de emergencia pero muy eficaz (14)

El poder de conjugación no corresponde a la antitoxina sino que es una función orgánica más general en la que además del hígado intervienen otros órganos, principalmente el riñón, aunque de manera distinta según las especies. Por ejem: En el perro la síntesis del ácido hipúrico se realiza principalmente en el riñón, en el conejo exclusivamente en el hígado y en el hombre en este órgano.

Con la función protectora contra gérmenes y toxinas intervienen la porción hepática reticulo-endotelial. Las células de Kupffer no sólo fijan partículas orgánicas insolubles y sustancias en solución coloidal, sino también sustancias disueltas en el plasma y bacterias.

Estas pueden ser eliminadas después por las vías biliares. Lo mismo que los tóxicos, el cúmulo de bacterias y toxinas puede ocasionar alteraciones hepáticas. (Enfermedades del hígado y de las vías biliares por J. Salas Raig.—1950).

METABOLISMO DE LAS GRASAS.

El hígado tiene un papel muy importante en el metabolismo de las grasas la bilis es indispensable para su absorción. Además el hígado puede sintetizar grasas a partir de los aminoácidos y ácidos grasos de los jabones, indirectamente intervienen en la descomposición de éstos mismos ácidos pues se necesita el glicógeno hepático para que la combustión sea completa y no se produzca acetona.

Hasta hoy no se han encontrado pruebas que determinen las alteraciones de esta función.

La que se emplea actualmente es la dosificación de grasas en las heces fecales que indirectamente es el estudio de la colesteroemia. (16)

FUNCION MINERAL.

El hígado en el metabolismo mineral.— El hígado es el encargado de regular el metabolismo mineral y por lo tanto tiene la función de amortiguar el contenido mineral de la sangre y los tejidos. Cuando el hígado sufre alguna alteración retiene en sus células el sodio y aumenta la eliminación de potasio.

Tiene también un papel muy importante respecto al hierro. Además del existente en la hemoglobina hay una cierta cantidad de hierro, alrededor de 120 por ciento (siderencia) en el varón y 90 por ciento en la mujer. El hígado lo fija, retiene y elimina. Cuando está afectado, éste proceso sufre las consiguientes alteraciones.

Interviene, también en el metabolismo del fósforo; posee una fosfatasa que libra al fósforo de sus composiciones; esta fosfatasa puede ser ácida o alcalina, la última es la más importante también se forma en los huesos.

Un hombre adulto tiene de 0.5 a 4 unidades de fosfatasa sanguínea.

Función antitóxica del hígado.—El hígado posee la propiedad de transformar en sustancias inofensivas a aquellas sustancias tóxicas ya sean endógenas o exógenas que penetran al organismo.

La transformación de dichos tóxicos se efectúa por diferentes modos.

Una de ellas es absorber y retener ciertas sustancias para después ir las eliminando lentamente de modo que no puedan ejercer su acción nociva sobre el organismo. Cuando es una gran cantidad. (15).

GLOBULINAS.

Las globulinas son sustancias proteínicas simples caracterizadas por sus propiedades físicas como son su insolubilidad en el agua de tilada mientras que se disuelven en las soluciones diluidas de sales, ácidos y bases precipitándose al agregar sulfato amónico a media saturación, propiedad que se ha empleado para separarlas del suero sanguíneo. (17)

Se forman en el hígado, en los elementos celulares del sistema reticulo-endotelial que están dotados de macrofagia (célula de Kupffer.) (18)

Se han encontrado varias clases de globulinas. Las cuales se han dividido en:

Seroglobulinas, globulinas tisulares y globulinas vegetales. Son las seroglobulinas las que interesan a nuestro estudio, por eso hablaremos de ellas.

Separados por electroforesis o por precipitación con sulfato amónico se han encontrado que están compuestas por 3 fracciones globulinicas: Alfa, Beta y Gama (19) en las cuales están contenidas las antitoxinas del suero.

Por los estudios de Breini y Haurowitz y después Mudd y Panling se ha comprobado que los anticuerpos son globulinas modificadas al hacer la síntesis por los fragmentos de antígeno que penetran (a los lugares de síntesis) como en el hígado, sistema reticulo endotelial, etc., ya que al hacerse el análisis se han encontrado los mismos aminoácidos que en las seroglobulinas normales.

Los aminoácidos contenidos en las seroalbúminas, son los siguientes:

Alanina	2.2	Grms. en 100 de globulinas
Arginina	5.4	" " " " "
Ac. Aspártico	2.5	" " " " "
Ac. Glutámico	8.2	" " " " "
Cistina	1.1	" " " " "
Clicocola	3.5	" " " " "
Histidina	0.9	" " " " "
Isoleucina y leucina	18.7	" " " " "
Licina	6.2	" " " " "
Felilalalina	3.8	" " " " "
Prolina	2.8	" (20) " " "

Generalmente en 100 c.c. de plasma hay 1.5 a 3.4 gramos de globulina pero puede variar desde 1.35 a 3.5 gramos.

Según Wurhman-Wunderley existen en el plasma humano nor-

mal. 3.70 gramos X 100 lo que representa un 35% aproximadamente de la cifra total de proteínas.

Hay aumento de globulinas en el linfogranuloma venéreo cirrótico y cáncer hepático.

Dichas globulinas fueron encontradas por medios electroforéticos (la prueba se hizo en 8 sueros normales).

	Alfa Glob.	Beta	Gama Glob.
En % de Glob. totales	7	17	76
Alfa, Beta y Gama	1	2.3	10.3
PH. del punto isoelectrico	4.8	5.2	5.4

Por otro método como el salino permite diferenciar la Euglobulina de la pseudoglobulina. La primera se compone de Beta y Gama Globulina, mientras que la segunda de Alfa y Gama globulina.

El peso molecular de las globulinas del suero es algo diferente según el método de determinación, oscilando el resultado entre 155,000 y 167,000.

Como ya hemos dicho en las globulinas se encuentran las anti toxinas, aglutininas, precipitinas y glicinas; las globulinas transportan además lipoideo (colesterina fosfolípidos, grasas neutras) así como lipocromos (carotina) (21)

El transporte lipoideo tiene lugar principalmente por las globulinas Beta y Alfa el cual según Blus Tiselius y Svensson, guardan las siguientes proporciones:

	Albumina	Alfa Globulina	Beta Globulina	Gama
Lípidos totales	1	4.4	8.6	0.4
Fósforo	2.2	7.2	10.0	1.1

Una serie de investigaciones han demostrado que las oscilaciones individuales son particularmente grandes en estas proteínas portadoras de lípidos, aún cuando posean igual velocidad electroforética y se demostró su composición heterogénea mediante la sedimentación y las determinaciones de la solubilidad, así como con las pruebas serológicas. Los medios defensivos del organismo contra las infecciones bacterianas corren a cargo en primer término de la Gama globulina ya que tienen la mayor parte de los anticuerpos.

Posee el momento eléctrico mayor de todas las proteínas plasmáticas y el número más elevado de OH libres (22)

Por la que tienen mayor facilidad para entrar en reacción intermolecular, las sales neutras no intervienen en tales uniones puesto que los iones de las sales saturan los grupos de las proteínas con cargas de signos contrarios, dando lugar a la formación de partículas del tamaño cada vez mayor hasta que por insuficiente solvatación se produce su floculación. De esta manera las proteínas del tipo de las euglobulinas sólo son solubles en presencia de sales.

También en su conducta frente al calor presentan grandes diferencias con la albúmina siendo interesante el estudio comparativo de su composición.

Hay varios métodos para dosificar las globulinas, separadas de las demás proteínas sanguíneas: Por precipitación, turbidimétrico colorimétricos y electroferético.

El primero se hace precipitando las globulinas con sulfato de sodio y dosificando el Nitrógeno por el método de Kjeldahl.

El procedimiento es el siguiente: Se separa el suero y se le agrega Na_2SO_4 al 21%, tomando 19 partes de reactivo por una de suero. Se recoge el precipitado en papel filtro endurecido porque el ordinario absorbe parte del precipitado haciendo que los resultados sean inexactos. Se seca y se dosifica el nitrógeno. El método turbidimétrico se basa en la propiedad de producir turbidez en una solución de sulfato amónico al ser agregado al suero sanguíneo. (23)

Procedimiento: Se diluye un centímetro cúbico de suero sanguíneo en 10 c.c. de suero fisiológico; se toma un c.c. de esta solución y se le agregan 2 c.c. de goma ghatti al 2% y 3 c.c. de sulfato amónico. Se mezcla y se mide la turbidez en fotocolorímetro.

Método turbidimétrico. Hay varios entre ellos la reacción del biuret en el cual se dosifican albúminas y proteínas totales y por la diferencia se ve la cantidad de globulinas. (24)

COMPORTAMIENTO DE LAS GLOBULINAS EN EL SUERO.

Un aumento de globulinas hacen aumentar la labilidad coloidal del suero, pues floculan con mayor facilidad que los otros coloides.

esta labilidad se observa ya sea que aumenten las globulinas o que disminuyan las sero albúminas. (25)

Las globulinas están contenidas tanto en el plasma como en el suero. la relación media entre *Alfa*, *Beta* y *Gama* globulina es de 20. 30 y 50 por ciento respectivamente, 60 a 65 por ciento albúmina y 30 por ciento globulina.

Las lesiones hepáticas pueden alterar el equilibrio proteinico, aunque también pueden hacerlo las afecciones que no son exclusivamente hepáticas o sea las del sistema reticulo endotelial. (26)

En un paciente hepático, al hacer la dosificación de proteínas puede ser el resultado satisfactorio pero los cocientes serina, globulina y albúmina globulina, están alterados.

En la mayoría hay disminución de albúminas y aumento de globulinas. Hay un número considerable de pruebas que marcan esta desproporción, pero generalmente todas se basan en la precipitación o floculación de la gama globulina, sin tomar en cuenta las *A* y *B* globulinas. Como son las de Hanger y del oro coloidal. (27)

La de Maclagen parece, depende su positividad del aumento de *B* globulina y lipidos aunque no está comprobado.

Según los resultados de estas reacciones anteriores así como las de Takata y Weltmann se han hecho 4 grupos según los padecimientos hepáticos. (26)

PRIMER GRUPO:—Es aquel que da S. E. Normal; Serina Globulina de 70 30 a 55. 45; formol y lactogelificación en suero y plasma; Takata normal; banda de Weltmann de 6 a 7.

SEGUNGO GRUPO:—El que más nos interesa, comprende los procesos con proliferación de los elementos celulares del mesenquima (especialmente de las células plasmáticas derivadas del S.R.E.) Este cuadro comprende la cirrosis hepática, el kala-azar, la estenosis rectal inflamatoria o enfermedad de Nicolás y Fabre, la endocarditis lenta y mieloma.

Se caracteriza por Sedimentación Eritrocitaria muy acelerada; Serina Globulina con gran inversión (hasta 10/90 o más.) Takata intensamente positiva; predominio de la formolgelificación (positiva en suero y plasma) sobre la lactogelificación (ésta puede ser negativa); Weltmann de 8 a 9.

A estos cuadros esquemáticos deben añadirse otros mixtos, correspondientes a la interferencia de los factores antes descritos, pero que, con lo expuesto creemos serán de fácil interpretación.

En las hepatitis agudas estas pruebas revelan pocas alteraciones proteicas, las cuales sólo se ponen de manifiesto por el ensanchamiento de la banda de Weltmann, reacción de Hanger positiva y, a veces por la sedimentación eritrocítica disminuida.

PRUEBAS DEL FUNCIONAMIENTO HEPATICO

Para valorizar el funcionamiento hepático tenemos necesidad de tomar en cuenta cada una de las distintas funciones que desempeña el hígado. A fin de llevarlo a cabo, podemos utilizar un gran número de pruebas que constantemente están siendo propuestas por los diversos autores tratando siempre de encontrar alguna con resultados óptimos de sensibilidad y especificidad.

METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS

En el metabolismo de los carbohidratos podemos distinguir dos etapas: La glucogénesis, que es la propiedad del hígado de transformar los azúcares en glucógeno y la glucogenólisis que es la función contraria. Hay varias pruebas para ver el comportamiento del hígado en esta función.

GALACTOTOLERANCIA:—El hígado toma la galactosa que penetra al organismo para transformarla en glucógeno y la que no sufre ésta transformación se excreta por los riñones; esta cantidad está aumentada en las lesiones extensas como hepatitis, cirrosis limitadas o de las vías biliares. Se usa generalmente en el diagnóstico de las ictericias aunque la hepato-celular da en los primeros días resultados negativos.

Tanto en esta prueba como en la lebuloso-tolerancia no se pueden diagnosticar padecimientos leves, pues son positivas solamente cuando el órgano esté seriamente dañado. Es positivo en el 90% de los casos de cirrosis hepática y 70% en la catarral, también puede serlo en ictericia mecánica, calculosa y neoplásica. Cuando es positiva en la ictericia mecánica es porque hay alguna complicación.

Se utiliza mejor la prueba de Boaudohuin en el comportamiento

de la glicemia relacionando ésta en ayunas y después de ingerir 100 gramos de azúcar:

$$\text{Cociente hiperglicémico} = \frac{\text{Glicemia postingente: y}}{\text{Glicemia en ayunas.}}$$

En las hepatopatias alcanza 2.5 (1) el cociente normal es de 1.4 a 1.6 (28).

METABOLISMO DE LAS PROTEINAS

En este metabolismo el hígado tiene funciones muy complejas: Desaminación, formación de urea; ácido úrico, producción de fibronógeno y formación de albúminas y globulinas. Hay una serie de pruebas cuyo fundamento está en la riqueza, proporción cualitativa de las albúminas plasmáticas de las cuales las principales son las siguiente:

VELOCIDAD DE SEDIMENTACION GLOBULAR:—Sus alteraciones son atribuidas a las albúminas del plasma o a la presencia de ácidos biliares o al aumento de globulinas y colesteroína. Actualmente se creé que es debido a la presencia de substancias electro-positivas que disminuyen la carga electro-negativa de los hematies haciéndolo sedimentar. Hober demostró que aumenta la velocidad con el aumento de globulinas, este aumento existe en las enfermedades infecciosas, coliangitis y enfermedades destructivas como la cirrosis en su fase aguda. Está retrasada en la ictericia catarral, en las ictericias mecánicas de causa benigna. (29).

REACCION DE TAKATA:—En presencia de globulinas aumentadas el cloruro mercúrico y el carbonato sódico se precipitan como óxido mercúrico. Otros creen que es debido a a proporción de albúmina del suero. Esta reacción es positiva en la cirrosis hepática en el 94%, disminuyendo la positividad en otras enfermedades hepáticas: Ictericia catarral, mecánica y neoplásica. (28) (30).

REACCION DE WELTHMANN:—Está fundada en la recuperación de la coagulabilidad del suero diluido al 1 por 50 por la presencia de un electrolito en diversas concentraciones. Se atribuye su positividad a las alteraciones de las albúminas hemáticas y se

encuentra acortada la banda de coagulación en los procesos degenerativos, inflamatorios y exudativos y alargada en los procesos fibrosos, cirrosis hepática, tuberculosis hepática. Para Espinguer tiene su máximo valor en las cirrosis y su diferenciación de la neoplasia en los casos de hígado grande y ascitis; así mismo la atrofia aguda provoca un ensanchamiento de la banda y en la enfermedad de Weil está acortada. (31).

VISCOSIDAD DEL SUERO:—Teniendo en cuenta la mayor viscosidad de las globulinas respecto a las serinas, según la cantidad de una y otras será la viscosidad; Pugliesi decía que es debida a la encoloidalidad del suero pero otros piensan se han debido al tamaño de los hematies o a la cantidad de glóbulos. (32)

REACCION XANTOPROTEICA:—Los cuerpos aromáticos como el benzol o el indol, se nitrifican con ácido nítrico dando color amarillo más intenso cuando el PH, es muy alto.

Está aumentada en la intoxicación urémica y en las hepatopatías acompañadas de aumento de la amidoacidemia principalmente triptófano y tirocína por ejemplo; atrofia amarilla, cirrosis avanzada y en la proximidad, o durante el coma hepático.

Hay fibrinogenopenia en las hepatopatías graves y en la atrofia aguda, sin que esté relacionada con la gravedad de la enfermedad hepática debido quizá a que el fibrinógeno es en parte producido por la médula ósea; para Espinguer el haber fibrinogenopenia indica una lesión parenquimatosa, encontrándose aumentado el fibrinógeno en las ictericias mecánicas simples.

El hígado puede liberar más sustancias, entre ellas la antitrombina o heparina que inhibe la formación de fibrinógeno. (33)

REACCION DEL ORO COLOIDAL:—Se hace con suero diluido al 1/350 en suero fisiológico (650%) para preparar una solución próxima en albúmina al líquido cefaloraquídeo.

Normalmente flocculan los tubos 1 y 2, lo máximo generalmente ninguno. En la cirrosis es positiva en la zona luética o total, luética y meningítica casi en el 100%. Es menos frecuente en otras enfermedades parenquimatosas o en las neoplasias hepáticas. (34)

REACCION DEL BENJUI COLOIDAL:—Propuesta por Vidal Rivas y Rocha.—Basada en la técnica de Guillain Laroche, pa-

ra líquido cefaloraquídeo se realiza con suero diluido al 1/350 en suero fisiológico.

Es negativa en las ictericias mecánicas en las que tiene un gran valor pronóstico. (35)

Esta reacción como la anterior se fundan en las alteraciones de las albúminas plasmáticas. Hay otras más recientes como la del cadmio Maclagen, Hanger y Hedja que describimos en un capítulo aparte.

METABOLISMO DE LA COLESTERINA

La única prueba para esta función consiste en medir el aumento de colessterina en la sangre comparándola al fotocolerimetro con un patrón tipo de colessterina. La cantidad normal en el suero varia de 1.5 a 2 gramos por 1.000 elevándose en las enfermedades hepáticas hasta 3 gramos por 1.000, raramente más. (36)

PRUEBA DE LA BROMOSULFATALEINA

(12). Se basa en la cantidad colorante que hay en el suero a los 30 y 60 minutos de haber hecho la inyección, según la cantidad encontrada es el trastorno hepático.

0	Normal	menos de	15%	de colorante	retenido.
1	30%
2	60%
3	100%
4	100%

METABOLISMO DEL AGUA

PRUEBA DE LA OPSURIA. GILBERT: — En un sujeto normal, en cama; con un régimen fijo durante unos días, comiendo a las 12 y 20 hs. y orinando cada 4 horas se observaba un aumento de la diuresis durante las 4 horas siguientes a la comida. En los enfermos hepáticos; este aumento, o bien es escaso o nulo, o aparece después de las 4 horas. (35)

PRUEBA DE LA OLIGURIA ORTOSTATICA:— En el sujeto sano, no hay variación de la diuresis permaneciendo de pie o en cama 6 horas. Para esta prueba son necesarios, 2 días, uno en que el sujeto esté de pie y otro, en cama, por Ej.: de 6 a 12 hs. de la mañana. Es una prueba incómoda y de poco uso. En los enfermos hepáticos la diuresis ortostática puede llegar al cuarto de la del decúbito. (35)

PRUEBA DE LA SOBRECARGA:— Semejante a la prueba de Volhard, en el sujeto normal, la ingestión de 1.500 c.c. de agua o té flojo, va seguido de su eliminación durante 4 horas inmediatas, en el hepático generalmente no se produce esta diuresis tan marcada. (35)

La persistencia de la hidremia se comprueba por la disminución del total globulínico rojo.

TROMBINA

El hígado produce la trombina, está estrechamente vinculada al metabolismo de la vitamina "K", por tal motivo, si administramos gran cantidad de vitamina "K" se forma una gran cantidad de protrombina; si no sucede así, la función es deficiente.

TIEMPO DE PROTROMBINA:— Se basa en la coagulación del plasma a un tiempo determinado por la adición de cloruro de calcio al unirse con la protrombina. Puede haber protrombinemia con perfecto estado de la célula hepática cuando hay mala absorción de vitamina "K", por déficit en la absorción de grasas, sirve, enfermedades pancreáticas etc. (35)

FUNCION CROMAGOGA

Colorante utilizado antiguamente para esta prueba, es el Rosa de Bengala inyectado por vía endovenosa después a la dosis de 1.5 miligramos por kilo de peso. Se considera como retención normal valores de 3 miligramos; cuando los valores oscilan entre 3 y 6 miligramos, se considera su retención como mediana y traduce una franca lesión hepática mucho mayor si la retención llega a 9 mgrs.

Es francamente positiva en las lesiones difusas del hígado, cirrosis; puede ser normal en la neoplasia hepática o quiste hidatídico.

debido a que la célula hepática conserva su normalidad hasta que la enfermedad está muy avanzada. Carece de valor en la ictericia hepatocolular o mecánica, donde se comprende que las mismas dificultades que encuentra la eliminación de la bilirrubina, actuarán sobre la del colorante.

No así en los casos de ictericia de origen extra-hepático, ictericia hemolítica o en la misma cirrosis de Hannot. En estos casos la célula hepática está normal o ligeramente alterada. (37) Actualmente la prueba más usada es la de la bromosulfaleína que describimos a continuación.

FUNCION ANTITOXICA

PRUEBA DE LA SANTONINA:—Propuesta por Houkhar y Dieat. Se basa en la propiedad del hígado de transformar en oxisantina, la santina ingerida. Su curva de eliminación es más alta y duradera en las afecciones parenquimatosas hepáticas principalmente en la cirrosis. (38)

PRUEBA DEL ACIDO SALICILICO:—Este ácido es transformado por el hígado en glicuronato, producto que no da la coloración violeta frente al percloruro de fierro que da, el ácido salicilico. Como el hígado enfermo no puede realizar esta transformación aparece en la orina dicha coloración después de administrar al enfermo, 0.4 gramos de ácido salicilico. Es positiva en las afecciones parenquimatosas. (35)

PRUEBA DE LA QUININA:—Propuesta por Weil. Se funda en que en el sujeto sano aparecen vestigios en la orina, después de administrar 0.25 gramos de quinina. (35)

METABOLISMO GRASOSO

Se investiga indirectamente en las heces fecales microscópica o macroscópicamente, en ellas se ve el aumento de los ácidos grasos, característico de la falta de bilis en el intestino. En todas las enfermedades hepáticas que no hay disminución o supresión del flujo biliar en el intestino, las materias fecales no presentar alteración que nos sirva para el diagnóstico. (36)

METABOLISMO MINERAL

Su alteración se manifiesta por la alteración de la fosfatasa sanguínea que se elimina por la bilis, por lo que se emplea como prueba funcional del hígado ya que en caso de estancamiento y obstrucción biliar se eleva en la sangre.

Para que tenga valor esta prueba debe haber al mismo tiempo Hiperbilirrubinemia hepática. Puede haber aumento en las ictericias por hepatitis tóxica, en la cirrosis y en ciertos cánceres hepáticos. (36)

FUNCION BILIAR

BILIRRUBINA:—Hay varias pruebas para el funcionamiento normal de este pigmento, describiremos las que nos parecieron más importantes.

INDICE ICTERICO:—Consiste en medir fotocolorimétricamente el porcentaje de luz absorbida por el suero sanguíneo diluido en una solución buffer, expresando los resultados en unidades. Lo normal son de 4 a 6 unidades; patológicamente se obtiene una elevada cifra de unidades.

Está aumentada en general en todas las ictericias, en las cirrosis, sífilis crónica del hígado, hepatopatías, hepatitis catarral, luética y aguda, atrofia amarilla aguda, tumores, abscesos, etc., etc.

REACCION DE VAN DEN BERGH:—Esta prueba se basa en el color violeta que toma el suero sanguíneo al ponerlo en contacto en presencia de una solución de nitrito sódico y ácido sulfanílico.

Reacción directa es la que se hace entre el suero y el reactivo sin que intervenga ninguna otra substancia. puede ser pronta cuando la coloración aparece al momento o en menos de 2 minutos y tardía cuando tarda de 2 a 10 minutos.

Reacción Indirecta.—Esta se practica cuando la directa da resultados negativos, agregando alcohol a la mezcla anterior para liberar todo el pigmento que exista, y enseguida se disuelve éste agregando una solución de sulfato de amoníaco.

Reacción Bifásica.—Es la directa pero que aparece mucho tiem-

po después de lo normal. La positividad de esta reacción así como la de la directa tardía puede ser por ictericia hepatocelular mixta o retención o por hemólisis.

Reacción directa e indirecta prontas: Ictericia obstructiva. Reacción indirecta solamente: Ictericia hemolítica. (35) y (36).

Es mejor usar la modificación de Varela basada en que la bilirrubina indirecta, que existe en todos los sueros normales es muy soluble en cloroformo, e insoluble en agua; lo contrario de la directa de origen hepático.

Esta técnica tiene la ventaja sobre el método de Van Den Vergh que, a más de valorar por separado la bilirrubina directa e indirecta, es mucho más exacto, ya que por el otro método una parte de la bilirrubina total es arrastrada por las albúminas del suero y son precipitadas por la acción del alcohol. (35)

UROBILINA

Para investigar el funcionamiento del hígado en la producción de urobilina se dosifica el urobilinógeno urinario y se investiga también en las heces fecales. En la orina hay generalmente unos 5 miligramos en 24 hs. Cuando no aparece indica una fase obstructiva de la hepatitis siempre que reaparezca a los 4 o 5 días, si la desaparición es prolongada probablemente hay un cáncer hepático.

No es una prueba específica del hígado, pues también puede haber ausencia de urobilinógeno en todos los estados de hiperfunción renal. Cuando está aumentada se debe entre otras enfermedades no hepáticas a la citrosis pórica del hígado. (35)

SALES BILIARES

Cuando hay pigmentos y sales en la orina con urobilinógeno normal o aumentado, es que hay déficit hepatocelular. Cuando existen sales y pigmentos con el urobilinógeno disminuido o ausente: obstrucción del coledoco. Cuando está el urobilinógeno aumentado pero sin pigmentos ni sales, es debido a alguna fase hepatopática en que no se ha excedido el umbral de la bilirrubina. (35)

po después de lo normal. La positividad de esta reacción así como la de la directa tardía puede ser por ictericia hepatocelular mixta o retención o por hemólisis.

Reacción directa e indirecta prontas: Ictericia obstructiva. Reacción indirecta solamente: Ictericia hemolítica. (35) y (36).

Es mejor usar la modificación de Varela basada en que la bilirrubina indirecta, que existe en todos los sueros normales es muy soluble en cloroformo, e insoluble en agua; lo contrario de la directa de origen hepático.

Esta técnica tiene la ventaja sobre el método de Van Den Vergh que, a más de valorar por separado la bilirrubina directa e indirecta, es mucho más exacto, ya que por el otro método una parte de la bilirrubina total es arrastrada por las albúminas del suero y son precipitadas por la acción del alcohol. (35)

UIROBILINA

Para investigar el funcionamiento del hígado en la producción de urobilina se dosifica el urobilinógeno urinario y se investiga también en las heces fecales. En la orina hay generalmente unos 5 miligramos en 24 hs. Cuando no aparece indica una fase obstructiva de la hepatitis siempre que reaparezca a los 4 o 5 días, si la desaparición es prolongada probablemente hay un cáncer hepático.

No es una prueba específica del hígado, pues también puede haber ausencia de urobilinógeno en todos los estados de hiperfunción renal. Cuando está aumentada se debe entre otras enfermedades no hepáticas a la cirrosis pórica del hígado. (35)

SALES BILIARES

Cuando hay pigmentos y sales en la orina con urobilinógeno normal o aumentado, es que hay déficit hepatocelular. Cuando existen sales y pigmentos con el urobilinógeno disminuido o ausente: obstrucción del coledoco. Cuando está el urobilinógeno aumentado pero sin pigmentos ni sales, es debido a alguna fase hepatopática en que no se ha excedido el umbral de la bilirrubina. (35)

FUNDAMENTO DE LAS REACCIONES DE MACLAGEN, HANGER Y WUNDERLY-WURKMAN

En el diagnóstico de las lesiones de la celdilla hepática se utilizaron una serie de pruebas; tomando en cuenta la mayor sensibilidad como son:

"REACCION DE HANGER"

Hanger en 1939 presentó esta reacción que se basa en la propiedad que tiene el suero sanguíneo de enfermos hepáticos, de flocular en presencia de una mezcla de cefalin-colesterol cuando está aumentada la gama globulina.

Por el contrario la fracción albúmina o la mezcla de la alfa y beta globulina, nunca determinó floculación. (41)

Por una serie de experimentos se demostró que cuando la gama globulina alcanza la tasa de 0.3 mg. determina una reacción positiva. Esta se presenta cuando hay trastornos extensos del parénquima hepático, siendo más positiva, cuando más grande sea ésta.

De 0 a + : Normal, lesión circunscrita o afecciones de las vías biliares.

De ++ a ++++ : Cirrosis, hepatitis, cáncer hepático extenso.

Positiva de las ías ictericias obstructivas cuando está dañado el hígado. Negativa en la ictericia hemolítica y en la hepatitis con mejoramiento rápido. (42) (3).

"REACCION DE MACLAGEN"

Si tenemos un suero con exceso de globulinas y le ponemos una solución amortiguadora de timol: obtenemos una opalescencia tanto más densa cuanto mayor sea la cantidad de globulinas.

Esta opalescencia se lee al fotocolorímetro y se compara con una escala especial. (43)

Dicho enturbiamiento se debe a un aumento de la gama globulina, que supone sea debida a la unión con los grupos oxifenólicos reactivo. En consecuencia el precipitado contiene un complejo de globulina-timol-fosfolípidos.

Dicho enturbiamiento se halla reforzado cuando desciende la fracción albúmina.

En la cirrosis da resultados positivos en el 81% de los casos, en las cirrosis graves 92%. En otras enfermedades hepáticas da también un alto porcentaje de anomalidad. (44)

"REACCION DE WUNDERLY-WURKMAN"

Se basa en la floculación del suero sanguíneo con la proporción de la gama globulina, aumentada en presencia de una solución de sulfato de cadmio al 4%. La albúmina, y la globulina gama son las que principalmente reaccionan. (45).

El suero no debe estar refrigerado ni hemolizado porque daía reacciones positivas falsas.

Su positividad indica las mismas afecciones hepáticas que en las reacciones de Hanger. (44)

"REACCION DE KUNKEL Zn. KUNKEL Cu."

La dilución del suero con una solución buterada de SO_4Zn causa una turbidez difusa, y la densidad óptica de la suspensión es proporcional a la concentración de la globulina gama. (46)

Las condiciones en que debe estar el suero, son las mismas que para las reacciones anteriores.

La lectura se hace de una manera más exacta por medio de fotocolorímetro a 650 U. Siendo lo normal entre 0 y 4 unidades.

Cuando no se disponga de un colorímetro la lectura de la elevación de la globulina gama puede ser hecho por la observación visual directa de la fluidez producida. El tiempo necesario para que la floculación ocurra, es también una simple indicación de la concentración de la globulina gama. Dicha positividad se representa con +, ++, +++, ++++, +++++.

METODO SEGUIDO Y MATERIAL CLINICO EMPLEADO

El presente trabajo tiene por objeto hacer un estudio comparativo entre la reacción de Kunkel Cu, Zn y las principales técnicas para la precipitación de seroglobulinas muy usadas en la actualidad.

A fin de encontrar sus inconvenientes o sus ventajas.

Utilizamos como reacciones comparativas las de:

Maclagen, Wunderly, Hanger.

"TECNICAS EMPLEADAS"

PRUEBA DE WUNDERLY

Se pone en un tubo de ensayo, 2 c.c. de solución al 4% de sulfato de Cadmio, y 0.4 de suero del enfermo. Se agita ligeramente y se lee a los 5 y a los 30 minutos.

Líquido limpio = Reacción negativa.

Turbio persistente: +, ++, +++.

Si al agitar desaparece la turbidez es que la reacción es falsa.

El reactivo es estable. e

El suero no debe estar refrigerado, ni homolizado.

"REACCION HANGER"

Cefalin — Colesterol — Difco.

A un frasco de 1 c.c. se le agregan 5 c.c. de éter (4 en un tubo de centrifuga y uno más para lavar). Se centrifuga durante 4 minutos. "Esta es la solución Madre".

En un Erlenmayer se pone con jeringa 1 c.c. de la solución Madre. Se agrega poco a poco agitando, agua destilada hirviendo hasta agregar 35 c.c. Hervir hasta que desaparezca el éter. Volumen final 30 c.c.

El líquido debe ser lechoso, sin grumos ni éter. Sirve de una a dos semanas en refrigerador.

REACCION

Se pone en un tubo de centrifuga 0.2 de suero 4 c.c. de solución salina fisiológica, 1 c.c. de antígeno de cefalíncolesterol. Se deja reposar 36 hs. y se lee.

Líquido claro = negativo (—)

Precipitado en el fondo: Positiva +, ++, +++.

No se use jabón para lavar los tubos.

Un tubo control contiene 4 c.c. de solución salina y 1 c.c. de antígeno. El antígeno debe prepararse al hacer la reacción.

Si el suero está refrigerado, un día más puede dar reacción positiva falsa.

Para evitar resultados falsos por contaminación, debe estar el antígeno fuera de la luz y la solución salina antígeno de 20 a 25°C. El suero del paciente debe diluirse hasta la hora de hacer la reacción.

MACLAGEN

Prueba de la turbidez del Timol (49).

Póngase 6 c.c. de la solución buffer que debe estar bien clara, en un tubo de ensayo. En otro tubo se ponen, 6 c.c. de agua destilada, que ser la prueba en blanco.

Adiciónese 0.1 c.c. de suero en cada tubo, enjuáguese la pipeta con el líquido del tubo.

Tápanse los tubos y mézclese bien el contenido. Espérese en reposo durante 30 minutos; agítese otra vez.

Véase el fotocolorímetro (normal de 0.4 a 4 unidades).

El mayor límite normal usando 3 tiempos de la desviación standar es 168. En la cirrosis 18% de las determinaciones son anormales, en una cirrosis grave, el 92%. En otras enfermedades del hígado da también un alto porcentaje de ano malidades.

REACCION DE KUNKEL Cu y Zn.

Procedimiento: El reactivo contiene 24 miligramos de $\text{SO}_4\text{Zn} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 280 mgrs. de barbital y 210 mg. de barbital sódico debiendo tener dicha solución un PH de 7.6.

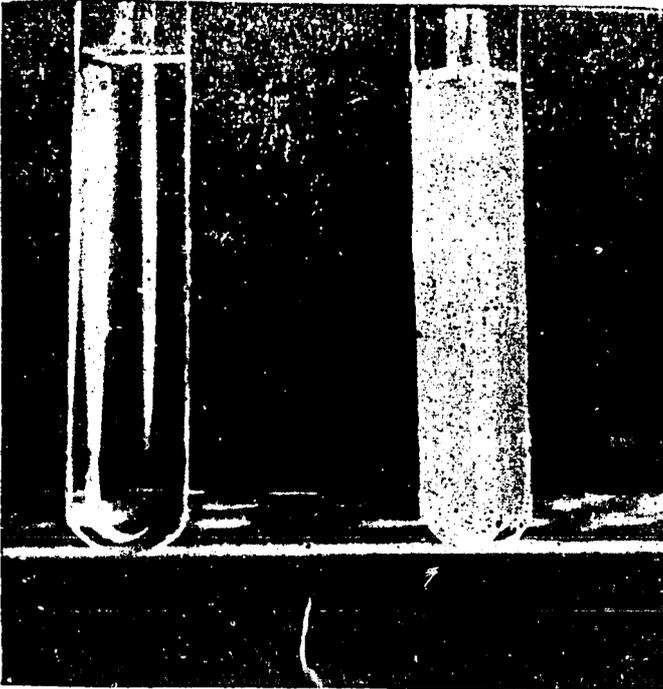
Para la preparación del reactivo Cu, se utilizarán 24 mgrs., $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 280 de barbital y 210 mgrs. de barbital sódico con el mismo PH.

Midase un volumen de suero (.05c.c.) dentro de 60 volúmenes de reactivo (3c.c.) déjese 30 minutos, agítese, y luego lea turbidez en el fotocolorímetro.

La turbidez producida es trasladada aplicando una curva standar a la usada en la prueba de turbidez del timol. (50).

Las unidades deben ser electroforéticas:

Unidades = Lectura del tubo \times El doble de la difusión final.



REACCION DE KUNKEL (Negative Positivo)

RESULTADOS OBTENIDOS

Para hacer este estudio se utilizaron 1,107 individuos de ambos sexos, con diversos padecimientos.

Se tomaron varios grupos clasificados en la siguiente forma:

- 1er. Grupo.—Individuos con afecciones hepáticas diversas.
- 2o. Grupo.—Individuos con afecciones diversas del aparato digestivo sin manifestaciones sintomáticas hepáticas.
- 3er. Grupo.—Individuos con tuberculosis pulmonar.
- 4o. Grupo.—Individuos sifilíticos.
- 5o. Grupo.—Individuos con diversas afecciones aparentemente sin ninguna relación con el hígado.
- 6o. Grupo.—Individuos aparentemente sanos.
- 7o. Grupo.—Individuos reclusos en la Penal de Guadalajara, Jal.
- 8o. Grupo.—Individuos de 13 a 20 años (Deportistas).
- 9o. Grupo.—Enfermas Ginecológicas.

A estos individuos se les practicaron en todos los casos las reacciones Maclagen, Wunderly y Hanger; de la reacción Kunkel en sus dos variedades: con el Cu. y con el Zn.

Gr. Enfermos	Estu. diados	Maclagen	Wunderly	Kunkel Cu	Kunkel Zn.	Hanger
1o.	42	15(35.7%)	14(33.5%)	16(38.0%)	8(19.0%)	30(71.4%)
2o.	36	2(5.5%)	2(5.5%)	2(5.5%)	0(0%)	7(19.4%)
3o.	106	13(12.6%)	19(17.2%)	23(21.6%)	14(13.2%)	26(24.5%)
4o.	225	15(6.6%)	44(19.5%)	53(23.5%)	23(10.2%)	40(17.7%)
5o.	323	29(8.9%)	52(16%)	67(2.7%)	33(10.2%)	77(23.8%)
6o.	205	37(18.0%)	39(19%)	55(26.7%)	28(13.6%)	53(25.6%)
7o.	66	25(37.8%)	6(9.0%)	5(7.5%)	2(3.0%)	16(24.2%)
8o.	81	0(0%)	3(3.7%)	7(8.6%)	0(0%)	7(8.6%)
9o.	23	3(13.6%)	2(8.6%)	6(26.0%)	2(8.6%)	6(26.0%)
9	1,107	139(12.5%)	181(16.3%)	224(20.2%)	110(9.9%)	262(23.5%)

DISCUSION

De los resultados anteriores encontramos diferencias notables en el comportamiento de la reacción, cuando se utiliza el Zn o el Cu, en la Reacción Kunkel, nos da la impresión de que ésta parece ser más sensible cuando se utiliza el Cu., ya que el porcentaje de positivos obtenidos en todos los grupos, fué mayor cuando se sigue este procedimiento.

La relación de sensibilidad y especificidad de la reacción de Kunkel Cu. con el resto de pruebas hepáticas fue muy variable en los distintos grupos, ya que por Ej: el grupo 3., 6o., 8o. y 9o. se comportan de una manera semejante a la reacción de Hanger, mientras que el 2o., 5o. y 7o., el número de positivos con la reacción Kunkel Cu. es mucho menor.

Parece ser que en aquellas afecciones en las cuales hay mucha posibilidad de lesión hepática la reacción de Kunkel Cu. parece dar un porcentaje mayor de positividad, es decir, da la impresión de ser una reacción bastante específica aunque sin embargo, pierde bastante en sensibilidad, ya que el porcentaje de reacciones positivas en general es mucho más bajo que cualquier otra de las pruebas hepáticas.

SUMARIO Y CONCLUSIONES

1o.—Se estudió la reacción de Kunkel (Cu y Zn) en un grupo de 1.107 individuos de ambos sexos, a quienes se les practicó, además las pruebas de Maclagen, Wunderly y Hanger.

2o.—Con los 1.107 se hicieron 9 grupos homogéneos en relación con su padecimiento.

3o.—En total se encontraron (224(20.20%) de reac. de Kunkel positivos, cifra semejante a la que se encontró con la reacción Hanger. 262(23.50%).

4o.—Parcialmente en los diversos grupos, la forma de actuar la reacción de Kunkel, fué muy variable, dando la impresión de ser semejante en especificidad como el Hanger, pero mucho menos sensible.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Mann Frank C. J. A. M. A.—117:1577-1941.
- 2.—Emih H. P. Warner E. D. and Brinkhous K. M. J. *Express Med* 66:801.—1937.
- 3.—Smith, H. P. Warner E. D. y Brinkhaus K. M. *Exper Nied* 66:801, 1937.
- 4.—Mann, F. C. AM. *Dis V Nutrition* 4:355; 1937.
- 5.—Randoni *Compendio de Bioquímica*: 1936.
- 6.—Sala Raig. *Clinica de las Ictericias*: 1943.
- 7.—*El Laboratorio en las Enfermedades del Aparato Digestivo*. F. Preto Albajes. P. Pujol Casab. 62—1945.
- 8.—Larregla—*Los Acontecimientos de Bioquímica*: 1943.
- 9.—Stroebe—S. Crwiegh—*Enfermedades del Aparato Digestivo*. Beigmann: 1943.
- 10.—Schidt C. J. A. y otros *Chemistry of The Amino Acids and Proteins*.—1938.
- 11.—Cameron A. T. y Gilmour C. R.
- 12.—F. Preto Albajes.—P. Pujol Casas—78-79: 1945.
- 13.—F. Preto Albajes.—P. Pujol Casas—78-79: 1945.
- 14.—Gradwohl—*Pap.* 290-291.
- 15.—*Enfermedades del Hígado y de las Vías Biliares por J. Salas Raig*. 1950.
- 16.—Dr. Bätz y Guereca—*Apuntes*: 1949.
- 17.—Meloille Sahu. *Introducción al Estudio de los Aminoácidos y Proteínas*: 1944.
- 18.—Agustín Pedro Pons—*Enfermedades del Tubo Digestivo. Hígado y Vías Biliares*: I—1950.
- 19.—Plicmer L. *Chim Rev*—33—1—1943.
- 20.—Cameron A. T. 1947.
- 21.—Filton L. D.—*Immunol* 22—453. 1932.
- 22.—Gray S. J. and Barton E. B. G. *The Electrophoretic Analysis of the Serum Proteins in Diseases of the Liver*. J. Clin.
- 23.—*Investigation* 22—181—1943.
Robinson H. Wand Hogden C. G.—*Biol Chin.* 135, 707, 727—1940.
- 24.—Autentieth W.—*Munch—Med Woch*—64-24.

- 25.—J. Preto Albajes.—F. Pujol Casas: 1947. *El Laboratorio en las Enfermedades n el Aparato Digestivo*. 1945.
- 26.—J. Sala Raig.—*Enfermedades del Hígado y Vías Biliares*. 1950.
- 27.—Cohen, P. C. and Thompon, F. *The Serum Protein Fraction Responsible for the Thymol Turbidity Test*. *J. Lab. V. Clin. Med.* 32—314. 1947.
- 28.—Espinger—*Enfermedades del Hígado*. 1941.
- 29.—Hober R.—*Fisiología Humana*. 1933.
- 30.—Suros Fornis—*Diagnostico Funcional de las Cirrosis Hepáticas*. *Laenec Anal Clin Med. A.* 1943.
- 31.—Weitman—*Untersushunger Uber Die Serum Hosgulation* *Zweitsch Klin. Med.* 118.670—1931.
- 32.—F. Preto Albajes—P. Pujol Casas—81—1945.
- 33.—Bicher *Métodos Clínicos para el Análisis de Orina y Sangre*. 1935. *Becher Fisiopatología Especial*. 1936.
- 34.—Rocha—Vidal—Rivas—*Reacción de Benjui Coloidal*. *Jornadas Médicas*. 1942.—Rocha—Vidal—Rivas—*Una Nueva Reacción de Labilidad Coloidal*—*Rev. Clin Esp.* 15 Set. 1944.
- 35.—Varela y Amunilla—*Compt. V. Soc. Bigl.* 1934, T 117, P 555.
- 36.—Dr. Bätiz y Guereca—*Apuntes de Patología Quirúrgica*. 1931.
- 37.—Fies nger Walter—*Moyeaux Proedis de Exploration Fontionille Du Falc*. Paris 1934.
- 38.—Monkhtar—D. Jural—*Presse Medicale*—II—1933.
- 39.—Rossenthal—*Enfermedades del Hígado y Vías Biliares*. 1938.
- 40.—Deutsch—*Ach. Klin Med* 132—1920.
- 41.—Friesech A. W. and Villigan J. J. *AM. J. M.* SEI 212.
- 42.—Hanger F.M *J. Clin Investigation* 18, 216. 1939.
- 43.—Madelagen N. F. *Thumol Turbidity Test: A New Indicator of Liver Dysjunction*.—*Nature London* 154, 670—1944.
- 44.—Dr. Bätiz y Guereca. *Apuntes de Fisiopatología Hepática*. 1950.
- 45.—*Tomada de Libros Particulares*.
- 46.—Kunkel, H. G. and Hoagland, C.L.J. *Clin Invest.* 1947. 2v. 1060.
- 47-48.—*Del anterior*.
- 49.—Madelagen *Brit. J. Exp. Path* 25-234 (1944)
- 50.—Shank, R. E. and Hoagland, C. L. *J. Biol Chem.* 1946. 162, 133.
- 51.—Galtenkamp (King and Haschvoad. 1946.