

UNIVERSIDAD IBERO AMERICANA

INCORPORADA A LA U.N.A.M.

FACULTAD DE QUIMICA BERZELIUS

Estudio Comparativo de Pruebas
Enzimáticas con Pruebas de Floculación
en Personas Normales y con
Padecimientos Hepáticos

T E S I S

para optar al título de
Químico Farmacéutico Biólogo

MARIA TERESA DE LA TORRE Y QUINTERO

México, D. F.

1 9 5 9



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 mi mamacita

*Sra. Esther Quintero de de la Torre
con todo mi cariño y eterna gratitud.*

*A la memoria de mi abuelito
Sr. Dn. Manuel de la Torre O.*

*A mi abuelita
Sra. Lucia Villar Vda. de de la Torre*

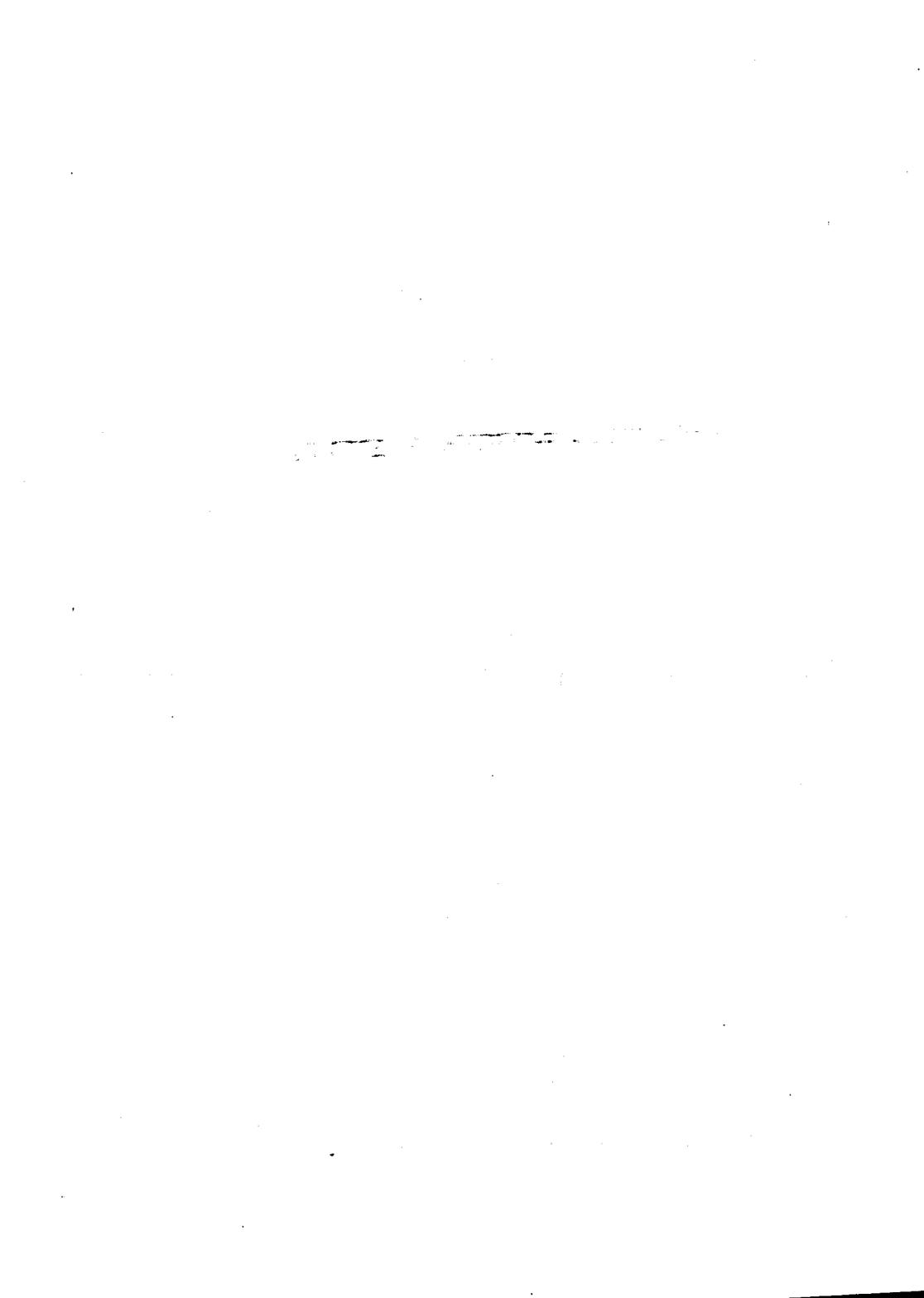
*A las reverendas madres
del Instituto Anglo Español*

A la familia Hermosillo

A mis maestros, compañeras y amigas.

Sumario:

- I.—DATOS INFORMATIVOS.
- II.—TECNICAS.
- III.—MATERIAL.
- IV.—REACTIVOS.
- V.—GRAFICAS Y DATOS.
- VI.—CONCLUSIONES.
- VII.—BIBLIOGRAFIA.



CAPITULO I

DATOS INFORMATIVOS

Datos Informativos

a) **Antecedentes históricos.**—Los primeros hechos que hicieron sospechar al hombre la presencia de sustancias de naturaleza compleja y capaces de activar o inducir reacciones químicas, fue sin lugar a duda, la transformación de los jugos de uva acompañados de producción de calor y desprendimiento de gases; transformándose en sustancias que iban pasando por diversos sabores para llegar al francamente ácido (vinagre). El proceso de esponjamiento de la masa para fabricación del pan. Desde antiguo, a este fenómeno se le denominó fermentación del latín "fervere" que significa hervir.

Fue a finales del siglo XVII en que Lavoisier por primera vez hizo lo que él llamó el balance de la fermentación, en que demuestra que si bien por este fenómeno hay una transformación de las sustancias; en la resultante es posible identificar el Carbono, Hidrógeno y Oxígeno presentes en el compuesto primitivo; además demuestra por primera vez, que el gas desprendido en el fenómeno fermentativo es "Bióxido de Carbono."

El descubrimiento del microscopio por Loehuenjuet hace posible verificar la relación de este fenómeno, con la presencia de seres microscópicos, así pues, el genio Pasteur establece de manera definitiva la naturaleza y la especificidad biológica de este fenómeno con sus brillantes experimentos basados en que la presencia de ciertos mohos transforman el ácido cítrico levógiro pero no el racémico.

Andando el tiempo y establecido que el fenómeno es la resultante de la acción de seres vivos, o bien, de sustancias que ellos elaboran y excretan; da base a experimentar el uso del extracto de la levadura de cerveza por Edard.

Buchner demostró que el extracto posee las mismas propiedades que las levaduras íntegras. Prolongando la similitud de este fenómeno a otras circunstancias, establece este investigador que en realidad el agente causante de la fermentación es debido a sustancias que elaboran y excretan los microorganismos; a estas sustancias, capaces de producir el fenómeno aludido les llama por primera vez Kúner, "enzimas".

De acuerdo con lo anteriormente relatado, se vio, que las enzimas sólo eran capaces de transformar determinada substancia y así nacieron por Ej.: los nombres de "lipasa", "amilasa", "ureasa", "arginasa", etc., siguiendo la ley de nomenclatura de poner la terminación "asa" al nombre de la substancia que era susceptible a su acción, así refiriéndonos a la urea diremos ureasa, a la argina arginasa, etc. Ducleaux introduce esta nomenclatura.

Los investigadores se dieron cuenta desde el principio de la complejidad molecular de las enzimas y pensaron en la naturaleza proteica de ellas.

Fue Schanner en 1926 quien logró por primera vez obtener una enzima pura al estado cristalino: la ureasa.

Investigaciones últimas han dado origen a los nombres que están íntimamente relacionados con los hallazgos de los investigadores; así pues, no tan sólo se demostró la complejidad de la molécula, sino que esta se componía de una parte proteica y la enzima propiamente dicha, a la parte proteica se le denominó "coenzima".

Se ha encontrado que ciertas vitaminas del grupo B, bajo la forma de fosfato, actúan como cofermentos, así mismo lo hacen ciertos iones metálicos, los cuales actúan reforzando la acción de las enzimas, y por lo mismo se les ha denominado metalo-enzimas, por Ej.: Magnesio, Manganeso, Cobalto, etc.

Relatados de un modo muy general los antecedentes históricos de las enzimas, pasaremos a indicar algunas de sus propiedades.

Desde el punto de vista físico, constituyen una molécula grande, generalmente poco difusible a través de las membranas. Para su actividad óptima es necesario un medio que además de contener el sustrato adecuado, esté presente en una concentración de Hidrógeno iónico (pH) adecuado. Este es en algunos casos una condición tan particular que permite clasificar enzimas de caracteres físicos y químicos parecidos, en categorías bien definidas, verbigracia: fosfatasas ácidas, fosfatasas alcalinas.

La temperatura influye de manera definida, habiendo un margen de unos cuantos grados para que la actividad sea óptima o nula,

Ejemplo: Fosfatasas 37° actuación óptima
Ureasa 50° " "
Transaminasas 25° temperatura ambiente.

Inicialmente se pensó que la acción de las enzimas se debía exclusivamente a la "presencia" de ellas, pero que en manera alguna dichas enzimas intervenían en las reacciones moleculares que iniciaban o aceleraban con su presencia. Estudios posteriores demostraron que estos cuerpos químicos, no actúan por su mera presencia, por el

contrario, si intervienen molecularmente en las reacciones, y es más durante el desarrollo de estas reacciones las enzimas se "gastan" o "agotan". Lo anterior viene a establecer que siempre hay una relación de masas (substrato y enzima) para que el sistema funcione de manera óptima, condicionado desde luego por el tiempo, la temperatura y los iones presentes. Por lo que antecede la actividad de una enzima es susceptible de ser medida, siempre que se mantengan constantes todos los factores, excepto la cantidad de enzima utilizada.

La velocidad de la reacción en un sistema enzimático en función del tiempo, estará representado de manera aproximada por una curva de función logarítmica, en otras palabras: poca velocidad de la reacción a baja concentración de la enzima, velocidad de valor óptimo con una concentración adecuada de la enzima.

El conocimiento de este comportamiento, permite su cuenteo, es decir, conocer la cantidad de una enzima por medio de la velocidad que impone a una reacción, esto naturalmente cuando todas las condiciones complementarias permanecen invariables.

Para los fines prácticos del laboratorio clínico es de gran utilidad, el anterior conocimiento, dado que permite conocer la cantidad de una enzima, en función del tiempo del nuevo cuerpo formado por su acción. El nuevo cuerpo formado por lo tanto, será susceptible a medidas químicas o físicas tales como: volumetría, fotometría, (colorimetría), potenciometría, etc. Por todo lo anterior se comprende claramente que en una relación de masas (substrato enzima) la acción de las enzimas, generará en la unidad de tiempo una cantidad de nuevo compuesto que está en relación directa con la cantidad de la enzima.

Diremos unas cuantas palabras sobre la propiedad que tienen las enzimas de producir espectros de banda de absorción, esta propiedad es susceptible también de ser aplicada a la determinación cuantitativa de las mismas, método desde luego mucho más complicado, caro y tardado que el colorimétrico, aunque desde el punto de vista matemático mucho mejor, que el colorimétrico. Exige para su realización equipos monocromatores (espectrofotómetros) de gran calidad y por lo mismo costosos. Exige además, tener enzimas puras, para hacer sus calibraciones, etc.

Referiremos de un modo muy superficial que debido a la naturaleza macromolecular de las enzimas estas pueden ser medidas por su traslación en un campo hetero-molecular con fuerza de arrastre gravitacional, o bien por fuerza de arrastre electroforético y por lo tanto ser medidas y caracterizadas en función de sus R. F.

Para resumir: por métodos cromatográficos, o por su espectro de arrastre eléctrico, electroforograma.

b) Descripción de las pruebas motivo del estudio.

I.—Transaminasas sérica glutámica pirúvica. T-S. G. P.

La transaminasa pirúvica nos sugiere con su nombre dos hechos:

1°) La propiedad de transferir (cambiar de una molécula a otra molécula) el grupo amino NH_2 .

2°) El que se produzca como resultado final, por dicha transferencia, ácido pirúvico. Está demostrado que los tejidos de animales y vegetales contienen dicha enzima. Estudios hechos por Wroblewskj demuestran que el tejido que contiene más transaminasa pirúvica es el hepático, siguiéndole en orden de riqueza el cardíaco, cerebral, renal, pulmonar, etc. Todo proceso que sea destructivo de la integridad anatómica o funcional de las membranas de las celdillas constituyentes de estos tejidos, traerá como consecuencia el libre escape, parcial o total del contenido celular, generando el aumento de las cantidades que normalmente contienen de dicha enzima los humores del organismo (linfa, líquido intracelular, plasma sanguíneo, etc.)

De lo expuesto en el inserto anterior, se comprende la aplicación de estas posibilidades, para ser usadas como método auxiliar de diagnóstico clínico. En otras palabras un proceso que destruya el tejido hepático, (hepatitis viral) o bien, un proceso que produzca destrucción necrótica del tejido cardíaco (infarto al miocardio), dará por resultado el aumento de la transaminasa pirúvica u oxalacética en el líquido extracelular (linfa), en el líquido intravascular (plasma sanguíneo), etc.; por lo tanto un estudio cuantitativo de estas enzimas en las circunstancias que se anotan, dará necesariamente cifras elevadas o muy elevadas de esta enzima, de acuerdo con la cantidad del tejido comprometido, dando por lo tanto dos referencias: (determinando las dos enzimas) la posible fuente de donde se produce el desprendimiento en cantidad elevada y en segundo, la magnitud de la lesión, en función de la dicha cantidad.

En lo que se refiere a la transaminasa oxalacética los estudios hechos por este mismo autor, demuestran que el tejido más rico en esta enzima lo es el tejido cardíaco, siguiendo el hepático, etc.

Esto hizo pensar en un principio que en el infarto del miocardio lo indicado sería la determinación de la transaminasa oxalacética (T-S. G. O.) y en las hepatitis lo sería la transaminasa pirúvica (T-S. G. P.) La práctica ha demostrado que el paso de esta enzima, de los tejidos de origen a la sangre no se efectúa de manera paralela, sino que en determinados casos predomina una de ellas en un momento dado.

El mecanismo íntimo del fenómeno no está del todo claro; parece que interviene mucho el tiempo transcurrido entre la lesión y el momento en que se hace la dosificación, y los fenómenos evolutivos que

contrario, si intervienen molecularmente en las reacciones, y es más durante el desarrollo de estas reacciones las enzimas se "gastan" o "agotan". Lo anterior viene a establecer que siempre hay una relación de masas (substrato y enzima) para que el sistema funcione de manera óptima, condicionado desde luego por el tiempo, la temperatura y los iones presentes. Por lo que antecede la actividad de una enzima es susceptible de ser medida, siempre que se mantengan constantes todos los factores, excepto la cantidad de enzima utilizada.

La velocidad de la reacción en un sistema enzimático en función del tiempo, estará representado de manera aproximada por una curva de función logarítmica, en otras palabras: poca velocidad de la reacción a baja concentración de la enzima, velocidad de valor óptimo con una concentración adecuada de la enzima.

El conocimiento de este comportamiento, permite su cuenteo, es decir, conocer la cantidad de una enzima por medio de la velocidad que impone a una reacción, esto naturalmente cuando todas las condiciones complementarias permanecen invariables.

Para los fines prácticos del laboratorio clínico es de gran utilidad, el anterior conocimiento, dado que permite conocer la cantidad de una enzima, en función del tiempo del nuevo cuerpo formado por su acción. El nuevo cuerpo formado por lo tanto, será susceptible a medidas químicas o físicas tales como: volumetría, fotometría, (colorimetría), potencimetría, etc. Por todo lo anterior se comprende claramente que en una relación de masas (substrato enzima) la acción de las enzimas, generará en la unidad de tiempo una cantidad de nuevo compuesto que está en relación directa con la cantidad de la enzima.

Diremos unas cuantas palabras sobre la propiedad que tienen las enzimas de producir espectros de banda de absorción, esta propiedad es susceptible también de ser aplicada a la determinación cuantitativa de las mismas, método desde luego mucho más complicado, caro y tardado que el colorimétrico, aunque desde el punto de vista matemático mucho mejor, que el colorimétrico. Exige para su realización equipos monocromadores (espectrofotómetros) de gran calidad y por lo mismo costosos. Exige además, tener enzimas puras, para hacer sus calibraciones, etc.

Referiremos de un modo muy superficial que debido a la naturaleza macromolecular de las enzimas estas pueden ser medidas por su traslación en un campo hetero-molecular con fuerza de arrastre gravitacional, o bien por fuerza de arrastre electroforético y por lo tanto ser medidas y caracterizadas en función de sus R. F.

Para resumir: por métodos cromatográficos, o por su espectro de arrastre eléctrico, electroforograma.

b) Descripción de las pruebas motivo del estudio.

I.—Transaminasas sérica glutámica pirúvica. T-S. G. P.

La transaminasa pirúvica nos sugiere con su nombre dos hechos:

1º) La propiedad de transferir (cambiar de una molécula a otra molécula) el grupo amino NH₂.

2º) El que se produzca como resultado final, por dicha transferencia, ácido pirúvico. Está demostrado que los tejidos de animales y vegetales contienen dicha enzima. Estudios hechos por Wroblewski demuestran que el tejido que contiene más transaminasa pirúvica es el hepático, siguiéndole en orden de riqueza el cardíaco, cerebral, renal, pulmonar, etc. Todo proceso que sea destructivo de la integridad anatómica o funcional de las membranas de las celdillas constituyentes de estos tejidos, traerá como consecuencia el libre escape, parcial o total del contenido celular, generando el aumento de las cantidades que normalmente contienen de dicha enzima los humores del organismo (linfa, líquido intracelular, plasma sanguíneo, etc.)

De lo expuesto en el inserto anterior, se comprende la aplicación de estas posibilidades, para ser usadas como método auxiliar de diagnóstico clínico. En otras palabras un proceso que destruya el tejido hepático, (hepatitis viral) o bien, un proceso que produzca destrucción necrótica del tejido cardíaco (infarto al miocardio), dará por resultado el aumento de la transaminasa pirúvica u oxalacética en el líquido extracelular (linfa), en el líquido intravascular (plasma sanguíneo), etc.; por lo tanto un estudio cuantitativo de estas enzimas en las circunstancias que se anotan, dará necesariamente cifras elevadas o muy elevadas de esta enzima, de acuerdo con la cantidad del tejido comprometido, dando por lo tanto dos referencias: (determinando las dos enzimas) la posible fuente de donde se produce el desprendimiento en cantidad elevada y en segundo, la magnitud de la lesión, en función de la dicha cantidad.

En lo que se refiere a la transaminasa oxalacética los estudios hechos por este mismo autor, demuestran que el tejido más rico en esta enzima lo es el tejido cardíaco, siguiendo el hepático, etc.

Esto hizo pensar en un principio que en el infarto del miocardio lo indicado sería la determinación de la transaminasa oxalacética (T-S. G. O.) y en las hepatitis lo sería la transaminasa pirúvica (T-S. G. P.) La práctica ha demostrado que el paso de esta enzima, de los tejidos de origen a la sangre no se efectúa de manera paralela, sino que en determinados casos predomina una de ellas en un momento dado.

El mecanismo íntimo del fenómeno no está del todo claro; parece que interviene mucho el tiempo transcurrido entre la lesión y el momento en que se hace la dosificación, y los fenómenos evolutivos que

han ocurrido en este lapso. No es raro encontrar en los casos de hepatitis viral, cifras muy elevadas de transaminasa oxalacética con cifras normales o poco elevadas de la pirúvica; o bien el fenómeno inverso. Esto ha inducido a los clínicos, a solicitar de manera preferente la determinación de ambas enzimas.

A dichas enzimas también se les conoce con el nombre de Transaminoferasas.

En cuanto al modus operandus, es exactamente el mismo que caracteriza a todas las transaminasas, es decir la facultad de transportar grupos aminos de moléculas que lo contienen a moléculas que no tienen. En este caso por la transaminación se forma ácido oxalacético.

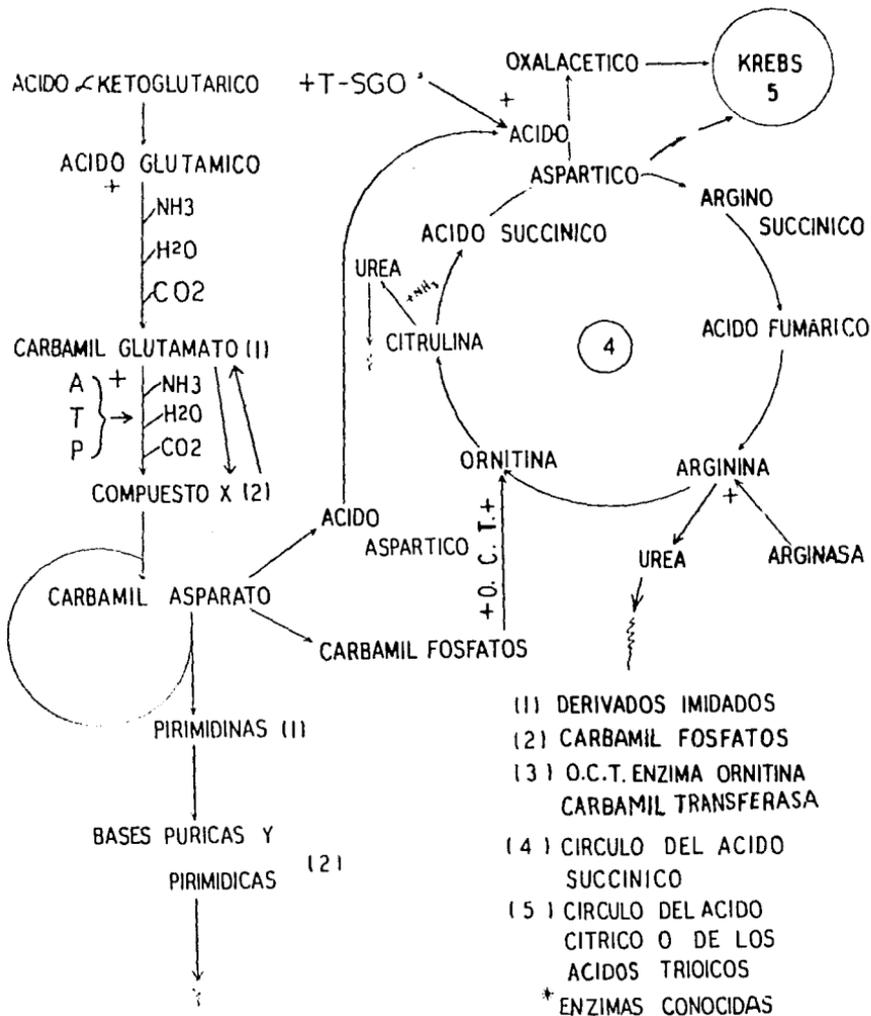
Bioquímica de las Transaminasas.

La bioquímica de las transaminasas está íntimamente ligada con el metabolismo del amoníaco, y decir amoníaco es referirnos a las proteínas y por el poder transformador del organismo, indirectamente de los hidratos de carbono y de las grasas, ya es sabido que el organismo es capaz de sintetizar a partir de hidratos de carbono grasas o proteínas, o lo inverso. Con esto damos idea de la extensión del origen metabólico del amoníaco, que es sólo, comparable con el metabolismo del bióxido de carbono, dando como resultado último por combinación con el citado bióxido de carbono, la urea, ácido úrico, creatinina, etc., o bien se elimina a nivel del tubo renal como sustitutivo del ión Sodio Na, o simplemente como amoníaco.

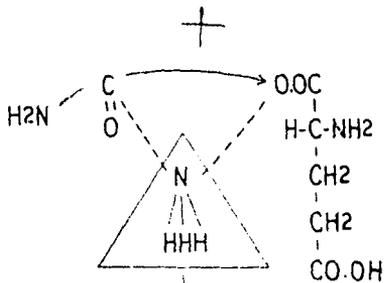
Para poder ilustrar de manera mas extensa la bioquímica de las transaminasas ponemos el siguiente desarrollo:

La síntesis de la urea está íntimamente ligada a los fenómenos de transaminación, al metabolismo del ácido succínico, o ciclo de la ornitina de los americanos y el ciclo del ácido cítrico (Krebs) o de los ácidos trióicos. Lo anterior lo vamos a ilustrar con los siguientes ecuaciones: Láminas I, II, III, IV, V, VI, VII.

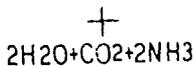
Ver las láminas:



LAMINA I

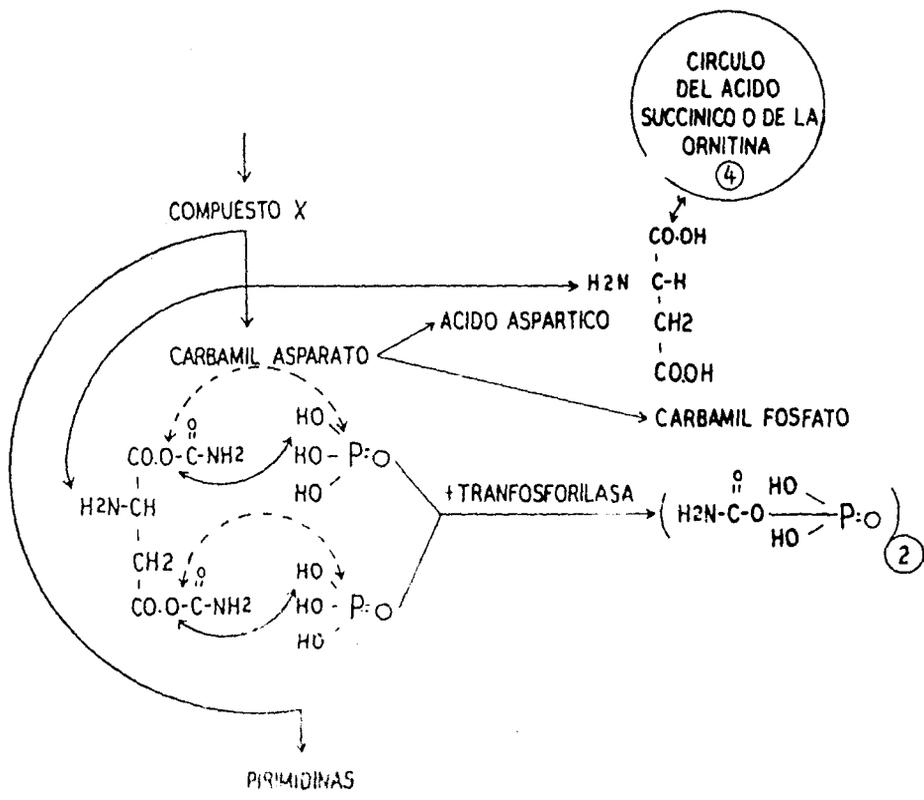


ACIDO CARBAMIL GLUTAMICO

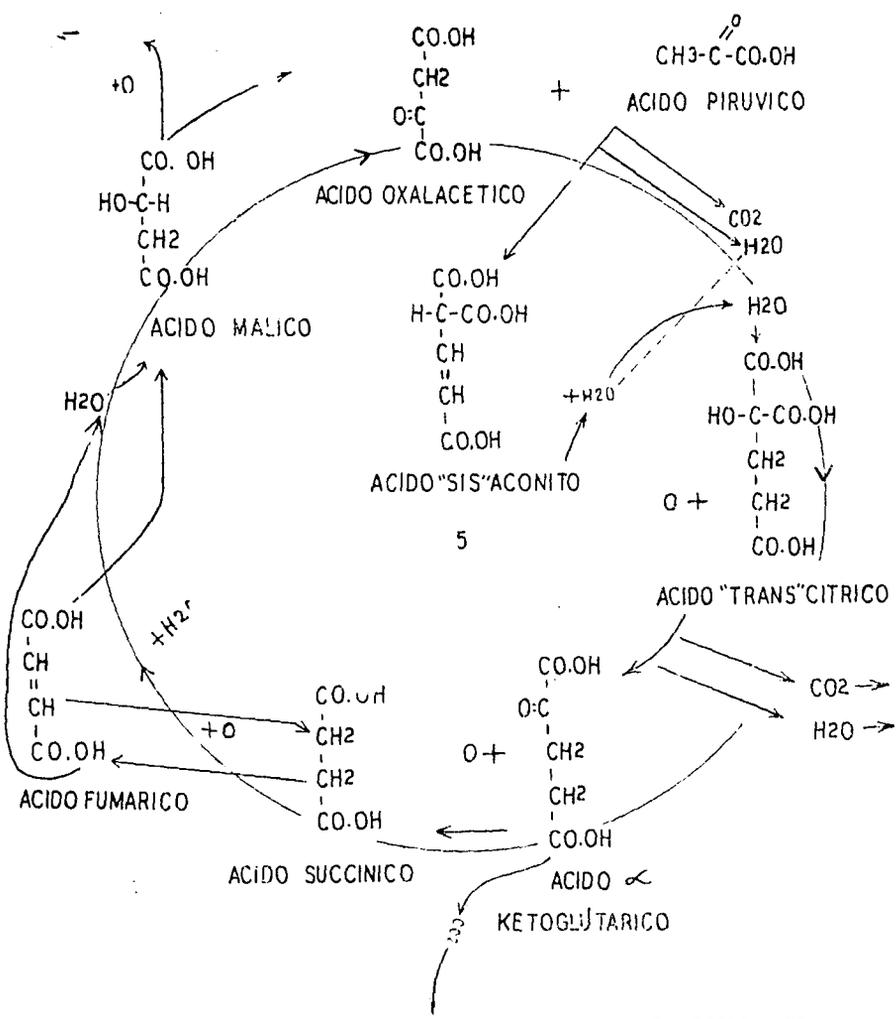


ACIDO DICARBAMIL GLUTAMICO

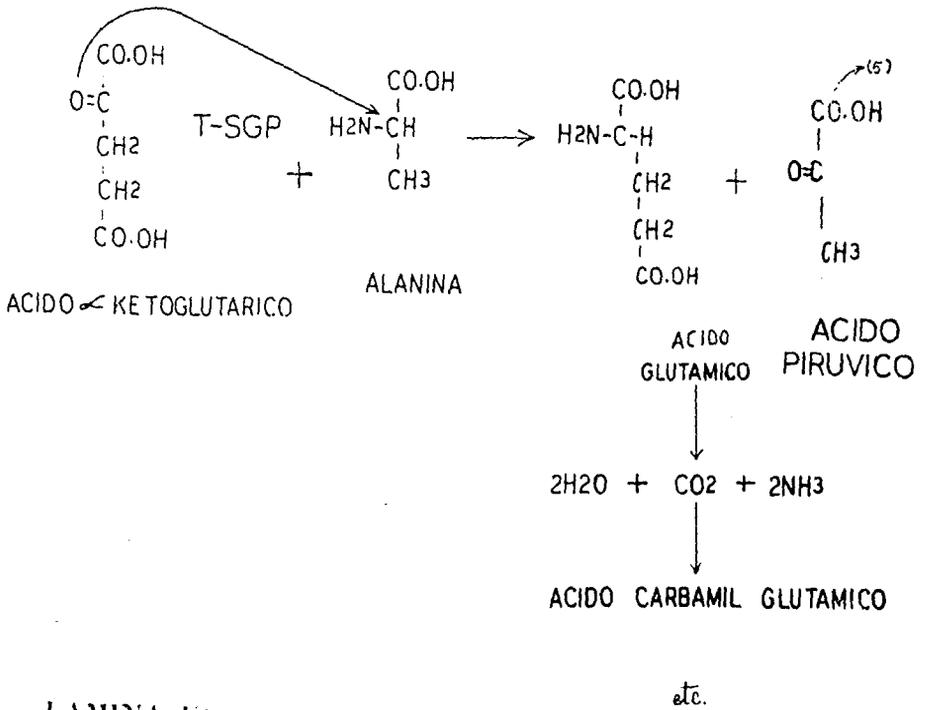
LAMINA III



LAMINA III B



LAMINA V



LAMINA VI

El ácido alfa keto glutárico es uno de los resultantes del metabolismo de proteínas e hidratos de carbono; que en presencia de ácido aspártico, también resultante de los anteriores compuestos y acoplados a la acción de una enzima; que es la transaminasa sérica glutámica oxalacética (T-S.G.O.) va a dar origen a una reacción de transferencia del radical amino en la posición alfa del ácido aspártico y del oxígeno cetónico en posición alfa del ácido keto glutárico, de tal manera que el ácido aspártico se transforma en un ácido con función cetona en alfa; originándose de tal manera ácido oxalacético.

Por otro lado tenemos que el citado ketoglutarico, adquirirá una función amino en posición alfa; dicha función sustituye al oxígeno cetónico; y de esta manera da nacimiento al ácido amino alfa, comúnmente llamado ácido glutámico.

Haciendo un paréntesis tenemos que esta función de transaminación, uno de los motivos de la presente tesis, se usa de manera muy extensa, para lo que en el laboratorio clínico se conoce bajo el nombre de dosificación de la transaminasa sérica glutámica oxalacética. Es de gran utilidad para el diagnóstico diferencial de los síndromes ictericos.

Teniendo conocimiento de la importancia de los fenómenos de transaminación nos queda preparado el camino para seguir explicando los siguientes eslabones del catabolismo del amoniaco. El ácido glutámico es una molécula apropiada para poder recibir dos moléculas de amoniaco, dos moléculas de agua y una molécula de bióxido de carbono. La interacción molecular planteada da origen al ácido carbamil glutámico. (ver láminas II y III).

El ácido dicarbamil glutámico reacciona con la Adenosina Trifosfato (A.T.P.) para dar el llamado compuesto X. Este compuesto ya contiene fósforo oxidado, el cual es aportado por el A.T.P. tiene esto gran importancia porque nos va a explicar interesantes reacciones de fosforilación. La molécula del compuesto X es muy inestable y se descompone, formando por una parte, (por sí solo o por acción de una enzima), carbamil asparato y pirimidinas, las cuales siguen su catabolismo dando bases púricas y pirimidínicas que se excretan principalmente como ácido úrico. En lo que respecta al carbamil asparato formado se descompone a su vez por la acción de una fosforilasa, en carbamil fosfatos y en ácido aspártico (Ver lámina I). Dicho ácido entra en parte al círculo del ácido succínico (círculo 4), también llamado de la ornitina en donde de acuerdo con la referida lámina y bajo la acción de dos enzimas, tiene oportunidad de formarse en dos ocasiones Urea. No entraremos en más detalles, ya que están explicados en la lámina IV.

Otra porción del ácido aspártico sirve para la función de la transaminasa sero glutámica oxalacética bajo la cual se transforma en

ácido oxalacético, este va a ser metabolizado en el círculo 5 de los ácidos tricarboxílicos (círculo Krebs), ver lámina V).

Los carbamilo fosfatos formados a partir del carbamilo asparato, bajo la acción de la enzima ornitina carbamilo transferasa, reaccionan con la ornitina para darnos citrulina y ácido fosfórico, lámina IV. Ahora bien, citrulina $\xrightarrow{\text{citrulinasa}}$ amoníaco + una molécula de urea que se desprende como catabolito + ornitina que queda lista para integrar un nuevo ciclo productor de urea. En resumen, por lo anterior nos damos cuenta de la importancia que tiene la transaminasa oxalacética en relación con el metabolismo del amoníaco y su catabolito más importante la urea.

En lo que se refiere a la transaminasa pirúvica, ésta queda relacionada con la anterior, es decir la oxalacética por los siguientes hechos:

Ácido alfa keto glutárico + transaminasa sérica glutámica pirúvica + alanina (lámina VI) \rightarrow ácido glutámico + ácido pirúvico el ácido glutámico va a seguir toda la secuencia del ácido glutámico que queda descrito en las láminas I, II, III, etc. En lo que respecta al ácido pirúvico formada, éste + ácido oxalacético va a dar origen a todas las reacciones comprendidas en el círculo de Krebs (ver lámina V).

CAPITULO II

TECNICAS

Técnicas

Para el desarrollo de éste trabajo se siguió la técnica de Wroblewsky.

Esta técnica implica la transaminación del ácido aspártico hacia el alfa ketoglutarico. El oxalacético formado se convierte en pirúvico por medio del citrato de anilina; el pirúvico reacciona con la nitrofenilhidracina para dar el piruvato de fenilhidrazona y este es extraído por el tolueno. La solución de tolueno cuando se trata con una solución de fuerte alcalinidad da como resultado un compuesto colorido. La intensidad de color es proporcional a la cantidad del piruvato formado: dicha cantidad de piruvato formado está en proporción con la actividad de la transaminasa oxalacética (T-S. G.O.) En tanto la actividad de la transaminasa pirúvica (T+ - SGP) nos la dice la formación directa del pirúvico formado por la alanina y el ácido alfa ketoglutarico, usados como sustratos.

A cada uno de los tubos T y P (T= testigo). (P= problema) se añade 0.5 c.c. de suero y 0.5 c.c. de agua destilada, en seguida se añade a ambos 0.5 c.c. de un reactivo que es sustrato. En el tubo Testigo agregar una gota de ácido tridoroacético al 100%. Al cabo de veinte minutos a la temperatura ambiente añadir el ácido tricloroacético al tubo Problema. Agitar ambos tubos y dejar reposar veinte minutos. Al terminar este tiempo agregarle 1 c.c. del reactivo de la 2-4 dinitrofenilhidracina; agitar 25 segundos los tubos y dejar estandarizar 5 minutos. Agregar 3 c.c. de tolueno y agitar vigorosamente 25 segundos. Centrifugar los tubos 10 minutos, extraer entonces 2 c.c. del tolueno que esta en la parte superior, pasar este extracto mediante pipeta con bulbo, a tubos de 19 X 150 que contienen 3 c.c. de potasa alcohólica al 2.5%; mezclar por golpeteo y leer en colorímetro Klett.

El procedimiento anterior fue utilizado para la transaminasa pirúvica (T-S.G.P.), en el caso de la transaminasa oxalacética (T-S. GO) se sigue el mismo proceso, solo que al añadir la gota de ácido tricloroacético se agrega además una gota de citrato de anilina; usándose el correspondiente sustrato oxalacético.

Para efectuar la lectura en el colorímetro se coloca filtro No. 54 verde, se lleva a "cero" el aparato con agua destilada. Leer el Blanco contra el agua destilada; luego llevar a "cero" con el Blanco y leer los tubos Standard, Testigo y Problema.

Siempre, en cada serie de determinaciones debe correrse un tubo Standard de concentración conocida, en este caso de la solución de sal sódica del ácido pirúvico, se hizo de tal manera que 1 c.c. equivaliera a 500 gammas c.c., por consiguiente, 0,5 c.c. será igual a 250 gammas /c.c. añadiendo 0,5 c.c. de agua destilada para tener igualdad de volúmenes.

La razón de hacer la lectura del Blanco, contra agua destilada es la siguiente: conocer el grado de envejecimiento de los substractos, o bien si éstos han sufrido alteraciones tales, que los hagan inútiles para hacer la determinación de las transaminasas.

Valores del Blanco mayores a una lectura de colorímetro Klett superiores a 100, indican la conveniencia, de hacer nuevos substractos.

Prueba de Turbiedad Floculación de Shellek y Frade para Acetato de Cobre.

Esta prueba está fundada en el hecho de que los sueros de pacientes con ciertas enfermedades hepáticas cuando los adicionados a una solución apropiada de "acetato de cobre" producen varios grados de turbidez y floculación, mientras que los sueros de individuos normales producen poca o ninguna turbidez.

La positividad de la prueba del "acetato de cobre" parece depender de una alteración cualitativa, de las globulinas, especialmente de la fracción gamma; siendo tal hecho acentuado por una modificación cuantitativa de las proteínas del plasma. Los lípidos no toman parte en la reacción.

La prueba del "acetato de cobre" se encuentra sólo positiva en paciente con evidencia clínica de portar enfermedades hepáticas o que son sospechosos de tenerlas. Es evidente, además que un daño hepático constituye parte esencial de la patología de otras enfermedades y pueden en consecuencia observarse reacciones positivas habitualmente débiles en casos de mononucleosis infecciosa, anemia, de sicklecell, insuficiencia cardíaca, etc. En individuos normales sus resultados son negativos.

Las pruebas del "acetato de cobre" tienen muchas ventajas sobre las otras pruebas de función hepática en uso corriente:

- 1) Alta estabilidad y conservación indefinida de los reactivos.
- 2) Sensibilidad y corto lapso de tiempo para su realización.
- 3) Bajo costo.

- 4) Es una prueba en la cual la condición hepática es estudiada buscando su reflejo directamente en el suero sanguíneo y no después de la inyección intravenosa o ingestión de sustancias diversas.

Reactivos:

1) Solución Stock de acetato de cobre: Se prepara disolviendo 200 mg. de acetato de cobre Q.P. (Merck) en 500 ml. de agua bidestilada libre de sales.

2) La solución reactivo de acetato de cobre se prepara tomando 2.5 c.c. de la Stock y completar a 100 ml. con agua bidestilada. Las soluciones son estables y translúcidas.

Procedimiento: Consiste en colocar en un tubo de ensayo rigurosamente limpio 6 ml. de la solución reactivo. Se añade 0.1 ml. de suero fresco del paciente. Se agita ligeramente y se observa el resultado a los 20 minutos. Si la reacción es negativa el líquido permanece limpio o muestra una opalescencia (libre de floculos) que no se sobrepasa la cifra de 4 U.

Para medir las unidades de turbiedad, se usa la misma escala y filtros en el fotocolorímetro, como si tratáramos de leer en dicho aparato la turbiedad del timol (técnica de MacLagan; calibración según Schack y Hoagland).

Valores por arriba de 4 u U son patológicos.

La unidad de turbidez del acetato de cobre es arbitraria como es la prueba del timol.

Cuando la reacción se deja en reposo, a la temperatura ambiente unas 18 horas, en los casos positivos fuertes se observa una completa precipitación siendo el líquido que sobrenada claro.

Graduaciones intermeditarias de floculación son dadas como + +, + + +, y + + + +.

Significación de la prueba del acetato de cobre:

- 1) La prueba de turbidez y floculación del acetato de cobre para el diagnóstico de las hepatopatías es un método útil y sensible de investigación. Esta no requiere tiempo ni esfuerzo.
- 2) El grado de positividad de la prueba guarda relación con el del tono hepático modificándose la intensidad de la misma con la misma mejoría clínica del paciente, en aquellos procesos en los cuales esto es posible.
- 3) En personas saludables la prueba da resultados negativos.
- 4) Algunas enfermedades en las cuales el hígado participa, tales como mononucleosis infecciosa, sickle cell, anemia, insuficiencia cardíaca, etc., pueden dar resultados positivos débiles, 5 a 6 U.

- 5) La prueba del acetato de cobre es muy útil para el diagnóstico diferencial entre obstrucción intrahepática (cirrosis, hepatitis, etc.) e íctero extrahepático (cálculos, etc.) Ella ayuda a resolver este y otros complejos de diagnóstico clínico.
- 6) La prueba del acetato de cobre es negativa en los casos de lesiones circunscritas, hepáticas, e íctero hemolíticas congénitas.
- 7) En los casos de agenesia de las vías biliares la reacción del acetato de cobre es positiva (75%).
- 8) En las hepatitis tóxicas causadas por agentes químicos tales como el tetracloruro de carbono, al igual que la de Hanger y Timol, la prueba de acetato de cobre es negativa. Ello se debe a la naturaleza misma de las lesiones hepáticas.
- 9) Para el diagnóstico diferencial rápido de los procesos hemorrágicos altos del tubo digestivo la prueba del acetato de cobre es muy valiosa.

CEFALINA COLESTEROL. Prueba de Hanger.

Reactivos:

Extracto seco etéreo seco de la Difco

En frascos unidad para disolver en 5 c.c. de éter etílico

Eter etílico Q.P.

Agua Destilada.

Técnica

Poner en un vaso de precipitados de 50 c.c., 37.5 c.c. de agua llevarla a ebullición, retirarla de la fuente de calentamiento y agregar gota a gota agitando 1 c.c. de la solución etérea de antígeno de cefalín colesterol. Con ebullición lenta dejarlo 2 minutos y luego enfriar a temperatura ambiente. Se prepara al irse a verificar la reacción.

Para una serie de problemas se pone un Blanco de reactivos, 4.2 c.c. de solución de cloruro de sodio al 0.85% más 1 c.c. del antígeno preparado. Para los problemas 4 c.c. de la solución salina antes indicada y 0.2 c.c. del suero problema y agregar 1 c.c. del antígeno presente en un lugar fresco y semiobsuro. Se hacen las lecturas a las 24 horas. Se puede hacer una segunda lectura a las 48 horas. En el presente trabajo se hizo lectura única de 24 horas.

Interpretación:

Negativa y positiva de una a cuatro cruces.

Como normal se estimó, de negativa a una cruz.

TURBIDEZ DEL TIMOL MacLagan.

Solución "A"

Pesar 1.38 g. de ácido dietil barbitúrico (veronal) disolverlo en una solución caliente de sodio dietil barbiturato (Veronal Sódico) 1.03 g. en 500 c.c. de agua destilada.

Solución "B"

Pesar 10 g. de timol calidad U.S.P. en 100 c.c. de etanol de 96°.

Preparación del Buffer:

Poner en una probeta de 100 c.c. provista de tapón de cristal 50 c.c. de la solución "A". Agregar 0.25 c.c. de la solución "B", tapar la probeta y agitar enérgicamente durante dos minutos.

Envasar en frascos oscuros y conservar a temperatura ambiente.

Técnica.

Para cada suero problema, se usan 2 tubos de 13 X 100 m.m. uno marcado con T que es el Testigo y que sirve para anular el error producido por color del suero (sueros ictericos). A este tubo se le agregan 6 c.c. de solución salina de Cloruro de Sodio al 8.0% a 0.1 c.c. del suero problema. En el segundo tubo marcado con P se le cargan 6 c.c. de Buffer de Timol, preparado según las indicaciones anteriores y se agrega 0.1 del suero problema. Mezclar usando tapones de polietileno limpios; se mezcla el contenido de los tubos, evitando agitación enérgica.

Leer los problemas a los 30 minutos usando el contenido del tubo Testigo para poner el colorimétrico a 100% de transmisión.

Los valores de la lectura colorimétrica (nefelométrica) se traducen a unidades de turbiedad en la tabla que para el caso tienen las diversas marcas de colorímetros que hay en el mercado, o en caso contrario se calibra con soluciones de Bario según la técnica a que hacemos mención cuando hablamos de la turbiedad del acetato de cobre.

Para apreciar la floculación del Timol, los Tubos Problemas se guardan al abrigo de la luz directa y en un lugar fresco 48 horas, al cabo de los cuales se aprecia el precipitado el cual por su cantidad y consistencia, se mide de 1 a 4 cruces.

La ausencia del precipitado o simples pequeños y ligeros flóculos indican negatividad de la floculación.

Se considera patológico valores mayores de 4 unidades y floculación de más de una cruz.

CAPITULO III

MATERIAL

Esta disposición de los tubos en la gradilla además de facilitar el trabajo diario, por dejarse para su secado la gradilla en la estufa ya con los tubos dispuestos, permite que al agregar los reactivos coagulante y descarboxilante (ácido tricloroacético y citrato de anilina), siempre queda libre para su incubación de veinte minutos la fila delantera de tubos, en los cuales la enzima va a ejercer su acción durante veinte minutos. Esto evita errores de ir a poner los citados reactivos a los tubos en que se va a dejar actuar la enzima. Además, permite que aunque sean diversas las personas ejecutantes; siempre se tenga el mismo modus operandus de reactivos y materiales para el trabajo.

C) Para tapar los tubos, durante la fase de extracción con tolueno usamos tapones o láminas de "polietileno". Para las mezclas de reactivos usamos exclusivamente la agitación por golpeteo; para el Blanco Standard y Testigo; para los problemas hacemos una agitación muy ligera para evitar aereación del suero, y posible daño que puedan entorpecer la acción enzimática.

D) Usamos una varilla de alambre de cobre de No. 12 para separar el material coagulado de las paredes del tubo después de la extracción con tolueno, y antes de ser centrifugado en los tubos Testigos y Problemas.

E) Para la fase de desarrollo de color usamos gradillas de alambre tipo Kolmer para cuarenta tubos, con la misma distribución que la usada para los tiempos anteriores; utilizando tubos sin labios de 20 X 150 m.m. marcados con lápiz de diamante en la misma forma usada para marcar los tubos de 13 X 100 y se disponen en la gradilla de la misma forma y manera representada por el esquema.

La ventaja de usar tubo de diámetro amplio y de suficiente longitud, evita la necesidad de usar tapones para hacer una buena mezcla de las pequeñas cantidades de reactivos (3 c.c. de alcohol alcalino más 2 c.c. de extracto toluénico) los cuales se pueden agitar vigorosamente por golpeteo digital de las paredes del tubo. El hecho de no usar tapones significa ahorro de tiempo, y el tener que conseguir tapones adecuados de polietileno.

Nota: Insistimos que sólo deberá usarse polietileno o tapón de cristal, lo cual es muy caro, para los tubos de 13 X 100 durante la fase de extracción toluénica. El hule o el corcho interfieren en la reacción colorida por tener materiales solubles en el tolueno, en el ácido tricloroacético, citrato de anilina, etc.

F) Se usó centrifuga International de cuatro plazas.

G) Agitador tipo Kahn para hacer la solución al 2.5% de hidróxido de potasio. Dicha solución se hace precisamente antes de usarse.

H) Pipetas y demás cristalería, línea azul Klember.

I) Balanza de precisión Sartorius.

J) Colorímetro Klett, con cubeta para 5 y 10 c.c. de capacidad, equipado con filtro No. 54 (verde).

K) En las primeras cien determinaciones se usó espectrofotómetro Coleman No. 6 A con cubeta de 12 m.m. y con longitud de onda de 540 milimicras, y se encontró que las lecturas en densidad óptica, y en general la mayor estabilidad del aparato Klett hacía más fáciles las lecturas contra el Blanco, de los tubos Standard, Testigo y Problema, para cada serie de transaminasas; así mismo, la facilidad de hacer cálculos mediante factor, evitó el trazado de la curva para cada serie de problemas. En este trabajo todos los resultados de cada serie fueron obtenidos mediante el uso del Blanco y el Standard correspondiente. Se evitó en todos los casos hacer lectura, contra curva elaborada de antemano, en razón de que para un mismo operador y para un mismo lote de reactivos notábamos ligeras variaciones del valor de la lectura Standard, este error se redujo a su mínima expresión mediante el uso para cada serie de problemas; de Blanco de reactivos y de solución de valor conocido de ácido pirúvico. Respecto a esto último, aún haciéndolo del frasco original, debido a su autodescomposición, hacía que los valores de la solución Standard de trabajo fuesen disminuyendo con el tiempo.

Se decidió usar la sal sódica del ácido, para hacer las soluciones Standard de trabajo. Se encontró definitivamente ventajoso el uso de la sal sódica del ácido pirúvico, por lo cual, actualmente siempre la usamos para preparar la solución Stock; que se guarda en frasco obscuro y en el refrigerador. De esta solución preparamos la solución Standard o de trabajo.

C A P I T U L O I V

REACTIVOS

Reactivos

Substrato para la transaminasa sérica glutámica oxalacética (T.S.G.O.):

DL ácido aspártico	1.33 g.
K ₂ HPO ₄	1.00 g.
Alfa Ketoglutárico	0.3 g.
Agua	50 c.c.

Debe ajustarse a pH 7.4 (potenciométricamente) con solución de potasa N (KOH N), usando aproximadamente 19 c.c. Mantenerla de 5 a 10°C en el refrigerador. Es buena para una semana.

Substrato de transaminasa pirúvica (T.S.G.P.):

DL Alanina	0.89 g.
K ₂ HPO ₄	1.00 g.
Alfa Ketoglutárico	0.3 g.
Agua	50 c.c.

Para tener pH 7.4 (potenciométricamente) usamos aproximadamente 3.6 c.c. de KOH N. Mantenerla de 5 a 10°C. en el refrigerador. Es buena para una semana.

La 2.4 dinitro fenilhidracina se prepara:

2.4 dinitro fenilhidracina	100 mg.
Acido clorhídrico concentrado	20 c.c.
Agua destilada	80 c.c.

Se mezclan los reactivos y debe disolverse perfectamente la fenilhidracina.

Citrato de Anilina.

Acido cítrico	5 g.
Anilina	5 c.c.
Agua destilada	6 c.c.

Envasar en frasco gotero de color obscuro, mantenerla en la estufa a 37°C. Se recomienda primero disolver el ácido cítrico en los 6 c.c. de agua; luego agregar la anilina.

La solución de potasa alcohólica es al 2.5%. Pesar 2.5 g. de lentejas de potasa Q.P. y disolver por agitación en 100 c.c. de alcohol purificado. Se evitará usar potasa que esté carbonatada; ésto interfiere la reacción colorida. Se prepara antes de usarse.

Solución de ácido Tricloroacético al 100%: 50 gramos de ácido tricloroacético Q.P., disolverlos en 50 c.c. de agua destilada. Envasar en frasco obscuro. Conservar a la temperatura ambiente.

Solución Stock de Sodio Piruvato:

Sodio piruvato 625 mgrs.

Agua destilada c.b.p. 100 c.c.

1 c.c. 500 gamas de ácido pirúvico.

Solución Standard de sodio piruvato: Medir exactamente 1 c.c. de solución Stock. Agregar exactamente 9 c.c. de agua destilada. Mezclar. Tomar 0.5 c.c. para usarla con tubo Standard en cada serie de determinaciones de transaminasas.

1 c.c. = 500 gamas de ácido pirúvico.

C A P I T U L O V

GRAFICAS Y DATOS

Gráficas y Datos

En un principio teníamos la idea, de poder leer los problemas contra una curva precalibrada. El desarrollo de este trabajo nos demostró que los valores de las lecturas de las soluciones Standard, y por ende de las soluciones problemas, tiene ligeras variaciones, condicionadas por la temperatura ambiente, la persona que efectúa las determinaciones enzimáticas, y por la antigüedad de las soluciones substratos que en nuestro caso no les damos una utilidad mayor de ocho días. Por lo que se ve que en una curva trazada en papel semilogarítmico sería de utilidad, únicamente para el lote de problemas analizados simultáneamente con las soluciones Standards utilizadas para la elaboración de la pre-citada curva o línea de calibración.

Siempre significa un trabajo adicional y un gasto, el tener que elaborar para cada lote de problemas una curva o cartilla calibrada; por lo tanto decidimos usar para hacer las lecturas un fotocolorímetro de lectura directa (densidad óptica o índice de extinción como lo es el fotocolorímetro Klett Sommerson equipado con filtro verde No. 54 y con cubetas de 5 a 10 c.c. de capacidad).

Está establecido que la concentración conocida del Standard entre la lectura de él, expresada en densidad óptica, produce el cociente llamado factor. Este factor por lo tanto es deliberadamente mucho más fácil de obtener, que la elaboración de una curva de calibración. Obtenido pues, el factor aludido, sólo tendremos que multiplicar las lecturas de los problemas en densidad óptica, por el tantas veces repetido factor para obtener la concentración en gammas c.c. de los sueros problemas.

Ficha	Sexo	Diagnóstico	Transaminasas Séricas		Acetato de Cobre		Timol		Cefalina
			Oxa	Piruv.	U.	Floc.	U.	Floc.	Colesterol
G.R.R.	F	Hepatitis crónica	110	80	5.2	+++	1.46	+++	+++
A.G.H.	F	Ictericia obstructiva	60	36	4.38	+++	0.68	+	Neg.
N.V.V.	M	Ictericia obstructiva. Precoma hepático	150	32	4.0	Neg.	0.24	Neg.	++
J.F.M.	F	Hígado normal	50	48	0.40	Neg.	0.86	Neg.	Neg.
L.C.L.	M	Hepatitis a virus	381.7	33	1.92	++++	0.56	+++	+++
G.O.G.	F	Hígado normal	17	19	0.24	Neg.	0.86	Neg.	Neg.
F.V.E.	M	Cirrosis Laenec	473	115.5	12.3	+++	4.56	++++	++++
J.B.A.	M	Hígado normal	50	38	1.0	Neg.	0.56	Neg.	Neg.
V.T.M.	M	Hepatitis viral. Etapa cirrosis post necrótica	40	18	0.40	Neg.	0.68	++	++
H.V.B.	F	Hígado congestivo. Cirrosis cardíaca	24	42	1.46	Neg.	1.0	+	++
D.C.A.	M	Probable precoma hepático	144	118	0.86	Neg.	0.86	Neg.	++++
J.G.A.	F	Cirrosis alcohol nutricional	81.6	37	8.28	Neg.	4.0	++	++++
O.E.N.	F	Ictericia obstructiva. Coledocolitiasis	268	658	1.12	Neg.	0.86	Neg.	Neg.
G.H.G.	M	Hígado normal	74	44	1.30	Neg.	0.68	Neg.	++
F.B.J.	M	Cirrosis hepática. Varices esofágicas sangrantes	74	110	3.64	+++	0.58	Neg.	+++
D.C.A.	M	Insuficiencia cardíaca terminal. Poblable coma hepático	144	66	0.68	Neg.	1.0	Neg.	+++
C.H.S.	F	Hepatitis aguda	178	20	6.28	++++	3.10	++	++++
E.R.R.	F	Cirrosis hepática. Varices esofágicas sangrantes	96	20	4.38	++++	0.40	Neg.	+++
D.C.A.	M	Precoma hepático. Insuficiencia cardíaca	116	40	6.68	++++	1.0	Neg.	++++

Ficha	Sexo	Diagnóstico	Transaminasas Séricas		Acetato de Cobre		Timol		Cefalina
			Oxa	Piruv.	U.	Floc.	U.	Floc.	Colesterol
F.B.J.	M	Varices esofágicas. Cirrosis hepática	152	20	6.26	++++	0.24	Neg.	Neg.
A.B.	F	Hígado normal	24	60	6.68	+++	0.86	Neg.	Neg.
F.C.G.	F	Cirrosis. Várices esofágicas sangrantes	60	56	10.3	++++	0.68	Neg.	+++
M.S.R.	F	Várices esofágicas	156	20	16.0	++++	1.0	+	++++
F.B.J.	M	Cirrosis hepática. Várices esofágicas	16	56	11.6	++++	0.24	Neg.	+++
E.G.Z.	M	Hepatitis aguda. 2a. semana evolución	624.8	2220	1.0	++++	3.64	Neg.	Neg.
D.T.O.	M	Várices esofágicas. Precoma hepático	188	26	4.2	++	0.68	Neg.	+++
F.B.J.	M	Várices esofágicas sangrantes	28	10	2.28	+	0.68	Neg.	+++
D.T.O.	M	Várices esofágicas. Precoma hepático	90	12	4.76	++	1.0	Neg.	++
C.P.	M	Colitis crónica	14.9	24.7	0.40	Neg.	0.56	Neg.	+++
B.J.F.	M	Várices esofágicas sangrantes	29.9	30.9	0.40	Neg.	0.56	Neg.	++++
M.S.M.	F	Hígado normal	13.	7.7	2.10	Neg.	3.8	+	++
J.V.G.	M	Post Hepatitis	56.4	48.1	1.0	Neg.	1.6	Neg.	Neg.
P.P.C.	F	Hígado normal	34.7	37	1.12	Neg.	1.12	Neg.	++
C.C.T.	M	Hepatitis a virus	123.2	1030.2	8.0	+++	6.92	Neg.	++++
F.B.J.	M	Várices esofágicas sangrantes	28.9	23.2	0.86	Neg.	1.0	Neg.	Neg.
M.R.C.	M	Várices esofágicas. sangrantes	52.8	34.3	0.16	+++	1.3	+	+++
J.T.O.	M	Precoma hepático. Várices esofágicas	34.3	45.9	3.64	++	1.0	Neg.	++
F.B.J.	M	Várices esofágicas sangrantes	46.6	127.4	5.0	+++	0.86	+++	+

Ficha	Sexo	Diagnóstico	Transaminasas Séricas		Acetato de Cobre		Timol		Cefalina
			Oxa	Piruv.	U.	Floc.	U.	Floc.	Colesterol
C.J.P.	M	Precoma hepático	81.6	157.3	1.3	++	3.28	++	++
F.B.J.	M	Várices esofágicas sangrantes	48	94.5	5.4	++	0.56	Neg.	++
G.S.R.	F	No hepática	46.7	27.5	2.5	+	0.56	Neg.	+
J.M.H.C.	M	Cirrosis hepática	4.8	34.9	10.0	+++	2.56	+	+
N.G.S.	M	Cirrosis hepática	37.2	18.3	10.3	+++	2.28	+	++
M.G.	F	Precoma hepático	49.1	21.6	2.26	Neg.	0.82	Neg.	+
R.V.P.	M	Coma hepático	81.0	28.6	6.26	+++	1.12	+	+++
J.V.G.	M	Hepatitis a suero hemólogo	73.1	24.5	0.13	Neg.	0.25	+	+++
C.M.S.	M	Cirrosis hepática. Aliento hepático	106.7	24.3	3.08	+++	1.8	+++	++++
M.G.	F	Precoma hepático	26.1	24.5	0.25	Neg.	0.32	+	++
R.V.P.	M	Probable coma hepático	195.3	24.5	1.85	+++	0.48	+	++++
E.G.Z.	M	Hepatitis por virus	284.4	837.2	1.30	++	1.46	Neg.	++
R.V.P.	M	Probable coma hepático	40.1	56.6	5.0	+++	1.0	+	++++
J.Z.J.	M	Probable coma hepático	120.4	63.3	4.76	+++	1.3	+	++++
J.M.L.	F	Ictericia obstructiva	44	66.5	1.3	Neg.	0.68	Neg.	Neg.
A.C.L.	M	Hepatitis infecciosa	701.8	1259.9	2.3	++	2.0	+	+++
M.A.R.	M	ictericia. 1a. semana de evolución	598.5	830.5	2.56	+++	4.2	+++	+++
L.P.R.	M	Encefalopatía crónica por insuficiencia hepática	119.7	165.5	1.92	+++	4.46	+++	++++
M.R.P.	M	Hepatitis aguda	262.	555	3.64	+++	4.2	+++	++++
C.L.T.	F	Hígado normal	58.3	27.1	0.86	Neg.	1.12	Neg.	+
H.A.V.	F	Hepatitis aguda	956	287	4.6	+++	2.56	+++	++++
E.C.M.	F	Hígado normal	40.8	19	1.12	Neg.	1.12	Neg.	+
A.Y.L.	M	Hepatitis infecciosa	137.4	127.6	4.76	+++	No alcanzó		Neg.
M.R.C.	M	Precoma hepático	50.7	52.5	8.35	+++	3.46	+++	+++

Ficha	Sexo	Diagnóstico	Transaminasas Séricas		Acetato de Cobre		Timol		Cefalina
			Oxa	Piruv.	U.	Floc.	U.	Floc.	Colesterol
L.P.R.	M	Precoma hepático	68.4	32.5	5.6	+++	2.42	++	+++
F.M.L.	M	Carcinoma metastásico del hígado	101.7	51.4	8.62	+++	2.28	++	+++
L.P.R.	M	Coma hepático	161	106.8	0.86	Neg.	1.39	+	+++
H.T.J.	M	Precoma hepático	563	284.8	3.46	++	1.74	+	+++
E.P.K.	F	Hígado normal	24	2.0	1.0	Neg.	0.56	Neg.	Neg.
C.O.J.M.	M	Hepatitis por virus	115.6	258.7	0.24	Neg.	2.94	Neg.	No alcanzó
C.G.C.	F	Hígado normal	37	56.5	3.64	+++	1.64	+	+++
M.H.J.	F	Precoma hepático. Cirrosis hepático alcohol alimenticia. Ascitis	23.12	33.9	6.48	+++	1.74	+	++++
M.R.C.	M	Precoma hepático	64.7	11.3	1.6	Neg.	1.6	+	+
C.P.G.	M	Hepatitis a virus en fase recuperada	93.6	32.2	2.28	Neg.	1.12	+	Neg.
H.H.J.	M	Coma hepático alcohol nutricional	57.2	40.2	11.1	++++	1.74	+	++++
P.C.P.	M	Hepatitis a virus	60.3	225.5					
P.S.B.	M	Hepatitis infecciosa	166.8	83.	1.46	Neg.	3.10	Neg.	++
M.V.S.	F	Hepatitis a virus	374.9	860.6	3.10	+++	6.0	++	+++
I.B.	M	Hepatitis por suero hemólogo	251.8	439.4	10.3	+++	10.7	++	++++
G.T.R.	M	Hepatitis infeccioso	461.3	407		++++		Neg.	++++

Ficha	Sexo	Diagnóstico	Transaminasas Séricas		Acetato de Cobre		Timol		Cefalina
			Oxa	Piruv.	U.	Floc.	U.	Floc.	Colesterol
A.R.G.	M	S. S. C. E. H.	22	10.5	106.	Neg.	1.12	Neg.	+
L.P.N.	M	S. S. C. E. H.	66	42	0.68	Neg.	0.86	Neg.	+
L.R.G.	F	S. S. C. E. H.	22	21	1.12	Neg.	1.12	Neg.	+
M.C.	M	S. S. C. E. H.	70	33	0.86	+	1.12	Neg.	++
L.M.G.C.	F	S. S. C. E. H.	36	45	1.12	Neg.	2.10	+	+
O.T.F.	F	S. S. C. E. H.	24	30	0.86	Neg.	1.0	Neg.	+
B.R.B.	M	S. S. C. E. H.	20	18	2.42	+	1.6	+	+
C.J.	F	S. S. C. E. H.	28	44	3.10	+	1.76	Neg.	Neg.
R.G.C.	F	S. S. C. E. H.	8.7	18	1.3	Neg.	1.12	Neg.	Neg.
M.M.M.	M	S. S. C. E. H.	87	18	1.92	+	2.42	Neg.	Neg.
R.G.P.	M	S. S. C. E. H.	18	13.2	2.42	Neg.	2.56	Neg.	+
A.B.	M	S. S. C. E. H.	9	33	0.40	Neg.	1.3	Neg.	Neg.
J.R.M.	M	S. S. C. E. H.	13	9		Neg.		Neg.	+
C.I.	F	S. S. C. E. H.	39	45	1.12	Neg.	1.3	Neg.	Neg.
F.M.C.	F	S. S. C. E. H.	52	36	0.86	Neg.	1.3	Neg.	Neg.
M.C.P.	M	S. S. C. E. H.	16.5	5.5	0.24	Neg.	2.28	+	+
J.M.G.	M	S. S. C. E. H.	33.	33	0.24	Neg.	0.86	Neg.	+
A.R.R.	M	S. S. C. E. H.	11	22	0.14	Neg.	0.86	Neg.	+
M.G.O.	M	S. S. C. E. H.	38.5	5.5	0.10	+	2.28	Neg.	+
R.S.M.	M	S. S. C. E. H.	33	5.5	0.40	Neg.	1.3	Neg.	+
E.Z.V.	M	S. S. C. E. H.	11	22	0.68	++	1.46	+	++
A.T.M.	M	S. S. C. E. H.	11	23.2	1.6	++	1.74	++	+++
J.F.M.	M	S. S. C. E. H.	33	29	0.58	Neg.	1.12	Neg.	+++
S.Z.V.	M	S. S. C. E. H.	16.5	23	1.0	+	1.0	Neg.	+++
J.N.R.	M	S. S. C. E. H.	33	42.6	0.40	Neg.	1.6	Neg.	Neg.
L.V.C.	M	S. S. C. E. H.	2.2	16.7	0.68	Neg.	1.12	Neg.	+
J.R.CH.	M	S. S. C. E. H.	13.5	42.6	0.86	Neg.	0.86	Neg.	+
J.H.O.	M	S. S. C. E. H.	27.5	15.3	0.30	Neg.	0.66	+	++
A.C.	M	S. S. C. E. H.	16.5	15.3	0.16	Neg.	0.38	Neg.	+

Ficha	Sexo	Diagnóstico	Transaminasas Séricas		Acetato de Cobre		Timol		Cefalina
			Oxa	Piruv.	U.	Floc.	U.	Floc.	Colesterol
A.V.	M	S. S. C. E. H.	11	10.2	0.10	Neg.	0.38	Neg.	Neg.
J.R.C.	M	S. S. C. E. H.	38.5	10.2	0.10	Neg.	0.54	Neg.	Neg.
C.R.J.	M	S. S. C. E. H.	22	7.5	0.24	Neg.	2.76	Neg.	Neg.
A.V.F.	M	S. S. C. E. H.	27.5	7.5	0.10	Neg.	2.94	Neg.	Neg.
C.L.	M	S. S. C. E. H.	5.5	22.5	0.10	Neg.	4.56	+	++
A.C.C.	M	S. S. C. E. H.	5.5	15	0.56	Neg.	3.28	Neg.	Neg.
J.H.O.	M	S. S. C. E. H.	11	7.5	0.86	Neg.	3.64	Neg.	+
A.L.C.	M	S. S. C. E. H.	11	7.5	0.24	Neg.	1.92	Neg.	Neg.
R.R.N.	F	S. S. C. E. H.	31	30.4	0.0	Neg.	1.02	Neg.	Neg.
C.C.P.	M	S. S. C. E. H.	24.8	15.2	0.56	Neg.	2.28	Neg.	Neg.
D.B.C.	M	S. S. C. E. H.	18.6	7.6	0.10	Neg.	1.74	Neg.	Neg.
C.Ch.J.	M	S. S. C. E. H.	12.4	7.6	0.40	Neg.	4.2	+	Neg.
M.H.V.	F	S. S. C. E. H.	3.9	4.5	0.10	Neg.	2.10	Neg.	++
J.G.O.	M	S. S. C. E. H.	47.5	0.0	0.10	Neg.	1.6	Neg.	+
M.V.R.	F	S. S. C. E. H.	25.7	19.7	0.24	Neg.	2.28	Neg.	++
J.N.P.	F	S. S. C. E. H.	0.0	26.4	0.68	Neg.	1.0	Neg.	Neg.
C.P.Ch.	F	S. S. C. E. H.	27.5	85.8	0.4	Neg.	1.6	Neg.	+
F.M.M.	M	S. S. C. E. H.	5.5	19.8	0.86	Neg.	1.6	Neg.	+
C.P.C.	F	S. S. C. E. H.	22.0	13.2	0.68	Neg.	1.74	Neg.	Neg.
R.B.C.	F	S. S. C. E. H.	38.5	19.8	0.86	Neg.	1.6	Neg.	+
N.O.A.	M	S. S. C. E. H.	14.5	0.0	0.40	Neg.	1.6	Neg.	Neg.
J.R.B.	M	S. S. C. E. H.	16.2	3.1	0.86	Neg.	1.3	Neg.	Neg.
D.R.L.	M	S. S. C. E. H.	11.2	28	1.0	Neg.	1.74	Neg.	+
F.R.P.	M	S. S. C. E. H.	11.2	20.2	0.86	Neg.	1.46	Neg.	Neg.
J.O.B.	M	S. S. C. E. H.	31.2	8.3	0.4	Neg.	1.6	Neg.	Neg.
J.A.D.	M	S. S. C. E. H.	6.6	16.6	0.56	Neg.	1.92	Neg.	Neg.

S. S. C. E. H. significa Sin Síntomas Clínicos de Enfermedad Hepática.

Conclusiones

No pretendemos establecer las cifras normales para lo cual se necesitaría un gran número de casos explorados; además, se tendría que hacer estadística de estas cifras, que comprendería la media sigmática y las desviaciones que se encorriaron como normales a esta cantidad.

El objeto de haber hecho determinaciones en unas cincuenta personas las cuales fueron clínicamente exploradas particularmente en lo que se refiere a las vías hepatobiliares, para cerciorarse de que no tenían padecimiento alguno de este tipo, fué el de tener un punto de referencia más confiable que los reportados como normales en los trabajos extranjeros decimos más confiable porque para establecer nuestras normales, se usaron exactamente las mismas maniobras, el mismo equipo de aparatos y el mismo operador con esto obtenemos un error relativo y sistemático, de la misma magnitud de los que sufrían los problemas.

Por otro lado tenemos que las cifras encontradas en este trabajo concuerdan de manera completa con las encontradas por Wroblewski y La Due, ellos consideran cifra normal para las transaminasas pirúvica de 1 a 15 gammas c.c. En nuestras estadísticas sólo encontramos el caso "C. F. Ch." en que se encuentran 85.5 gammas/c.c.

En lo referente a la transaminasa oxalacética, estos autores consiguan como normales de 1 a 10 gammas por c.c.; en nuestras estadísticas cinco casos se salen de la cifra máxima registrándose una cifra máxima para estos casos de 87 gammas c.c. que corresponden a la ficha "M. M. M."

Interpretación de Cifras Patológicas

En la práctica aplicadas estas cifras vemos que arriba de las cantidades máximas ciertos padecimientos del hígado y de otro tipo nos dan una zona difícil de interpretar y que usualmente establecida aproximadamente entre 40 y 100 gammas c.c. y por lo mismo a estas cifras no les atribuimos un carácter clínico orientador definido.

Luego vemos en la práctica una zona que se extiende aproximadamente desde las 100 gammas c.c. a las cercanías de 400 gammas c.c., en donde la gran mayoría de los padecimientos no virales quedan incluidas, (infarto del miocardio, cirrosis, la mayoría de las ictericias obstructivas y hemolíticas, etc.), y finalmente una zona que va de las cercanías de 100 gammas c.c. en adelante hasta 2,220 gammas c.c. que reportamos en el caso de "E.G.Z.", en segunda semana de evolución de una hepatitis infecciosa.

Es probable que a medida de que la enfermedad avanza hacia la curación, estas cifras se reduzcan rápidamente hacia las normales y por lo mismo, no sería raro observar que entre la cuarta y quinta semana de evolución de un padecimiento viral del hígado, se encuentren cifras que vayan desde las proximidades de las 100 gammas c.c. a las 50 gammas c.c., incluyendo la zona difícil de interpretar a que ya nos hemos referido anteriormente, pero estos casos, quedan favorablemente resueltos, interrogando los antecedentes del enfermo.

Relacionando los valores encontrados en los casos de hepatitis u otras hepatopatías observamos un cierto grado de relación entre las pruebas de floculación (acetato de cobre, timol y cefalina colesterol) y la referida dosificación de las transaminasas. Sin embargo hay casos como el antes referido (E. G. Z.) en que habiendo niveles muy elevados de las enzimas sólo encontramos la segunda parte de la prueba del acetato de cobre, es decir la floculación, francamente positiva, mientras que la primera parte que se refiere a la turbiedad, es francamente normal (1. 0 U).

Asimismo lo son negativas tanto en la turbiedad como en la floculación en lo referente a la prueba del timol, y francamente negativa la cefalina colesterol (normal: de negativo a 1 cruz - a -).

Luego tenemos el caso "C. H. S." (hepatitis aguda, cuarta semana de evolución) en que encontramos enzimas dentro de los límites considerados como ilustrativos para este tipo de enfermedades, con 6.28 U. de turbiedad y - - - - de floculación para la prueba del acetato de cobre; 3.10 U. turbiedad (normal) y (nulo - - -) de floculación para la prueba de McLagan, y - - - - para la floculación de cefalina colesterol.

De la observación de estas cosas nos permitimos asentar que la discrepancia aparente queda explicada por la antigüedad de la enfermedad, en otras palabras, mientras las enzimas abarcezan valores altos entre el final de la primera y segunda semanas las pruebas de floculación en cambio, para este tiempo son débiles positivas, o negativas; ahora bien, entre la cuarta, quinta y sexta semana y aún más tiende la cosa, sucede al revés: valores altos para las pruebas de floculación, valores bajos para las pruebas enzimáticas.

En los casos de precoma hepático encontramos valores variables para las enzimas y para las pruebas de floculación; como en el caso "D. C. A.", en que se hicieron por lo menos tres determinaciones seriadas, pero en todos los casos las cifras de transaminasas no alcanzaron cifras relativamente altas.

En cambio la prueba del acetato de cobre y particularmente la prueba de la cefalina rindieron datos francamente patológicos (O. E. N.)

En un caso de ictericia obstructiva de larga evolución también encontramos cifras relativamente altas de las enzimas con pruebas de floculación negativas. Interpretamos que en el caso de las ictericias obstructivas severas de larga evolución, pueden dar lugar a lesión celular de pequeña porción del tejido hepático, lo que daría liberación o cantidades relativamente grandes de las enzimas; sin que las pruebas de floculación tengan cambios significativos. Desde luego esta circunstancia es única en nuestra estadística.

Para concluir diremos que la prueba de determinación de las transaminasas séricas, oxalacética y pirúvica, no resuelve por sí sola el problema del diagnóstico diferencial de las ictericias y que es necesario seguir usando otras pruebas de laboratorio junto con estas determinaciones, para conseguir el fin indicado; sin embargo dado lo pronto (primera o segunda semana) que alcanzan valores demostrativos, es de considerarse esta ventaja.

Por otro lado hay que recordar que las cifras altas son exclusiva de las ictericias virales, por lo cual se hace notar que estadísticamente acontece que estas corresponden a las citadas ictericias.

CAPITULO VII

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- 1--Karmen, A. Wroblewski F., and La Due, J. S. Transaminase Activity in Human blood appendix. *J. Clinical investigations* 34, 126, 133, 1955.
- 2 La Due, J. S. and Wroblewski F. The significance of the Serum Glutamic Oxalacetic Transaminase Activity Following Acute Miocardial Infarction. *Circulation* XI, 871-877, 1955.
- 3 Tonkazy, N. H. White, N. G. and Umbreit W. W. A rapid Method for the estimation of the Glutamic-Aspartic Transaminase in Tissues and its applications to radiation Sickness. *Arch. of Biochemistry and Biophysics*, XXVII, 36, 42, 1950.
- 4 Wroblewski F. and La Due S. S. Serum Glutaminic Oxalacetic Transaminase Activity as an Index of Liver Cell Injury. *Annal Internal Medicine*, 43; 345-360, 1955.
- 5 Wroblewski F. and La Due J. S. Serum Glutamic Oxalacetic Transaminase in acute Hepatitis. *Journal Internal Medicine* A.
- 6 Conrad F. G. Transaminase. *New England J. Med.* 256-602 (marzo 28) 1959.
- 7 Wroblewski, F. The Significance of Alterations in Serum Enzymes in the Differential Diagnosis of Jaundice. *A. M. A. Arch. Int. Med.* 100-635 (October) 1957.
- 8 Summer J. B. y Mayrback K; "The Enzymes", New York, Academic Press Inc. Tomo I, Parte I. 1950.
- 9 Harrow B. y Mazur A. *Textbook of Biochemistry*. Filadelfia W. B. Saunders Co. 1954.
- 10 Gutman A. D. y Hanger F. M. *Med. Clin. North Amer.* 25, 1941.
- 11 Meister A. *Biochemistry of the Amino Acids*. New York Academic Press