

UNIVERSIDAD MOTOLINIA
INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

- **Estudio Comparativo de la Colinesterasa
Sérica, con las Transaminasas Séricas y
Algunas Pruebas de Floculación en
Diversas Hepatopatías.**

T E S I S

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a :

LEONOR

RABAGO

GONZALEZ

MEXICO, D. F.

1959



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 mis queridos padres, Dr. José Rábago y Sra.
Leonor G. de Rábago, con todo mi cariño.

A mis hermanos: María, Conce y Antonio.

A mi abuelita.

A mi tía Choyo.

Al Dr. Héctor Manuel Peredo, con todo respecto
y gratitud.

C A P I T U L O S .

- I.- CONSIDERACIONES PRELIMINARES.
- II.- TECNICAS EMPLEADAS Y APARATOS.
- III.- PRESENTACION DE LOS DATOS NUMERICOS DE LOS CASOS ESTUDIADOS.
- IV.- ENSAYO INTERPRETATIVO DE LOS DATOS PRESENTADOS.
- V.- CONCLUSIONES.
- VI.- BIBLIOGRAFIA.

C A P I T U L O I.- CONSIDERACIONES.- PRELIMINARES.

En la segunda década de este siglo se pensó que en la sangre había una enzima capaz de hidrolizar la acetil colina, substancia indispensable para convertir el impulso nervioso en contracción muscular (1). -- Posteriormente se demostró que en realidad son varias las enzimas que -- tienen acción hidrolizante sobre los ésteres de la colina (2). Dichas enzimas se han clasificado en dos grandes grupos:

1.- Unas denominadas "verdaderas o específicas" cuya concentración predomina en los glóbulos rojos, celdillas nerviosas, y otras células; y

2.- Las llamadas "colinesterasas inespecíficas o pseudo colinesterasas" que alcanzan su mayor concentración en el suero sanguíneo, y en la secreción de ciertas glándulas.

Otra clasificación se basa en el comportamiento de los fermentos frente a ésteres no derivados de la colina (3). Las "colinesterasas específicas" son inhibidas intensamente por la eserina; mientras que al grupo "pseudo" lo inhiben ligeramente.

Otro ejemplo es que el grupo "verdadero" hidroliza con rapidez -- el etilo cloro acetato, en cambio el grupo "pseudo" lo hace débilmente. -- Otra observación importante, nos la da el hecho de que la eserina puede -- inhibir a la "pseudo colinesterasa" en su acción sobre la acetil colina -- pero no cuando la acción de este fermento está actuando sobre el etilo -- acetato, el grupo de las "colinesterasas verdaderas es inhibido por la -- eserina tanto en su acción sobre el etilo cloro acetato como cuando -- está actuando sobre la acetil colina.

Los investigadores Sawyer C.H. y Cols. (4) al efectuar los estudios sobre las concentraciones de estas enzimas encontraron que predominan las "pseudo" en tejidos tales como hígado, suero, ovario y glándulas -- salivales, y las "específicas" en meso encéfalo, médula ósea, ganglio -- linfático, corteza suprarrenal, nervio periférico, etc. Ahora bien, refiriéndose a las "inespecíficas" se ha demostrado una diferencia de -- concentración en cuanto al sexo, hallándose aumentadas en el suero de las -- ratas hembras y en los animales castrados, en que se produce un aumento de -- las "inespecíficas" cuando se les administraba estrógeno. Quedó -- demostrado por los experimentos, la existencia de un nivel constante en el hígado, -- por lo cual supusieron los investigadores que cuando hay un ataque -- bacteriano, tóxico o viral actuante sobre la celdilla hepática, ésta -- disminuye la excreción de las enzimas al suero sanguíneo como resultado de la -- agresión recibida.

Basados en este conocimiento se pensó en la posibilidad de aplicarlo a la clínica con fines diagnósticos en las hepatopatías. Para la -- determinación de estas enzimas se idearon varios métodos como el manométrico de -- Ammon R. (5), electrométrico (potenciométrico) de Michel H.O. (6) -- y recientemente algunos autores: Molander D. W., Friedman M.M. & Ladue -- J.S. (7) modificaron el procedimiento electrométrico con objeto de -- simplificarlo y hacerlo factible a usos colorimétricos. Ellos pensaron que --

al substituir el potenciómetro por el colorímetro, se extendía su uso a - laboratorios de análisis clínicos que no contaron entre su instrumental - con el potenciómetro.

El disponer de métodos más fáciles y precisos para la dosifica- ción de la colinesterasa sérica, nos permite conocer la disminución de dicha enzima en el suero sanguíneo cuando el hígado se ve agredido por factores de tipo bacteriano tóxico o viral. Desde luego se originaron investigaciones como la de Schiffrin A., Tuchman L. & Antopol W. (8), los cuales hicieron estudios en un centenar de enfermos hepato-biliares y observaron lo siguiente: que en la obstrucción neoplásica de las vías biliares, pero sin colangitis ni metástasis, un valor bajo del ΔpH habla en contra del - proceso neoplásico, no complicado; en los casos de ictericia con colangitis un valor bajo de la enzima apoya el diagnóstico; ahora bien, en los - casos de ictericia obstructiva pero acompañados de colangitis o neoplasia con metástasis de las vías biliares, los valores bajos del ΔpH hablan en favor de estos padecimientos.

Otro investigador Orellana Alcalá (9) utilizó la determinación de la colinesterasa sérica para el diagnóstico diferencial entre la ictericia benigna y maligna, encontrando ΔpH bajos para las malignas; pudo observar además que en los cirróticos tuvieron o no ictericia siempre presentaban valores bajos de ΔpH .

En un estudio de Man J.D. & Cols. (10) sobre individuos sanos e - individuos con hepatopatías encontró que la determinación de la colinesterasa sérica tiene valor pronóstico, puesto que se correlacionan sus cifras (ΔpH) con la evolución clínica.

Vorhaus L.D. & Kork R.M. (11) demostraron que la colinesterasa sérica tiene frecuentemente valores bajos cuando el parénquima hepático está dañado, encontrando además, que esta contingencia es más frecuente en los casos agudos, que en los crónicos. Estos mismos autores dicen que en los procesos obstructivos no complicados que tienen pocos días de establecida la obstrucción, los valores frecuentes de ΔpH son normales. Sin embargo, en 1953 Ducoi H. & Hurtado (12) consideran que los valores de colinesterasa sérica no tienen utilidad para el diagnóstico diferencial de - las ictericias. A pesar de estos últimos datos, en 1954, Molander D.W. - Friedman M.M. & Ladue J.S. (7) confirman lo encontrado por otros investigadores precitados; en el sentido de que la dosificación de la colinesterasa sérica es útil para la demostración del daño hepático e insisten que en algunos casos es la única prueba del laboratorio que se encuentra anormal.

Debido a que la determinación de las transaminasas séricas han adquirido gran importancia, para el diagnóstico diferencial de las ictericias, cardiopatías, etc., nos vemos en la necesidad de dedicarle algunos - párrafos para explicar su fisiología normal y patológica.

Normalmente existe en el suero un nivel de concentración que oscila aproximadamente entre 5 gamas /cc/20 min. y 45 a 60 gamas /cc/20 min. - (técnica colorimétrica) Cuando las condiciones son patológicas como: un - cambio de permeabilidad de la membrana celular o una necrosis celular, provocan el aumento de estas enzimas en los líquidos extracelulares y en particular en el suero sanguíneo (pues son vertidas al torrente circulatorio) que es donde se verifica la determinación con fines clínicos.

Los tejidos más ricos en transaminasa oxalacética en orden de mayor concentración son: el miocardio, músculo esquelético, cerebro, hígado, riñón, testículo, etc.; para darnos una idea citamos la concentración del miocardio en transaminasa oxalacética: 156,000 gamas /gr. Refiriéndonos a la pirúvica en primer término, está el tejido hepático conteniendo 44,000 gamas /gr.; siguiendo el músculo cardiaco, el riñón, el músculo esquelético, etc. (13).

Por lo anteriormente dicho, se comprende que toda lesión necrosante (hepatitis a virus) hepatitis por $CC1_4$, cáncer metastásico), producirá liberación en grandes cantidades de estas enzimas a partir del tejido hepático agredido, presentándose en estos casos cifras hasta de 2,000 gamas /cc/20 min. en suero sanguíneo.

MECANISMO DE LA TRANSAMINACION.

En el metabolismo normal de las proteínas, los aminoácidos pierden el grupo amínico ($-NH_2$) dejando un residuo denominado alfacetoácido; (la fig. 1 muestra este importante proceso), pero estas reacciones tienen carácter reversible y se verifican catalizadas por las transaminasas (esto queda ilustrado en la fig. 2). Se puede observar que hay una transferencia intra molecular del grupo amínico $-NH_2$ sin desdoblamiento del mismo en amoniaco. Esta reacción puede explicarse como sigue:

Transaminasa + cetoácido A" + aminoácido B" \rightleftharpoons "cetoácido B" + "Aminoácido A" + transaminasa. Esta reacción de bioquímica fundamentalmente existe en los organismos animales y plantas superiores.

La transaminación es de gran importancia dado que es un paso en la síntesis de muchos aminoácidos, utilizándose para ello alfacetoácidos, en los cuales la función amínica ha sido reemplazada por la función cetona. Como las proteínas tisulares se están elaborando y destruyendo continuamente, uno de los pasos principales en el metabolismo de ellos consiste en la formación de aminoácidos, en lo cual las enzimas transaminantes desempeñan un papel indispensable (14).

FIGURA N° 1.

Representación diagramática del metabolismo de las proteínas.

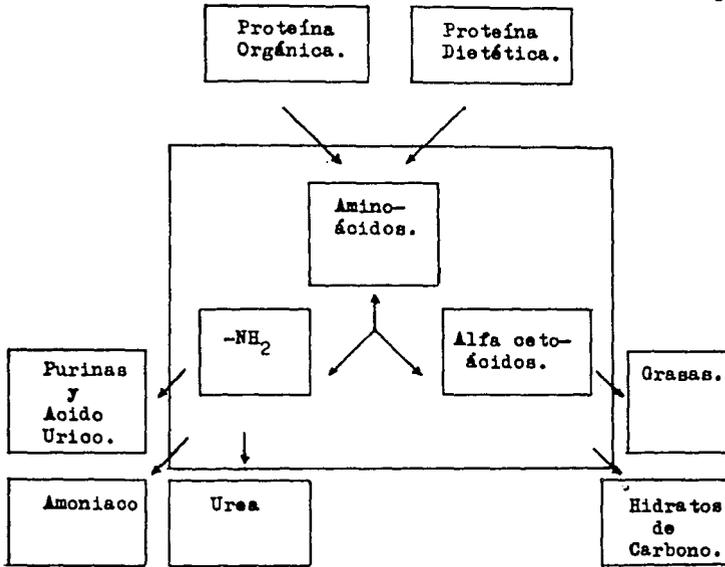
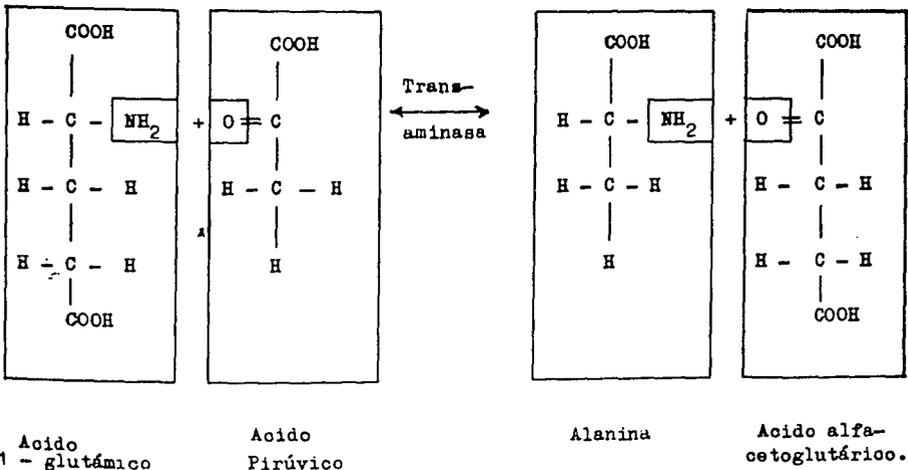


FIGURA N° 2.

Ejemplo de la actividad de la transaminasa.



MOTIVOS PARA HACER LA PRESENTE TESIS.

Impresionados por los conceptos vertidos por los investigadores citados, planeamos la presente tesis bajo los siguientes aspectos:

1°.- Ver si efectivamente la determinación de la colinesterasa sérica era sencilla de realizar; ya sea, usando para la estimación final - de los valores del Δ pH el potenciómetro o el colorímetro.

2°.- Ver si es más práctico usar el colorímetro para obtener el Δ pH.

3°.- Ver la relación de esta enzima con las transaminasas: sérica, glutámica oxalacética y sérica glutámica pirúvica, así como con las -- pruebas de turbiedad floculación Hanger, y Sellek y Frade.

C A P I T U L O II.- TECNICAS EMPLEADAS Y APARATOS.

DETERMINACION COLORIMETRICA DE LA COLINESTERASA SERICA.

PRINCIPIO: como enzima, la colinesterasa cataliza la hidrolisis de la acetil colina en colina y ácido acético. El ácido acético liberado es medido colorimétricamente usándose rojo de fenol como indicador o bien midiendo potenciométricamente el cambio de pH producido por el ácido acético formado.

- 1).- Solución madre de barbiturato sódico. Disuélvanse 10.3 g. de barbitural sódico en 500 ml. de agua destilada.
- 2).- Aproximadamente 30 ml. de HCl 0.1 N
- 3).- Solución indicadora de rojo de fenol: Disuélvanse 0.05 g. de rojo de fenol en 10 ml. de NaOH 0.1 N, y agréguese cantidad suficiente de agua para 200 ml.
- 4).- Substrato de acetil colina: Disuélvanse 3.5 g. de cloruro de acetil colina en 100 ml. de agua destilada.
- 5).- Aproximadamente 0.5 ml. de suero del paciente.

PROCEDIMIENTO. Curva patrón:

- 1.- Mézclase la solución madre de barbiturato sódico (1) con el HCl (2) en las porciones que se indican en la tabla 1 para preparar los amortiguadores barbitúricos de pH 7.0 a pH 8.6.
- 2.- A cada tubo de amortiguadores barbitúricos agréguese 8 ml. de agua destilada y 0.15 ml. de solución indicadora de rojo de fenol (3).
- 3.- Léanse las soluciones en un colorímetro con un filtro de 535 milímicrones empleando agua para el ajuste en blanco.
- 4.- Trácese las intensidades del color contra las cifras de pH de las soluciones para tener la curva patrón. (la curva es lineal en el límite de pH 7.2 a pH 8.5).

Una vez establecida la curva sirve indefinidamente sin tener que hacerse una nueva determinación.

TUBOS. Solución Stock de barbiturato sódico pH 8.4. HCl 0.1 N pH

TABLA N° 1

1.	5.36 ml.	4.64 ml.	7.00
2.	5.54 ml.	4.46 ml.	7.20
3.	5.81 ml.	4.19 ml.	7.40
4.	6.25 ml.	3.85 ml.	7.60
5.	6.62 ml.	3.38 ml.	7.80
6.	7.16 ml.	2.84 ml.	8.00
7.	7.69 ml.	2.31 ml.	8.20
8.	8.23 ml.	1.77 ml.	8.40
9.	8.71 ml.	1.29 ml.	8.60

Para cada prueba individual se emplean tres tubos. Tubo No. 1: Póngase 2 ml. de amortiguador barbitúrico de pH 8.4 1 ml. de cloruro de acetyl colina (35 mg.%) y 0.1 ml. de suero problema.

Tubos Nos. 2 y 3: Pónganse 2 ml. del amortiguador de pH 8.4 1 ml. de agua destilada y 0.1 ml. de suero problema.

Incúbense todos los tubos a 37° C por 120 min. Pocos minutos antes de terminarse el período agréguese 7 ml. de agua destilada a cada tubo y 0.15 ml. de solución indicadora de rojo de fenol a los tubos Nos. 1 y 2.

Léanse los tubos 1 y 2 en un colorímetro con un filtro de 535 milimicrones, empleando el tubo No. 3 como un blanco para compensar cualquier color contribuido por el suero.

Compárese el resultado con la curva patrón para calcular el pH de los tubos Nos. 1 y 2.

Réstese el pH del tubo No. 2 del tubo N° 1 para obtener el Δ pH o sea el cambio en el pH causado por la actividad de la colinesterasa en el suero problema y que representa un índice de la función hepática.

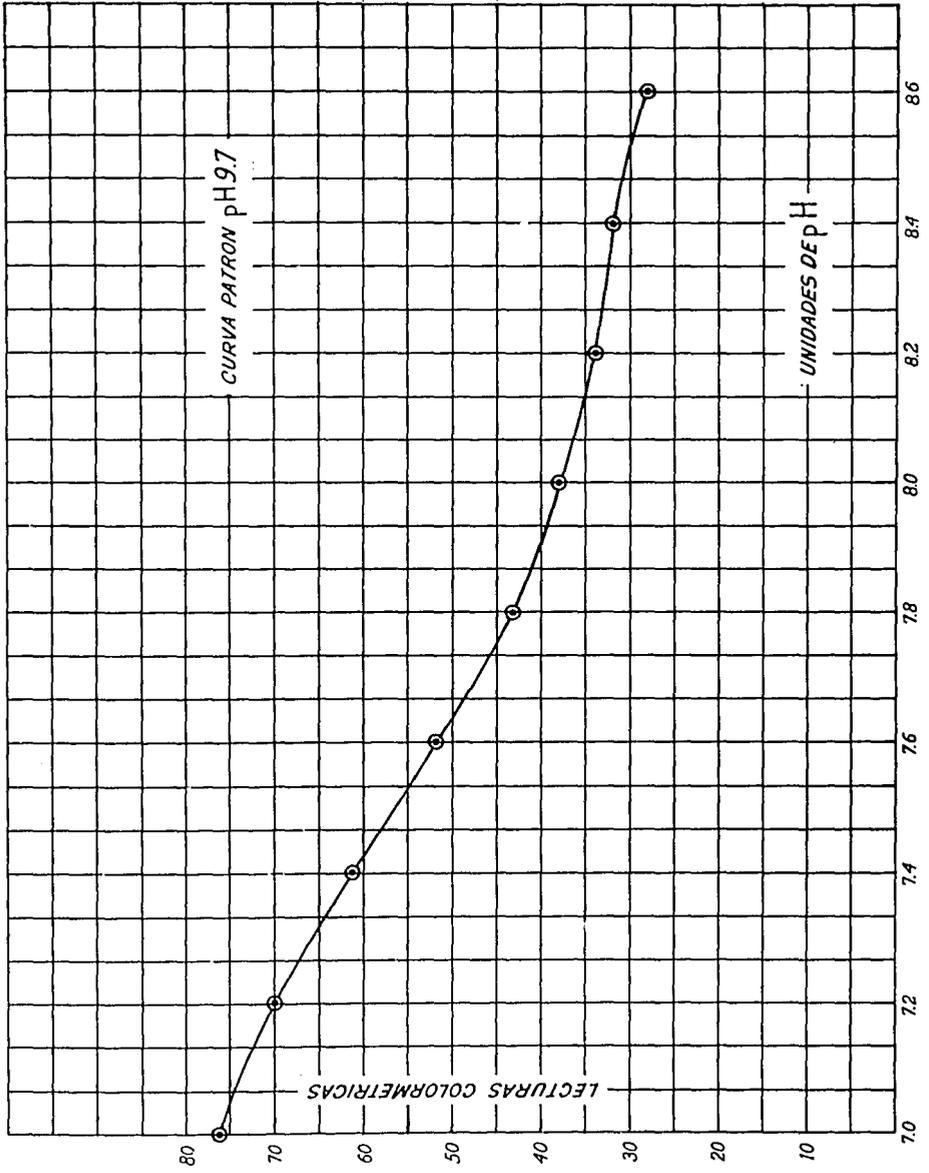
Como quedó asentado, una de las finalidades de esta tesis es comprobar la ventaja de usar el colorímetro en lugar del potenciómetro para la determinación de la colinesterasa. Pero como desde el principio del estudio de los casos clínicos en el laboratorio, se hicieron las lecturas simultáneamente en el colorímetro y en el potenciómetro, (respetando en lo absoluto la técnica de Molander Friedman & Ladue 7), observamos dos cosas interesantes: en primer lugar que la línea resultante de la unión de los puntos obtenidos de la lectura (curva patrón) al colorímetro no era una recta sino que estaba encorvada en sus lados extremos, en los cuales tiene tendencia franca a la horizontal (ver gráficas 1 y 2). Tanto la curva obtenida con solución de barbitúrate de pH 8.4 como de pH 9.7, presentan la deformación antes indicada.

Los autores en el trabajo de referencia indican disolver 10.3 g. de barbiturato sódico en 500 ml., esta solución no da el pH indicado de 8.4 sino de 9.7. En vista de lo cual adicionamos ácido barbitúrico en cantidad suficiente (3.5 g), para lograr el pH de 8.4. tomado con potenciómetro. Las curvas se corrieron con ambas soluciones y patrones de 0.2 unidades de pH entre cada uno, comprendidos entre 7.0 y 8.6; en ambos casos la diferencia de las lecturas es sensiblemente igual; así como la línea que resulta de unir los diversos puntos de lectura colorimétrica. (ver gráficas 1 y 2).

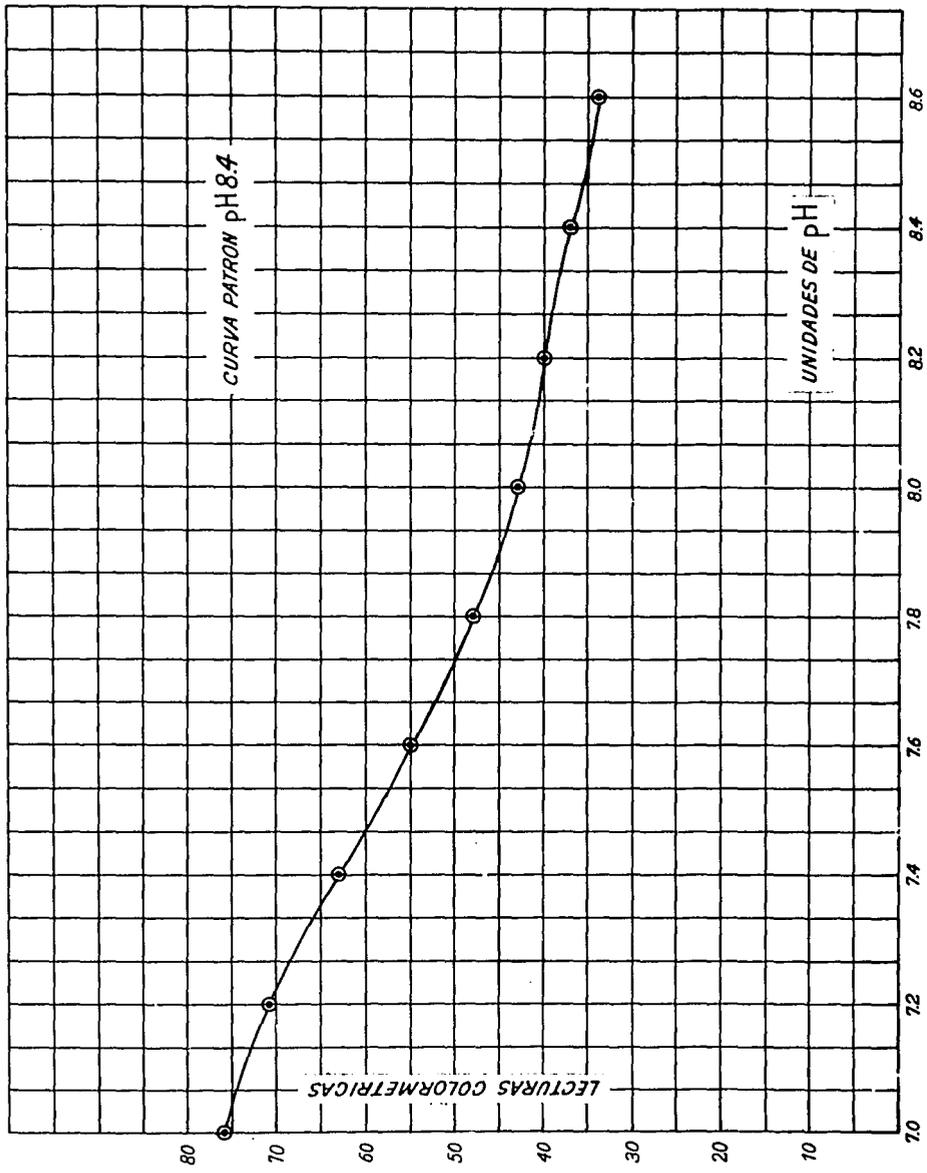
En segundo lugar, que en los sueros problemas tratados como los autores lo indican incluyendo el tercer tubo testigo; como control del color del suero (en nuestra casuística la mayoría de los sueros fueron ictericos) los valores de lectura colorimétrica quedan en gran cantidad de casos fuera de los valores de pH contenidos en la gráfica o curva patrón.

En vista de lo anterior, en nuestra opinión, nos pareció que el uso del colorímetro como sustituto del potenciómetro en este caso particular, dejaba mucho que desear en cuanto a exactitud y, por lo mis-

GRAFICA No.1



GRAFICA No. 2.



mo, todos los valores presentados en los 54 casos patológicos y en los 84 normales fueron obtenidos usando exclusivamente el potenciómetro. Por lo demás se respeta en absoluto la técnica propuesta (7).

DETERMINACION COLORIMETRICA DE LAS TRANSAMINASAS: SERICA GLUTAMICA PIRUVICA Y SERICA GLUTAMICA OXALACETICA.

PRINCIPIO.- Sabiendo que el metabolito final obtenido por la transaminasa oxalacética es precisamente el ácido oxalacético, cuya determinación es bastante complicada (15): Wroblewski F. y Cols (16), para obviar dificultades obtuvieron mediante la descarboxilación del carbón gamma del ácido oxalacético un keto ácido de tres carbonos o ácido pirúvico.- Esta descarboxilación se efectúa haciendo reaccionar el problema con citrato de anilina (agente descarboxilante). Obtenido el ácido pirúvico de este modo, o bien el ácido pirúvico obtenido por la acción de la transaminasa pirúvica, se hace reaccionar con la 2.4. dinitro fenil hidrazina para formar la hidrazina correspondiente, la cual en un medio fuertemente alcalino (solución saturada de KOH alcohólica) forma un complejo colorido (cereza o rojo caoba) el cual es comparado colorimétricamente con una solución patrón de piruvato sódico, tratada de la misma manera y en las mismas condiciones que los sueros problemas.

REACTIVOS .

1.- Substrato pirúvico: pasar 0.85 g de D.L. alanina; 1 g de K_2HPO_4 y 0.3 g. de ácido alfa keto glutárico. Poner en un frasco de polietileno, previamente aforado a 50 ml y 30 ml. de agua destilada y 3 ml. de solución de KOH 1N y disolver por rotación las substancias antes citadas. Usando potenciómetro Beckman "G" tomar una muestra de la solución y determinar el pH; generalmente da alrededor de 6.5. Para llevarlo a pH 7.3 \pm 0.1, se le agregan porciones de 0.5 ml. de KOH 1N (generalmente dos) para lograrlo. Se recomienda reincorporar previamente al contenido del frasco cada una de las muestras que se emplean en el tanteo del pH, puesto que siendo un volumen pequeño (50 ml), se merma mucho la cantidad utilizable de dicho reactivo si cada muestra se desecha. Logrado el pH óptimo aforar a la marca (50 ml) con agua destilada. Conservar en el refrigerador. Es utilizable hasta 7 días después de hecho.

2.- Substrato oxalacético: pesar 1.33 g. de ácido D.L. Aspártico 1.g de K_2HPO_4 y 0.30 g. de ácido alfa keto glutárico. Pasarlos a un frasco de polietileno de las dimensiones antes especificadas y añadir 30 ml. de agua destilada y 16 ml. de KOH 1N. Disolver por rotación. Es muy poco soluble el ácido aspártico, por lo tanto debe hacerse una agitación frecuente durante 5 minutos. Dejar en reposo, decantar cuidadosamente todo el contenido del frasco a un vaso de precipitado de 100 ml. Tomar una muestra del contenido del vaso y determinar su pH. Nos da aproximadamente 6.7. Agregar porciones de 1 ml. de KON 1N hasta lograr pH de 7.3 con variaciones de \pm 0.1.- Se toman las precauciones citadas para el pirúvico. Previamente se lava el frasco de polietileno con agua destilada (donde se hizo la solución), se escurre, se le agrega la solución de substrato pH 7.3. Aforar la marca (50 ml) con agua destilada. Conservar en el refrigerador. Utilizable por una semana.

3.- Citrato de anilina: pesar 5 g. de ácido cítrico. QP pasarlos a un vaso de precipitados de 50 ml. Agregar 6 ml. de agua destilada (modificación).- Con agitación constante agregar 1 ml. de anilina QP. — Nosotros modificamos la cantidad de agua en que se disuelve el ácido of

trico usando 6 ml. de agua en lugar de los 5 ml. que marca la técnica original porque al verificarlo con 5 ml. el citrato de anilina cristaliza rápidamente, aun conservado en la estufa a 37° C, y toma inmediatamente un color moreno oscuro. Aumentando ligeramente el volumen del agua evitamos que esta anomalía se produzca, conservándose en condiciones apropiadas hasta por cuatro semanas. Envasar en frasco gotero de color ambar. Conservar a temperatura ambiente.

4.- Solución de Acido tricloroacético: 100%: pesar 20 g. de ácido tricloroacético QP pasarlos a un vaso de precipitados de 50 ml. y agregar 20 ml. de agua destilada. Envasar en un frasco gotero incoloro. Se conserva indefinidamente a la temperatura ambiente.

5.- Solución de 2.4 dinitro fenil hidrazina: pesar 200 mg. de la 2.4 dinitro fenil hidrazina. Pasarlos a una probeta de 250 ml. agregar HCl concentrado QP hasta aforar 40 ml. Con una varilla de vidrio --- agitar vigorosamente y agregar en chorro delgado agua destilada agitando constantemente con la varilla de cristal hasta 200 ml. Envasar en frasco de vidrio con tapón de cristal. Se conserva indefinidamente a la temperatura ambiente.

6.- Solución saturada de KOH alcohólica. Se prepara una cantidad de KOH alcohólica de acuerdo con el número de muestras que se van a determinar, teniendo en cuenta que por cada muestra normalmente se gastan 3 ml de solución alcohólica más 12 ml. correspondientes a los blancos --- standards además de una cantidad adicional para los casos en que el valor de la transaminasa sea superior a 1000 gamas/cc/20 min. Se pueden diluir adecuadamente dichas muestras agregando porciones de 3 ml. de la solución alcohólica, más 1 ml. de tolueno.

Esta preparación debe hacerse en cantidad adecuada a las muestras, dado que debe ser recién preparada, y que la porción no utilizada se desecha. Para prepararla se usa un frasco de polietileno de 100 ml. de capacidad, con cierre hermético y en él ponemos las cantidades de alcohol y KOH necesaria, se cierra y se pone en un agitador de Kahn durante el tiempo de incubación de las muestras. Las cantidades de KOH y alcohol estarán en relación de 2.5. de KOH por 100 ml. de alcohol. Preparación de alcohol: el alcohol comercial (potable, no desnaturalizado) de 96° se envasa en frascos de cuatro litros a los cuales se les agregan 5 g. de Calcio metálico (en virutas), se agitan de tiempo en tiempo y se les deja en reposo durante una semana o en su defecto refluja 4 horas. Se destila desechando la cabeza y la cola del destilado (1/8 del volumen original para cada porción). Envasar en un frasco oscuro bien tapado.

7.- Solución Stock: pesar en balanza analítica 625 mg. de piruvato sódico y pasarlos cuantitativamente a un matraz volumétrico de 100-ml. agregar aproximadamente 60 ml. de agua destilada, disolver y aforar a la marca. Envasar en frasco de 100 ml. ambar con tapón de cristal, conservar en el refrigerador. Utilizable hasta 60 días (1 ml = 5000 gamas de ácido pirúvico).

8.- Solución standard de trabajo: se prepara en el momento de usarse. Tomar exactamente 1 ml de solución stock y agregarle exactamente 9 ml. de agua destilada 1 ml. = 500 gamas de ácido pirúvico.

9.- Tolueno QP.

PROCEDIMIENTO.

Para la determinación de la transaminasa sérica glutámica pirúvica se toman dos tubos para cada problema marcados respectivamente con las letras Tp..... 1 2.....etc. (testigo pirúvico), Pp....1.....2.....etc. (problema pirúvico) y además para cada serie de problemas se ponen: un tubo para blanco de reactivos Bp (blanco pirúvico) y STp (Standard pirúvico). Procedemos del siguiente modo: En una gradilla de Kahn se ponen los tubos antes citados (13 x 100 mm.) a partir del extremo izquierdo de la gradilla y de adelante a atrás como sigue: Bp. STp. Tp. Pp. En el tubo Bp poner 1 ml. de agua destilada y en los restantes — 0.5 ml. Agregar a todos los tubos 0.5 ml. de sustrato pirúvico (1). Añadir a los tubos Tp y Pp 0.5 ml. del suero problema. Al tubo STp agregarle 0.5 ml. de la solución equivalente a 500 gamas de ácido pirúvico o su equivalente en piruvato sódico. (8). Mezclar suavemente todos los tubos — y agregar a todos ellos con excepción única de Pp (problema pirúvico) una gota de solución de ácido tricloro acético (4). Mezclar suavemente mediante golpes ligeros al tubo. Dejar reposar 20 min. a la temperatura ambiente 25° - 28° C.; al finalizar este tiempo se añade una gota de ácido tricloro acético (4) únicamente al tubo Pp (problema pirúvico), mezclar enérgicamente todos los tubos. Dejarlos 20 min. en reposo. A partir de este momento todos los tubos se tratan por igual. Se les agrega 1 ml. de solución de la 2.4. dinitro fenil hidrazina (5). Se mezclan enérgicamente por golpeo. Dejarlos en reposo 10 minutos. Agregarles 3 ml. de tolueno (9) y valiéndose de un disco de lámina de polietileno uno a uno de los tubos comenzando por Bp y se agita vigorosamente durante 15 seg. Esta maniobra se verifica con todos en el orden en que están. Dejarlos reposar 5 minutos. Con un alambre de cobre despegar de las paredes el coágulo formado. Poner los tubos a centrifugar a 1200 rpm. durante 5 minutos. En caso de que no hubiera separación entre la fase acuosa y la toluencia, se vuelve a usar el alambre de cobre y separar nuevamente el coágulo de las paredes, volver a centrifugar. Con una pipeta serológica de 1 ml. provista de un bulbo de hule tipo gotero se pasa 1 ml. de la fase toluencia principiando — por el tubo Bp a respectivos tubos sin labio (20 x 150 mm.) previamente — marcados con las mismas siglas que los tubos de 13 x 100 mm.; esos tubos — se ponen en una gradilla de alambre tipo Kolmer, estos tubos sin labio — contienen 3 ml. de solución KOH alcohólica. Repetir las mismas maniobras con los tubos restantes, teniendo muy presente que inmediatamente después de agregar el ml. de extracto toluénico se agiten los tubos vigorosamente para hacer que el desarrollo del color se haga uniforme (agitar por golpeo). Dejarlos en reposo 5 minutos y leerlo en colorímetro Klett dotado de filtro verde # 54 y puesto a 0 de densidad óptica con el tubo Bp correspondiente.

Determinación de la transaminasa sérica glutámica oxalacética. En general se sigue exactamente la misma técnica en lo que se refiere a material de cristalería gradillas y tiempos de incubación. Como se aclaró al principio, esta enzima produce ácido oxalacético, el cual se transforma en ácido pirúvico con lo que se aclara la similitud en los procedimientos, los cuales son iguales, con la diferencia de que, para esta determinación, cuando se agrega la gota de ácido tricloro acético agregamos — simultáneamente una gota de citrato de anilina (3) agente descarboxilante, por supuesto que los tubos están marcados para la determinación de la tran

saminasa oxalacética como sigue: Bo, STo, To. 1..2 y Po 1.2....(Blanco -- oxalacético, Standard. Testigo y problema. Agregamos la gota de ácido tri cloro acético y añadimos al mismo tiempo una de citrato de anilina y al -- igual que en la serie pirúvica exceptuando el tubo Po (problema oxalacéti co). Después de la incubación de 20 min. se añaden ácido tricloro acético y el citrato de anilina (una gota de cada uno) y se agitan enérgicamente -- por golpeteo, se dejan reposar otros 20 minutos. (segunda incubación). -- A partir de este momento las maniobras son exactamente iguales que cuando se trata de la determinación de transaminasa pirúvica, inclusive para su lectura y su valoración.

C A L C U L O S .

Ya sea que se trate de determinar los valores de la oxalacética o de la pirúvica, se procede del siguiente modo: se dividirán 500 entre -- el valor de la lectura del standard correspondiente (pirúvico y oxalacéti co), al resultado de esta relación se le denomina factor. Factor por la -- lectura de los problemas, menos lectura de los correspondientes testigos, igual a gamas/cc/20 min. de la correspondiente transaminasa. Las lecturas con el fotocolorímetro puesto a 0 de densidad óptica usando el blanco co -- rrespondiente para cada serie, se trate de oxalacética o pirúvica. Ade-- más filtro verde # 54.

En cuanto a métodos de la reacción de Hanger, por ser ésta bien conocida y de uso corriente sólo daremos una relación muy somera. Con res -- pecto a la de Sellek & Frade nos extenderemos un poco más por ser ésta una prueba relativamente nueva.

REACCION DE FLOCULACION CON CEFALIN COLESTEROL. HANGER.

Procedimiento: Poner en un vaso de precipitados de 50 ml. 38.5. ml. de agua destilada y llevarla a ebullición, retirar de la fuente de -- calentamiento y agregar gota a gota 1 ml. de la solución etérea del anti -- geno de cefalin colesterol (Diffco); con ebullición lenta dejarlo 2 minutos (para evaporar el éter) y luego enfriar a temperatura ambiente. Esta emul -- sión se prepara al momento de usarse. Para una serie de problemas se pone un blanco de reactivo, 4.2. ml. de solución de NaCl al 0.85% más un ml. -- del antígeno preparado. Para los problemas se ponen 4.0 ml. de la solu -- ción salina antes indicada y 0.2. ml. de suero problema. Agregar 1 ml. de antígeno preparado. Mezclar suavemente y dejar reposar a temperatura am -- biente en un lugar fresco y semi oscuro. Se hacen lecturas a las 24 horas. Se puede hacer una segunda lectura a las 48 horas. En este trabajo no se -- hizo lectura a las 48 horas. En este trabajo se hizo lectura única de 24- horas.

Interpretación: Negativo de cero a una cruz. Positivo de dos, -- tres o cuatro cruces.

SERO REACCION LE TURBIDEZ Y FLOCULACION DEL ACETATO DE COBRE. SELLEK Y -- FRADE.

La prueba está fundada en el hecho de que los sueros de pacien -- tes con ciertas enfermedades hepáticas cuando son adicionadas a una solu -- ción 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 reacción del acetato de cobre parece depender de una alteración cualitativa de las globulinas especialmente de la fracción gama, 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 solo positiva en pacientes con evidencia clínica de portar enfermedades hepáticas o que son sospechosas de tenerlas. Es evidente 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, sickle cell, insuficiencia cardíaca, etc. En individuos normales, sus resultados son negativos.

REACTIVOS:

- 1).- Solución de Acetato de Cobre. Se prepara disolviendo 200 mg. de acetato de cobre QF (Merck) en 500 ml. de agua bidestilada.
- 2).- La solución reactivo de acetato de cobre se prepara antes de su uso, tomando 2.5 ml. de la solución matriz y completar a 100 ml. con agua bidestilada. La solución matriz es muy estable y translúcida. Guardada en el refrigerador se conserva por tiempo indefinido y mantiene su potencia dando resultados uniformes.

Procedimiento: Colocar en un tubo de 13 x 100 mm. rigurosamente limpio 6 ml. de la solución reactiva y 0.1 ml. de suero fresco del paciente; se agita suavemente y se lee al colorímetro a los 20 minutos. Se regresan a sus tubos originales y se dejan en reposo de 18-24 horas, para apreciar la floculación. Normales para la turbidez de 0 a 3 unidades para la floculación de negativo a una cruz. Se usa para la lectura de la turbidez y la misma calibración, usada para leer la turbidez del timol.

APARATOS USADOS EN LAS DETERMINACIONES.

Espectrofotómetro Coleman Mod. 14.

Fotocolorímetro Evelyn.

Fotocolorímetro Klett.

Potenciómetro Beckman Mod. G.

Baño María Elconap.

Centrífuga International.

Balanza de Precisión Sartorius.

Agitador Mecánico tipo Kahn.

Cristalería: pipetas, matraces aforados Kimble línea azul, vasos de precipitados, tubos de ensaye de los tamaños citados.

C A P I T U L O III.- PRESENTACION DE LOS DATOS NUMERICOS DE LOS CASOS ESTUDIADOS.

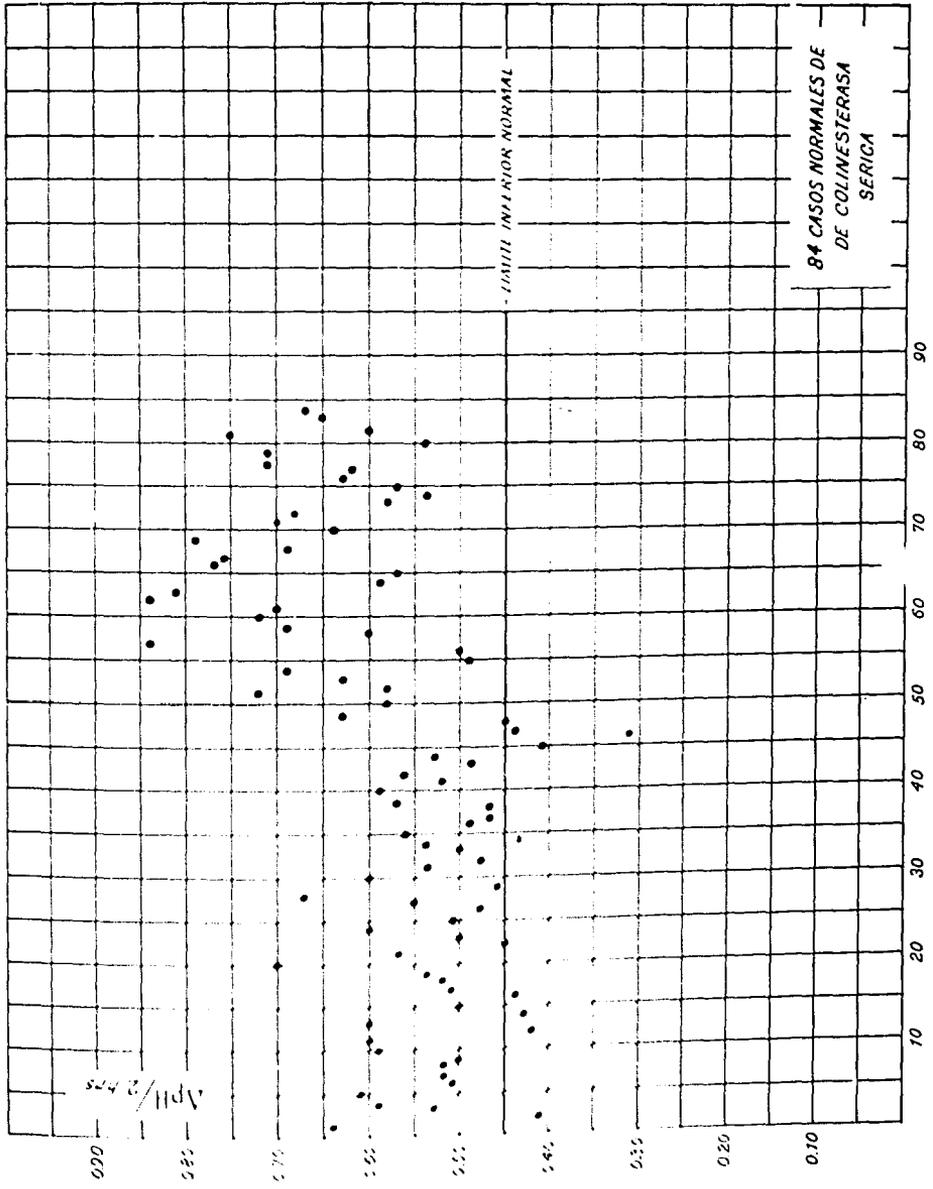
CUADRO DE LOS CASOS NORMALES.

Nom.	Sexo.	Diagnóstico clínico.	Colinesterasa sérica.	Acetilcolina	Cefalín Colesterol.	TSGF	TSGO
BOG	fem.	Hígado normal.	0.64 Δ pH 2 hrs.	0.21 neg.	neg.	19 1/2 cc.	12 1/2 cc.
JFM	fem.	Hígado normal.	0.41 Δ pH 2 hrs.	0.40 neg.	neg.	48 1/2 cc.	50 1/2 cc.
JBA	masc.	Hígado normal.	0.53 Δ pH 2 hrs.	1.0 neg.	neg.	38 1/2 cc.	50 1/2 cc.
GEG	masc.	Hígado normal.	0.59 Δ pH 2 hrs.	1.30 neg.	--	44 1/2 cc.	74 1/2 cc.
MEN	fem.	Hígado normal.	0.61 Δ pH 2 hrs.	1.10 neg.	--	7 1/2 cc.	13 1/2 cc.
POP	fem.	Hígado normal.	0.51 Δ pH 2 hrs.	1.11 neg.	--	37 1/2 cc.	34 1/2 cc.
GS	fem.	Hígado normal.	0.52 Δ pH 2 hrs.	2.50 +	+	27 1/2 cc.	47 1/2 cc.
CLT	fem.	Hígado normal.	0.52 Δ pH 2 hrs.	0.30 neg.	+	27 1/2 cc.	58 1/2 cc.
ECM	fem.	Hígado normal.	0.50 Δ pH 2 hrs.	1.11 neg.	+	19 1/2 cc.	40 1/2 cc.
MRC	masc.	Hígado normal.	0.59 Δ pH 2 hrs.	1.0 neg.	+	11 1/2 cc.	64 1/2 cc.
ARG	masc.	Hígado normal.	0.60 Δ pH 2 hrs.	1.0 neg.	+	10 1/2 cc.	22 1/2 cc.
LFW	masc.	Hígado normal.	0.42 Δ pH 2 hrs.	0.30 neg.	+	42 1/2 cc.	66 1/2 cc.
LEG	fem.	Hígado normal.	0.60 Δ pH 2 hrs.	1.10 neg.	+	21 1/2 cc.	22 1/2 cc.
MC	masc.	Hígado normal.	0.43 Δ pH 2 hrs.	0.30 +	++	33 1/2 cc.	70 1/2 cc.
EH	fem.	Hígado normal.	0.50 Δ pH 2 hrs.	1.30 +	++	82 1/2 cc.	28 1/2 cc.
GR	fem.	Hígado normal.	0.44 Δ pH 2 hrs.	1.30 +	++	115 1/2 cc.	56 1/2 cc.
LMGC	fem.	Hígado normal.	0.52 Δ pH 2 hrs.	1.11 neg.	+	45 1/2 cc.	36 1/2 cc.
CTP	fem.	Hígado normal.	0.52 Δ pH 2 hrs.	0.30 neg.	+	30 1/2 cc.	24 1/2 cc.
JRC	masc.	Hígado normal.	0.54 Δ pH 2 hrs.	0.40 neg.	+	84 1/2 cc.	53 1/2 cc.
LOR	fem.	Hígado normal.	0.70 Δ pH 2 hrs.	1.0 +	+	84 1/2 cc.	106 1/2 cc.
DRB	masc.	Hígado normal.	0.57 Δ pH 2 hrs.	1.41 +	+	18 1/2 cc.	20 1/2 cc.
DC	fem.	Hígado normal.	0.45 Δ pH 2 hrs.	1.41 +	+	40 1/2 cc.	120 1/2 cc.
AMC	masc.	Hígado normal.	0.50 Δ pH 2 hrs.	1.11 neg.	neg.	88 1/2 cc.	56 1/2 cc.
JR	masc.	Hígado normal.	0.60 Δ pH 2 hrs.	1.00 neg.	neg.	88 1/2 cc.	14 1/2 cc.
CJ	fem.	Hígado normal.	0.51 Δ pH 2 hrs.	1.10 +	neg.	44 1/2 cc.	18 1/2 cc.
EGC	fem.	Hígado normal.	0.48 Δ pH 2 hrs.	1.3 neg.	neg.	18 1/2 cc.	9 1/2 cc.
MMG	masc.	Hígado normal.	0.50 Δ pH 2 hrs.	1.30 +	neg.	18 1/2 cc.	87 1/2 cc.
RGP.	masc.	Hígado normal.	0.61 Δ pH 2 hrs.	1.41 neg.	neg.	13 1/2 cc.	18 1/2 cc.
AB	masc.	Hígado normal.	0.40 Δ pH 2 hrs.	0.40 neg.	neg.	33 1/2 cc.	9 1/2 cc.
IRM	masc.	Hígado normal.	0.60 Δ pH 2 hrs.	0.30 neg.	+	9 1/2 cc.	6 1/2 cc.
YDJ	fem.	Hígado normal.	0.54 Δ pH 2 hrs.	1.11 neg.	neg.	45 1/2 cc.	39 1/2 cc.
FMC	fem.	Hígado normal.	0.48 Δ pH 2 hrs.	0.30 +	neg.	36 1/2 cc.	52 1/2 cc.
MCP	masc.	Hígado normal.	0.50 Δ pH 2 hrs.	0.24 neg.	+	5 1/2 cc.	16 1/2 cc.
JMG	masc.	Hígado normal.	0.54 Δ pH 2 hrs.	0.24 neg.	+	33 1/2 cc.	33 1/2 cc.
AER	masc.	Hígado normal.	0.50 Δ pH 2 hrs.	0.10 neg.	+	22 1/2 cc.	11 1/2 cc.
MGH	masc.	Hígado normal.	0.49 Δ pH 2 hrs.	0.10 +	+	6 1/2 cc.	38 1/2 cc.
RSM	masc.	Hígado normal.	0.41 Δ pH 2 hrs.	0.40 neg.	+	6 1/2 cc.	38 1/2 cc.
EZY	masc.	Hígado normal.	0.41 Δ pH 2 hrs.	0.08 +	++	22 1/2 cc.	11 1/2 cc.
ATM	masc.	Hígado normal.	0.51 Δ pH 2 hrs.	1.0 +	+++	23 1/2 cc.	11 1/2 cc.
JFM	masc.	Hígado normal.	0.59 Δ pH 2 hrs.	0.30 neg.	+++	29 1/2 cc.	33 1/2 cc.
SZV	masc.	Hígado normal.	0.50 Δ pH 2 hrs.	1.0 neg.	+++	23 1/2 cc.	16 1/2 cc.
INR	masc.	Hígado normal.	0.50 Δ pH 2 hrs.	0.40 neg.	neg.	42 1/2 cc.	33 1/2 cc.
LYG	masc.	Hígado normal.	0.49 Δ pH 2 hrs.	0.30 neg.	+	16 1/2 cc.	2 1/2 cc.
LRC	masc.	Hígado normal.	0.51 Δ pH 2 hrs.	0.30 neg.	+	42 1/2 cc.	13 1/2 cc.
JHO	masc.	Hígado normal.	0.41 Δ pH 2 hrs.	0.1 neg.	++	15 1/2 cc.	27 1/2 cc.
AC	masc.	Hígado normal.	0.41 Δ pH 2 hrs.	0.15 neg.	+	15 1/2 cc.	16 1/2 cc.
AV	masc.	Hígado normal.	0.44 Δ pH 2 hrs.	0.10 neg.	neg.	10 1/2 cc.	11 1/2 cc.
JCR	masc.	Hígado normal.	0.45 Δ pH 2 hrs.	0.10 neg.	neg.	10 1/2 cc.	38 1/2 cc.
JCR	masc.	Hígado normal.	0.51 Δ pH 2 hrs.	0.24 neg.	neg.	7 1/2 cc.	22 1/2 cc.
AVV	masc.	Hígado normal.	0.50 Δ pH 2 hrs.	0.10 neg.	neg.	7 1/2 cc.	27 1/2 cc.

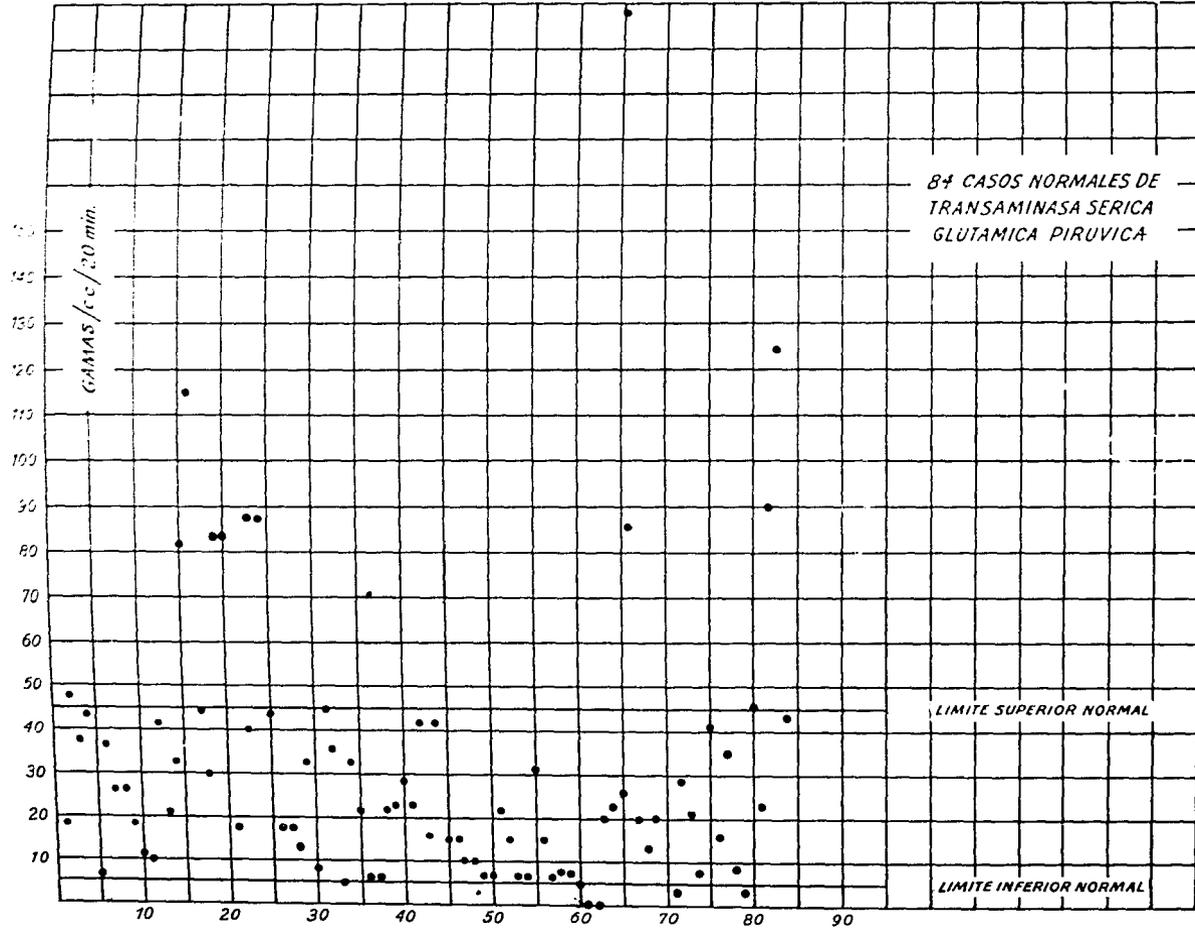
C O N T I N U A C I O N .

Nom.	Sexo.	Diagnóstico clínico.	Colinesterasa sérica.	Acetato de cobre.	Cefalin Colesterol	TSOP	TSGO
CL	fem.	Hígado normal.	0.72 ΔpH/2 hrs.	0.10 neg.	++	22 $\frac{1}{100}$	5 $\frac{1}{100}$
ACC	maso.	Hígado normal.	0.58 ΔpH/2 hrs.	0.56 neg.	neg.	15 $\frac{1}{100}$	5 $\frac{1}{100}$
JHO	maso.	Hígado normal.	0.63 ΔpH/2 hrs.	0.86 neg.	+	7 $\frac{1}{100}$	11 $\frac{1}{100}$
FAR	maso.	Hígado normal.	0.69 ΔpH/2 hrs.	0.40 neg.	neg.	7 $\frac{1}{100}$	6 $\frac{1}{100}$
REN	fem.	Hígado normal.	0.49 ΔpH/2 hrs.	0.0 neg.	neg.	31 $\frac{1}{100}$	30 $\frac{1}{100}$
CGP	maso.	Hígado normal.	0.50 ΔpH/2 hrs.	0.56 neg.	neg.	15 $\frac{1}{100}$	24 $\frac{1}{100}$
DEC	maso.	Hígado normal.	0.84 ΔpH/2 hrs.	0.10 neg.	neg.	7 $\frac{1}{100}$	18 $\frac{1}{100}$
JCO	maso.	Hígado normal.	0.60 ΔpH/2 hrs.	0.40 neg.	+	8 $\frac{1}{100}$	12 $\frac{1}{100}$
ALC	maso.	Hígado normal.	0.69 ΔpH/2 hrs.	0.24 neg.	neg.	8 $\frac{1}{100}$	11 $\frac{1}{100}$
MHV	fem.	Hígado normal.	0.72 ΔpH/2 hrs.	0.16 neg.	++	5 $\frac{1}{100}$	5 $\frac{1}{100}$
EMZ	fem.	Hígado normal.	0.70 ΔpH/2 hrs.	1.12 neg.	+	0 $\frac{1}{100}$	69 $\frac{1}{100}$
JGO	fem.	Hígado normal.	0.84 ΔpH/2 hrs.	0.10 neg.	+	0 $\frac{1}{100}$	47 $\frac{1}{100}$
MVR	fem.	Hígado normal.	0.81 ΔpH/2 hrs.	0.24 neg.	++	20 $\frac{1}{100}$	26 $\frac{1}{100}$
JOT	maso.	Hígado normal.	0.59 ΔpH/2 hrs.	0.68 neg.	+	23 $\frac{1}{100}$	102 $\frac{1}{100}$
JFN	fem.	Hígado normal.	0.57 ΔpH/2 hrs.	1.0 neg.	neg.	26 $\frac{1}{100}$	00 $\frac{1}{100}$
CFC	fem.	Hígado normal.	0.77 ΔpH/2 hrs.	0.40 neg.	+	86 $\frac{1}{100}$	27 $\frac{1}{100}$
PM	maso.	Hígado normal.	0.76 ΔpH/2 hrs.	0.68 neg.	+	20 $\frac{1}{100}$	6 $\frac{1}{100}$
CGP	fem.	Hígado normal.	0.69 ΔpH/2 hrs.	0.68 neg.	+	13 $\frac{1}{100}$	22 $\frac{1}{100}$
RBC	fem.	Hígado normal.	0.79 ΔpH/2 hrs.	0.86 neg.	+	20 $\frac{1}{100}$	38 $\frac{1}{100}$
NOA	maso.	Hígado normal.	0.64 ΔpH/2 hrs.	0.40 neg.	neg.	no	14 $\frac{1}{100}$
JRB	maso.	Hígado normal.	0.70 ΔpH/2 hrs.	0.86 neg.	neg.	3 $\frac{1}{100}$	16 $\frac{1}{100}$
DRL	fem.	Hígado normal.	0.68 ΔpH/2 hrs.	0.10 neg.	+	29 $\frac{1}{100}$	11 $\frac{1}{100}$
FRP	maso.	Hígado normal.	0.58 ΔpH/2 hrs.	0.86 neg.	neg.	21 $\frac{1}{100}$	11 $\frac{1}{100}$
JOB	maso.	Hígado normal.	0.54 ΔpH/2 hrs.	0.40 neg.	neg.	8 $\frac{1}{100}$	31 $\frac{1}{100}$
FEM	fem.	Hígado normal.	0.57 ΔpH/2 hrs.	0.68 neg.	neg.	41 $\frac{1}{100}$	112 $\frac{1}{100}$
LAD	maso.	Hígado normal.	0.63 ΔpH/2 hrs.	0.56 neg.	neg.	16 $\frac{1}{100}$	7 $\frac{1}{100}$
HIA	maso.	Hígado normal.	0.62 ΔpH/2 hrs.	0.86 neg.	neg.	35 $\frac{1}{100}$	9 $\frac{1}{100}$
DO	maso.	Hígado normal.	0.71 ΔpH/2 hrs.	0.68 neg.	neg.	9 $\frac{1}{100}$	66 $\frac{1}{100}$
IBM	maso.	Hígado normal.	0.71 ΔpH/2 hrs.	4.0 neg.	neg.	3 $\frac{1}{100}$	86 $\frac{1}{100}$
HJR	maso.	Hígado normal.	0.59 ΔpH/2 hrs.	4.76 +	neg.	46 $\frac{1}{100}$	11 $\frac{1}{100}$
GOR	maso.	Hígado normal.	0.75 ΔpH/2 hrs.	1.92 neg.	neg.	23 $\frac{1}{100}$	7 $\frac{1}{100}$
HSG	fem.	Hígado normal.	0.60 ΔpH/2 hrs.	2.42 neg.	neg.	90 $\frac{1}{100}$	36 $\frac{1}{100}$
PFS	maso.	Hígado normal.	0.65 ΔpH/2 hrs.	2.76 neg.	neg.	124 $\frac{1}{100}$	95 $\frac{1}{100}$
LAO	maso.	Hígado normal.	0.67 ΔpH/2 hrs.	1.64 neg.	neg.	43 $\frac{1}{100}$	120 $\frac{1}{100}$

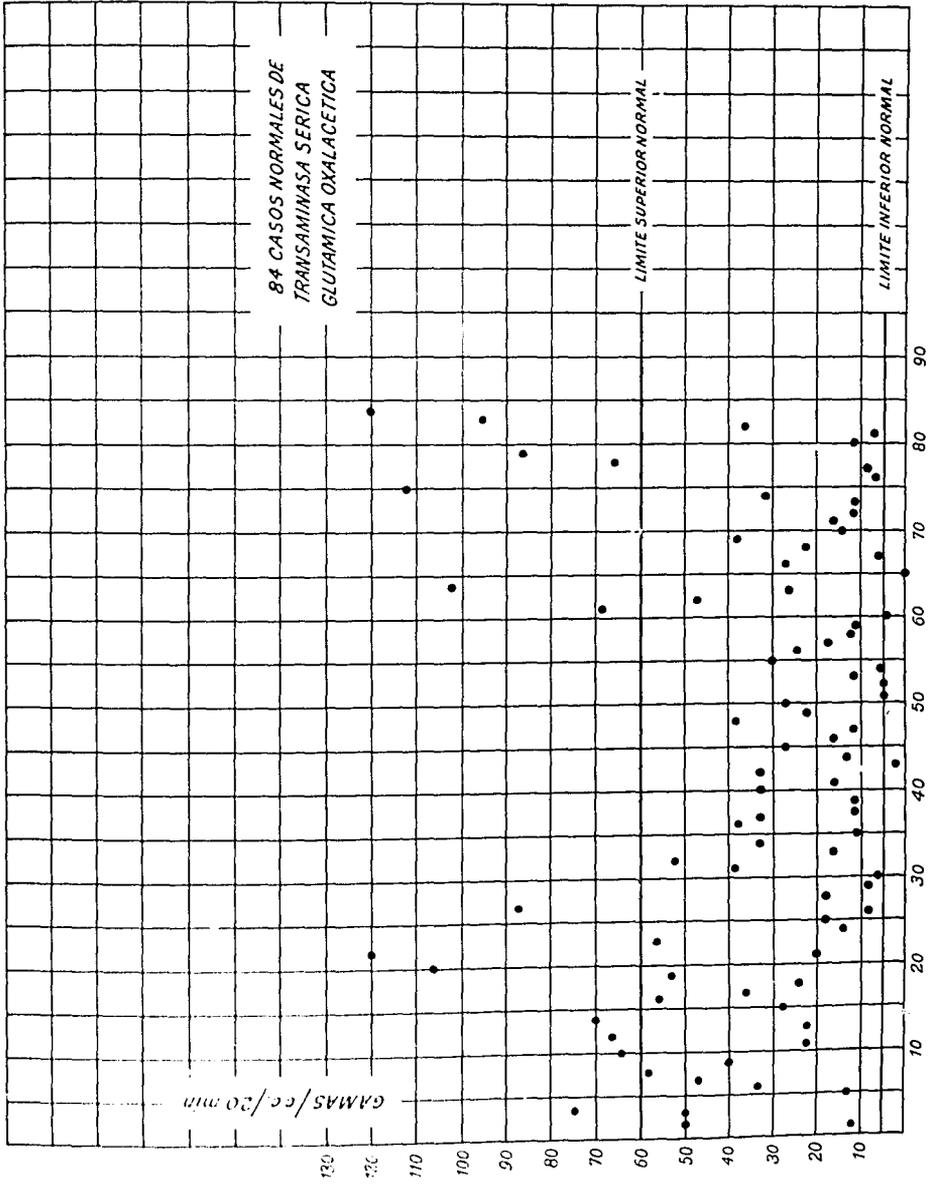
GRAFICA No. 3



GRAFICA No. 4



GRAFICA No. 5



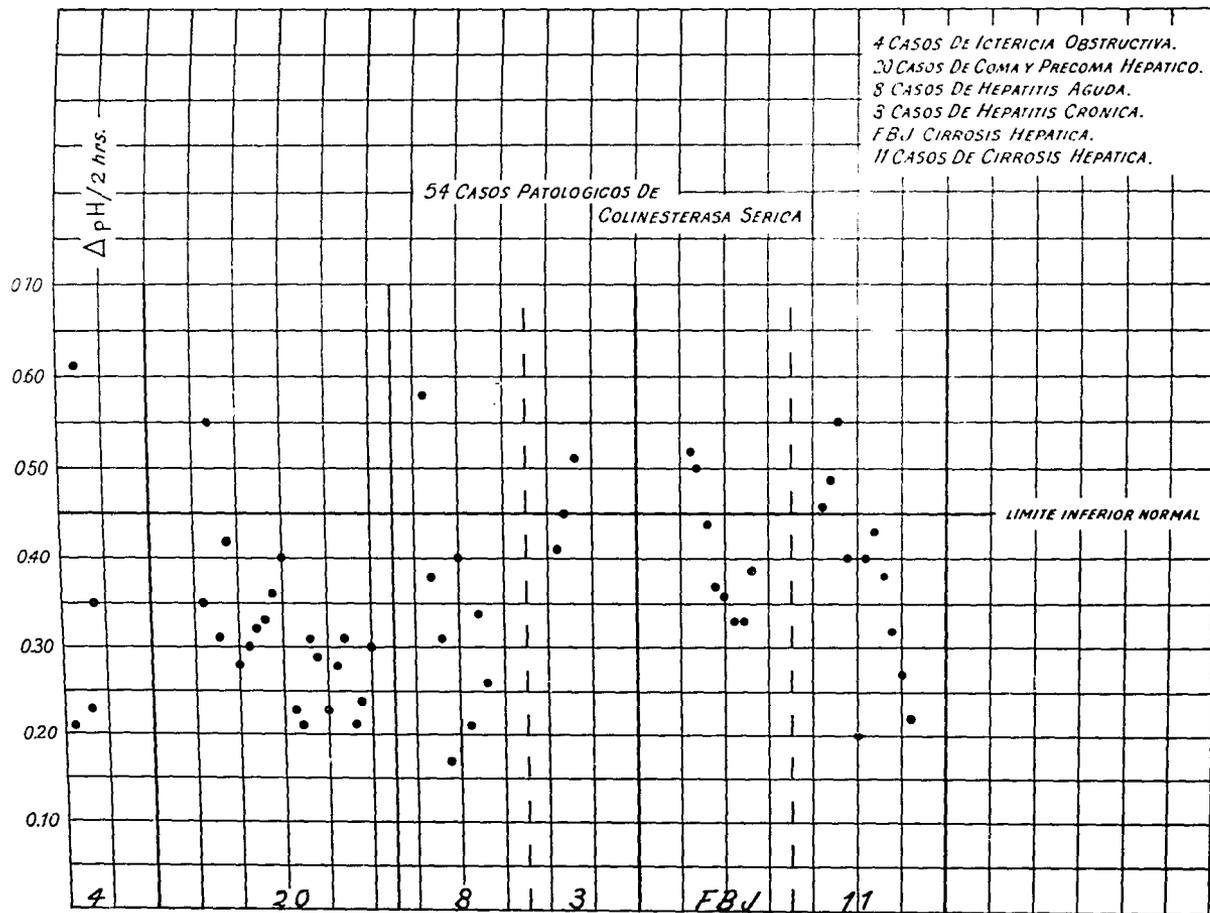
CUADRO DE LOS CASOS PATOLOGICOS.

Nom.	Sexo.	Diagnóstico clínico.	Colinesterasa sérica.	Acetato de cobre.	Cefalín. Colesterol.	TSQP.	TSQO.
EVV	fem.	Ictericia	Obst.0.21 ΔpH/2	hrs. 4.0 ++	+	32 %/oo.	15 %/oo.
ON	fem.	Ictericia	Obst.0.41 ΔpH/2	hrs. 1.12 neg.	neg.	6 %/oo.	26 %/oo.
AHG	fem.	Ictericia	Obst.0.23 ΔpH/2	hrs. 4.38 +++	neg.	36 %/oo.	60 %/oo.
OML	fem.	Ictericia	Obst.0.35 ΔpH/2	hrs. 1.30 neg.	neg.	66 %/oo.	44 %/oo.
DAC	masc.	Coma hepático.	0.35 ΔpH/2	hrs. 0.86 neg.	++++	118 %/oo.	144 %/oo.
DAC	masc.	Coma hepático.	0.55 ΔpH/2	hrs. 3.64 +++	+++	110 %/oo.	74 %/oo.
DAC	masc.	Coma hepático.	0.31 ΔpH/2	hrs. 6.68 ++++	+++	40 %/oo.	116 %/oo.
FCO	fem.	Coma hepático.	0.42 ΔpH/2	hrs. 10.3 ++++	+++	56 %/oo.	60 %/oo.
RVP	masc.	Coma hepático.	0.28 ΔpH/2	hrs. 6.26 ++	+++	29 %/oo.	83 %/oo.
RVP	masc.	Coma hepático.	0.30 ΔpH/2	hrs. 1.85 +++	+++	24 %/oo.	195 %/oo.
RVP	masc.	Coma hepático.	0.32 ΔpH/2	hrs. 5.0 +++	++++	56 %/oo.	40 %/oo.
JGZ	masc.	Coma hepático.	0.33 ΔpH/2	hrs. 4.76 +++	++++	63 %/oo.	120 %/oo.
LPR	fem.	Coma hepático.	0.36 ΔpH/2	hrs. 1.92 +++	++++	165 %/oo.	119 %/oo.
LPR	fem.	Coma hepático.	0.40 ΔpH/2	hrs. 5.6 +++	+++	32 %/oo.	68 %/oo.
LPR	fem.	Coma hepático.	0.23 ΔpH/2	hrs. 0.86 neg.	+++	106 %/oo.	161 %/oo.
HEJ	fem.	Coma hepático.	0.21 ΔpH/2	hrs. 11.1 +++	++++	40 %/oo.	57 %/oo.
DTO	masc.	Precoma hepát.	0.31 ΔpH/2	hrs. 4.76 ++	++	12 %/oo.	90 %/oo.
DTO	masc.	Precoma hepát.	0.29 ΔpH/2	hrs. 3.64 ++	++	46 %/oo.	34 %/oo.
MRC.	masc.	Precoma hepát.	0.23 ΔpH/2	hrs. 9.16 +++	++++	34 %/oo.	53 %/oo.
MRC.	masc.	Precoma Hepát.	0.28 ΔpH/2	hrs. 8.35 +++	+++	52 %/oo.	50 %/oo.
MO	masc.	Precoma Hepát.	0.31 ΔpH/2	hrs. 2.26 neg.	+	21 %/oo.	49 %/oo.
HEJ	fem.	Precoma hepát.	0.24 ΔpH/2	hrs. 3.46 ++	+++	284 %/oo.	53 %/oo.
HEJ	fem.	Precoma hepát.	0.30 ΔpH/2	hrs. 6.48 +++	++++	34 %/oo.	23 %/oo.
CAS	fem.	Hepatitis agud.	0.58 ΔpH/2	hrs. 6.26 ++++	++++	20 %/oo.	178 %/oo.
QVJ	masc.	Hepatitis agud.	0.38 ΔpH/2	hrs. 0.13 neg.	+++	24 %/oo.	73 %/oo.
MBA	masc.	Hepatitis agud.	0.31 ΔpH/2	hrs. 2.56 +++	+++	830 %/oo.	598 %/oo.
MFP	masc.	Hepatitis agud.	0.17 ΔpH/2	hrs. 3.64 +++	++++	555 %/oo.	262 %/oo.
ATL	masc.	Hepatitis agud.	0.40 ΔpH/2	hrs. 4.76 +++	+++	127 %/oo.	137 %/oo.
CJP	masc.	Hepatitis agud.	0.21 ΔpH/2	hrs. 1.30 ++	++	157 %/oo.	81 %/oo.
MEQ	masc.	Hepatitis agud.	0.34 ΔpH/2	hrs. 1.30 ++	++	837 %/oo.	284 %/oo.
IB	masc.	Hepatitis agud.	0.26 ΔpH/2	hrs. 10.7 +++	++++	439 %/oo.	251 %/oo.
OR	fem.	Hepatitis crón.	0.41 ΔpH/2	hrs. 5.2 +++	+++	80 %/oo.	110 %/oo.
JVO	masc.	Hepatitis crón.	0.45 ΔpH/2	hrs. 1.0 neg.	neg.	48 %/oo.	56 %/oo.
CPO	masc.	Hepatitis crón.	0.51 ΔpH/2	hrs. 2.28 neg.	neg.	32 %/oo.	97 %/oo.
FBJ	masc.	Cirrosis hep.	0.52 ΔpH/2	hrs. 3.64 +++	+++	110 %/oo.	74 %/oo.
FBJ	masc.	Cirrosis hep.	0.50 ΔpH/2	hrs. 6.26 ++++	++++	20 %/oo.	152 %/oo.
FBJ	masc.	Cirrosis hep.	0.44 ΔpH/2	hrs. 11.6 ++++	+++	56 %/oo.	26 %/oo.
FBJ	masc.	Cirrosis hep.	0.37 ΔpH/2	hrs. 2.28 +	+++	10 %/oo.	28 %/oo.
FBJ	masc.	Cirrosis hep.	0.36 ΔpH/2	hrs. 0.40 neg.	++++	31 %/oo.	30 %/oo.
FBJ	masc.	Cirrosis hep.	0.33 ΔpH/2	hrs. 0.86 neg.	neg.	23 %/oo.	49 %/oo.
FBJ	masc.	Cirrosis hep.	0.33 ΔpH/2	hrs. 5.0 +++	+	127 %/oo.	47 %/oo.
FBJ	masc.	Cirrosis hep.	0.39 ΔpH/2	hrs. 5.4 ++	++	94 %/oo.	48 %/oo.
AVB	fem.	Cirrosis hep.	0.46 ΔpH/2	hrs. 1.46 neg.	++	42 %/oo.	24 %/oo.

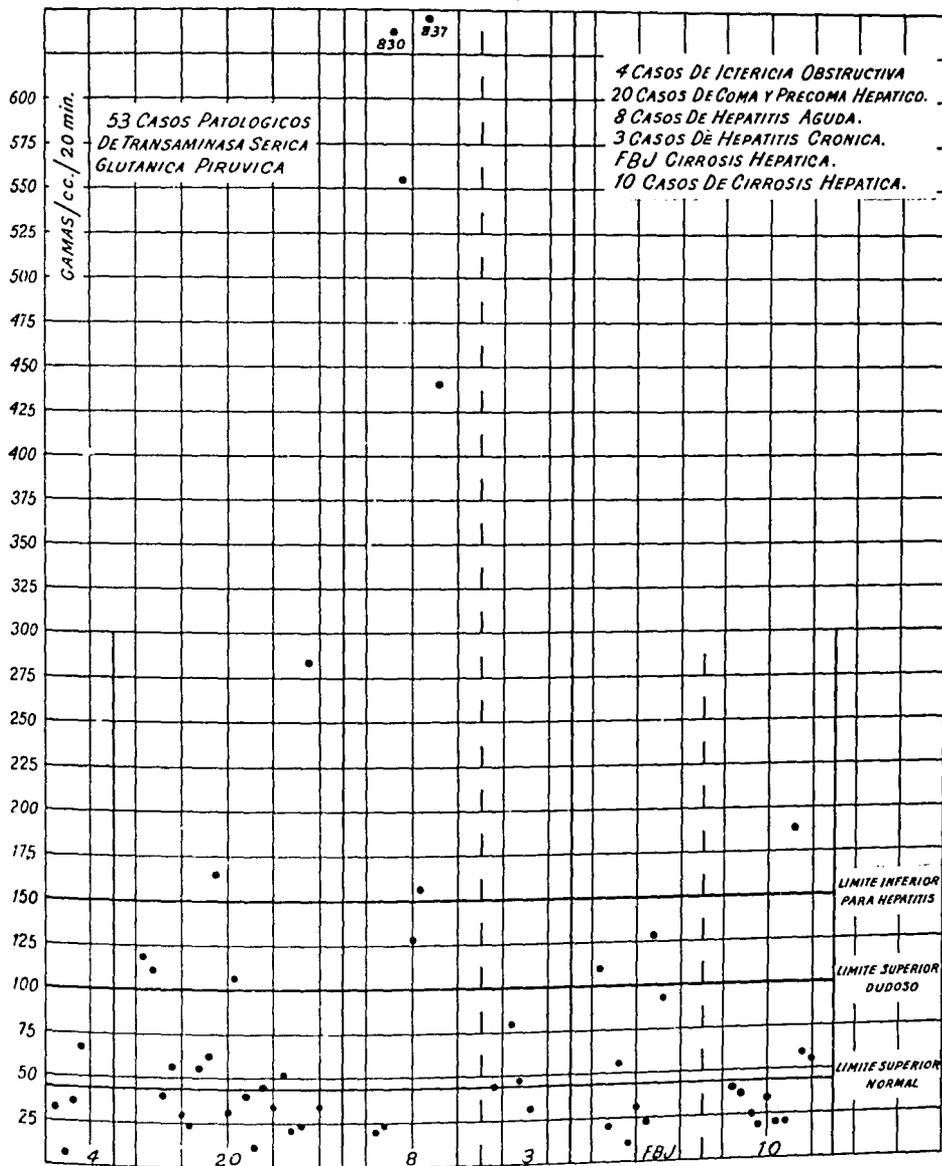
C O N T I N U A C I O N .

Nom.	Sexo.	Diagnóstico clínico.	Colinesterasa sérica.	Acetato de cobre.	Cefalín. Colesterol.	TSGP.	TSGO
JOA	fem.	Cirrosis hep.	0.49 ΔpH/2 hrs.	3.28 neg.	++++	37 %/cc.	81 %/cc.
CP	masc.	Cirrosis hep.	0.55 ΔpH/2 hrs.	0.40 neg.	+++	25 %/cc.	15 %/cc.
NGG	masc.	Cirrosis hep.	0.40 ΔpH/2 hrs.	10.3 +++	++	18 %/cc.	37 %/cc.
CMS	masc.	Cirrosis hep.	0.20 ΔpH/2 hrs.	3.08 +++	++++	34 %/cc.	106 %/cc.
ERR	fem.	Cirrosis hep.	0.40 ΔpH/2 hrs.	4.38 +++	+++	20 %/cc.	96 %/cc.
ABJ	masc.	Cirrosis hep.	0.43 ΔpH/2 hrs.	6.48 +++	neg.	60 %/cc.	24 %/cc.
MSR	fem.	Cirrosis hep.	0.38 ΔpH/2 hrs.	16.0 +++	++++	20 %/cc.	152 %/cc.
HAV	fem.	Cirrosis hep.	0.32 ΔpH/2 hrs.	4.0 +++	++++	187 %/cc.	156 %/cc.
FLL	masc.	Cirrosis hep.	0.27 ΔpH/2 hrs.	8.62 +++	+++	-	-
CGC	fem.	Cirrosis hep.	0.22 ΔpH/2 hrs.	3.64 +++	+++	56 %/cc.	37 %/cc.

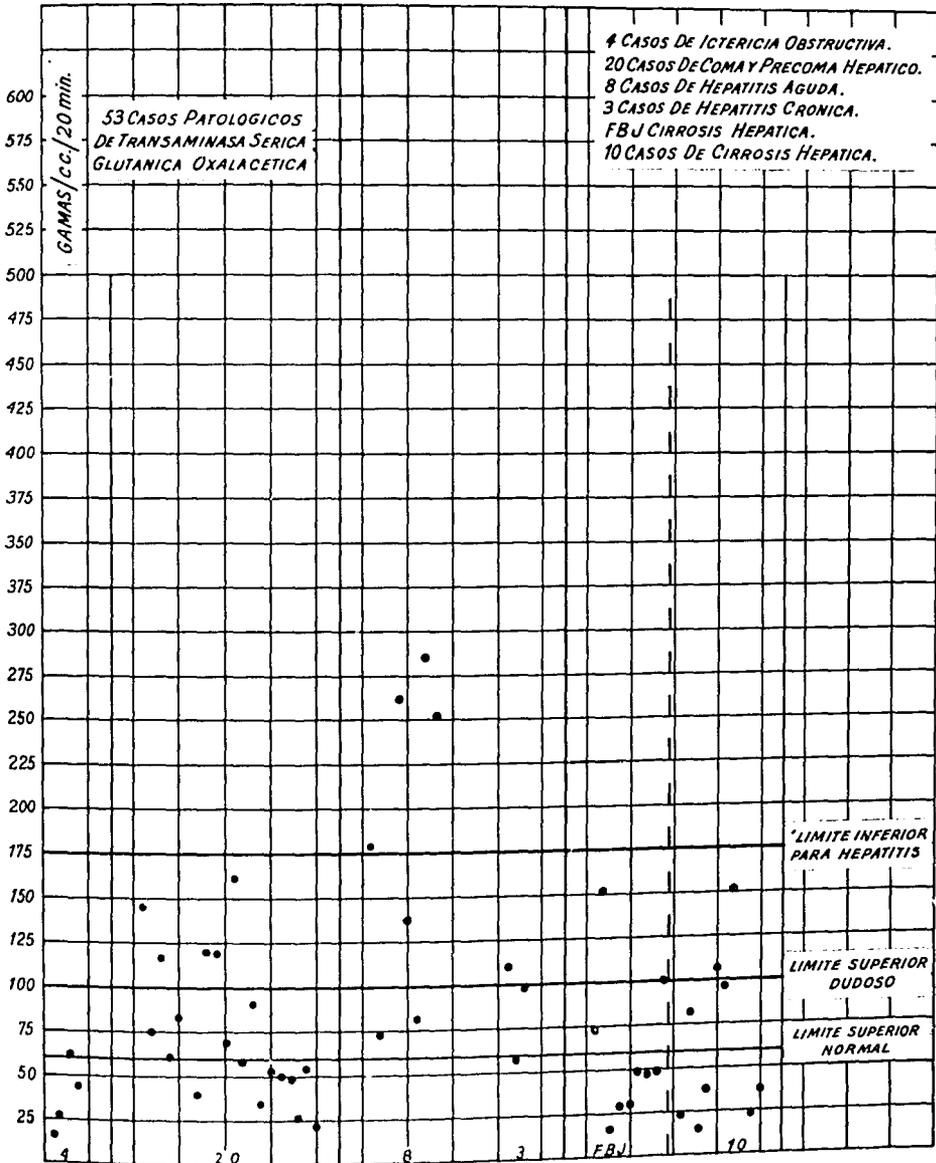
GRAFICA No.6



GRAFICA No. 7



GRAFICA No. 8



C A P I T U L O IV.- ENSAYO INTERPRETATIVO DE LOS DATOS PRESENTADOS.

Estudio de los datos NORMALES para COLINESTERASA.

Numéricamente son 84 casos.- En ellos quedan comprendidas diversas edades y ambos sexos. Las personas fueron clínicamente estudiadas y desde este punto de vista se consideraron sanos y especialmente que no tenían padecimientos hepatobiliares.

Normales para colinesterasa. Encontramos cifras extremas de $0.84 \Delta \text{pH}/2$ hrs. (dos casos) como máxima y $0.32 \Delta \text{pH}/2$ horas. (un caso) como mínima (ver gráfica # 3). Por observación de la misma se desprende que de la cifra de $0.45 \Delta \text{pH}/2$ horas. hasta $0.65 \Delta \text{pH}/2$ horas, quedan comprendidos el mayor grupo numérico (60) de casos normales y es particularmente interesante ver que de $0.45 \Delta \text{pH}$ hacia abajo, es decir, valores menores a 0.45 el número de casos encontrados es muy escaso. (7). Quedando este valor como límite inferior de normalidad para la colinesterasa sérica. Coincidiendo estos valores con los citados por los autores Molander, Friedman, & Ladue (7).

Estudio de los valores NORMALES para TRANSAMINASA SERICA GLUTAMICA OXALACETICA.

Como las determinaciones tanto normales como patológicas se verificaron en los mismos individuos para todas las pruebas, el número de las determinaciones es siempre el mismo.

Los valores encontrados quedan comprendidos (ver gráfica # 5) entre 5 y 60 gamas/cc/20 min., ya que en un total de 84 casos sólo encontramos 3 de ellos por debajo de 5 gamas/cc/20 min., y por encima de 60 gamas/cc/20 min. sólo 13 casos, quedándonos la mayoría de los casos (68) dentro de los límites dados.

En lo referente a la TRANSAMINASA SERICA GLUTAMICA PIRUVICA podemos decir lo mismo en cuanto al límite bajo, es decir, 5 gamas/cc/20 min. ya que por debajo de esta cifra solamente encontramos 4 casos (ver gráfica 4); ahora el límite superior que consideramos 45 gamas/cc/20 min., ya que sólo hay 10 casos fuera de este límite, quedándonos 70 de ellos dentro de él (5 gamas/cc/20 min. a 45 gamas/cc/20 min) (ver gráfica 4). Por la observación de muchos enfermos del servicio de Gastroenterología e Infecciosos nos hemos formado la idea de que hay muchos padecimientos del tipo de ictericia no viral cuyas cifras generalmente no rebasan la concentración de 150 gamas/cc/20 min, en lo que se refiere a la transaminasa pirúvica y de 175 gamas/cc/20 min. tratándose de la oxalacética. Finalmente diremos que muchos padecimientos aún de origen no hepático, pueden presentar elevación de las cifras hasta la cercanía de 100 gamas/cc/20 min., por lo que esta zona comprendida entre la normal y esta última cifra, tiene una semiología clínica de poca significación. Lo dicho puede comprobarse en las gráficas # 7 y 8.

Por lo que se refiere a los valores normales de las pruebas de TURBIEDAD Y FLOCULACION sólo nos ocuparemos del ACETATO DE COBRE ya que las demás tienen fijadas sus cifras normales desde hace tiempo; por los resultados obtenidos en las determinaciones normales encontramos que la cifra superior para considerar la turbiedad normal es de 3 unidades difiriendo con los autores Sellek A. y Frade A. (16) que dan la cifra de 4 unidades.

Estudio de los datos PATOLOGICOS.

Por razones obvias no fue posible hacer que las cifras de padecimiento: de ictericia obstructiva, de precoma y coma hepático, de hepatitis crónica y aguda y de cirrosis hepática fuesen numéricamente iguales - como hubiese sido lo deseable; por otro lado debemos aclarar que en la presentación gráfica de los valores de $\Delta pH/2$ hrs., correspondientes a los casos patológicos, figuran representaciones de una misma persona, repetidas, (FBJ ocho determinaciones), que fueron tomadas en diversas fechas y que nos dan un aspecto del estado evolutivo de su enfermedad (ver gráfica # 6).

De los cuatro casos de ictericia obstructiva estudiados, tres - presentan una cifra de ΔpH por abajo del límite inferior normal, sólo uno de ellos por encima de dicho límite. En cambio las transaminasas se quedan dentro del límite normal con excepción de un sólo caso de transaminasa pirúvica (ver gráficas # 7 y 8). Este hecho, aun cuando se pueden contar muy pocos casos, nos permite observar que tratándose de ictericias obstructivas, las transaminasas permanecen normales mientras la colinesterasa se encuentra patológica.

En cuanto a las pruebas de turbiedad-floculación tenemos que la prueba del Acetato desde el punto de vista de la turbiedad es positiva en un caso. Desde el punto de vista de la floculación el Acetato es positivo en dos casos, y el Cefalín Colesterol en uno (ver tabla # 3).

De los 20 especímenes correspondientes a los diagnósticos de Coma y Precoma hepático observamos que en las determinaciones de Colinesterasa casi su totalidad (sólo un caso) no tiene cifras patológicas de $\Delta pH/2$ hrs. Las transaminasas quedan en 5 casos dudosos para la pirúvica y 6 para la oxalacética, tomando como límite superior dudoso el de 100 gamas/cc/20 min. según lo aclarado en el inciso de cifras normales para Transaminasas. Refiriéndonos a las pruebas de Turbiedad-Floculación tenemos para el Acetato 14 casos positivos, de tres unidades o más, esto en cuanto a turbiedad; ahora bien, tratándose de floculación observamos para el Acetato 16 los positivos, y el Cefalín Colesterol es positivo en 29 de ellos.

En las hepatitis agudas y crónicas (11 casos en total) de los - cuales 8 de ellos son agudos y 3 crónicos. Observamos que 7 de los 8 casos tienen el pH patológico; las Transaminasas sólo consideramos las cifras que se hallen por arriba de 250 gamas /cc/20 min. Esto no es una determinación arbitraria sino que está tomado de experiencia estadísticas, naturalmente que este concepto se refiere exclusivamente a los casos de hepatitis viral. Una vez hecha esta aclaración encontramos que 4 de los casos están por encima de esta cifra para la pirúvica, y otros 4 para la oxalacética. - Lo dicho anteriormente se puede corroborar en las gráficas # 7 y 8. En las pruebas de turbiedad-floculación encontramos para el Acetato 4 casos con cifras por arriba de 3 unidades; en cuanto a la floculación y tratándose del Acetato son 7 casos positivos; y del Cefalín-Colesterol también 7 son positivos.

En las hepatitis crónicas: vemos que los datos sobre Colinesterasa en uno de los casos se encuentran en el límite de lo normal y lo patológico (0.45 $\Delta pH/2$ horas); otro se encuentra por encima de éste y el otro dentro de las cifras patológicas. Las transaminasas pirúvicas se encuentran normales, las oxalacéticas también; tomando las cifras de 250 gamas/cc/20-

min. límite convencional sobre el cual se consideran posibles hepatitis agudas.

Ahora bien, hay que hacer notar que entre 100 y 250 gamas cc/20 min. se encuentran dos casos para la oxalacética y uno para la pirúvica. Las pruebas de turbiedad-floculación para el Acetato sólo un ca so está por encima de 3 unidades; tratándose de floculación para el Acetato nada más un caso es positivo, lo mismo que para el Cefalín Coleste rol.

En los casos de cirrosis hepática tenemos el caso del enfermo FBJ que como se dijo anteriormente fue seguido desde que lo internaron (8 tomas); y observamos lo siguiente: para cifras de Δ pH/2 horas, 2 de ellas se encuentran dentro de lo normal, que son las primeras, pero siem pre descendiendo y las subsecuentes son francamente patológicas. Las transaminasas: la pirúvica sólo se encuentra patológica en tres de las tomas pero sin rebasar el límite establecido para las ictericias vira les (250 gama/cc/20 min.) en la oxalacética sólo sucede en dos de las tomas y en las mismas circunstancias. Para las pruebas de turbiedad-floculación, el Acetato de Cobre 5 de las tomas se encuentran con ci fras superiores a 3 unidades; en cuanto a floculación para el Acetato son igualmente 5 positivas, y el Cefalín Colesterol es positivo en 6.

Ahora bien, para los demás casos de cirrosis hepática y refiriéndonos a Δ pH/2 horas 7 de los 10 casos tienen cifras patológicas. Pa ra las transaminasas, tanto la pirúvica como la oxalacética son norma les con excepción de un caso de transaminasa oxalacética. Refiriéndonos a las pruebas de turbiedad-floculación, la turbiedad del Acetato es pa tológico en 6 casos. En cuanto a la floculación, el Acetato es positivo en 8 casos, y el Cefalín Colesterol en 9 de ellos.

Como hemos venido observando durante la reseña de los resultados obtenidos, tanto patológicos como normales, podemos verter estas opi niones: en lo que se refiere a las pruebas de turbiedad-floculación Ac etato de Cobre y Cefalín Colesterol, vemos en nuestra casuística (54 ca sos) si tomamos la frecuencia de valores patológicos para estas pruebas como índice de sensibilidad; tendremos en primer término el Acetato de Co Cefalín Colesterol con 41 casos positivos, siguiéndole el Acetato de Co bre con 39, esto es, en su aspecto de floculación. Sin embargo, exhi biendo el Cefalín Colesterol, una sensibilidad superior a las otras prue bas, en cuanto a su especificidad, valorada en los casos normales. Se ve que deja mucho que desear puesto que se registran 15 de ellos patol ógicos del total que son 84 casos normales. En este aspecto la supera francamente la prueba del Acetato de Cobre con dos casos positivos.

Para terminar, diremos que en el aspecto de turbiedad, el Ac etato de Cobre muestra gran densidad ya que en 54 casos patológicos, en 35 demuestra lesión hepática.

Ahora bien, si juzgamos su especificidad estudiada en los 84 ca sos normales, vemos que el Acetato da 3 casos con cifras superiores a 3 unidades, límite normal. Debemos hacer notar, contra la costumbre que hay que considerar en las pruebas de turbiedad floculación para te ner una indicación patológica de darle más importancia a la turbiedad que a la floculación; sin embargo, queda demostrado en el presente trabajo, lo contrario, para la prueba del Acetato a juzgar por las siguientes -

cifras, ya que éstas son numéricamente mayores para el aspecto flocculativo. De 54 casos patológicos, dan 39 el Acetato con flocculación positiva (de 2 a 4 cruces) contra 35 del Acetato con turbiedad positiva (más de 3 unidades)

C A F I T U L O V.- CONCLUSIONES.

1°.- En nuestro concepto habrá que hacer modificaciones a la técnica propuesta por los autores Molander, Friedman, Ladue (7) para — que sea posible usar el colorímetro como sustituto del potenciómetro — con la finalidad de obtener los valores de $\Delta pH/2$ hrs, que cumpla los — conceptos de exactitud y reproducibilidad y para que las lecturas — efectuadas en los sueros problemas queden dentro de la curva patrón.

2°.- Por los datos obtenidos en los casos patológicos, relacionándolos con los normales, nos permiten asentar que la prueba de la Colinesterasa sérica tiene un gran valor para inducir al clínico a pensar en un padecimiento hepático cuando su valor es inferior a 0.45 — $\Delta pH/2$ hrs. Cualquiera que sea su etiología.

3°.- Como auxiliar en el diagnóstico diferencial de las hepatopatías (especialmente icterígenas) carece de todo valor (ver gráfica # 6) ya que en todos los estados patológicos (hepatopatías) las — cifras de $\Delta pH/2$ hrs. que les corresponden, quedan comprendidas, independientemente del padecimiento entre 0.44 y 0.17 $\Delta pH/2$ hrs.

4°.- Las transaminasas en su aspecto cuantitativo sí tienen valor para el diagnóstico diferencial en las hepatopatías icterígenas (ver gráficas 7 y 8) ya que en las hepatitis agudas, es posible encontrar cifras elevadas.

5°.- La prueba del Acetato de Cobre especialmente en su variedad de floculación es una excelente prueba para demostrar daño hepático como la evidente ventaja sobre las otras aquí citadas: de su — ínfimo costo la estabilidad indefinida del reactivo, su especificidad, sensibilidad y su sencilla ejecución.

6°.- La prueba de la colinesterasa, insistimos, es superior a las demás pruebas estudiadas en el presente trabajo, ya que de 54 — casos patológicos, 43 demuestran al ΔpH por abajo del límite inferior-normal. Siguiéndole la prueba del Cefalín Colesterol con 41 casos, — pero con el inconveniente de especificidad escasa. Luego el Acetato — de Cobre con 39 casos de floculación y 35 de turbiedad. Después las — transaminasas SGP y SGO con 22 y 24 casos juzgados entre 100 y 250 gomas /cc/20 min.; pero tienen una gran ventaja: sus posibilidades para el diagnóstico, en lo cual son únicas.

C A P I T U L O VI.- BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Dale H.H.: The action of certain esters and ethers of choline, and their relation to muscarine, J. Pharmacol and Exper. — The rap. 6: 147, 1914.
- 2.- Alles G.A.: and Hawes R.C.: Cholinesterases in the blood of man. J. Biol. Chem. 133: 275, 1940.
- 3.- McNaughton R. A. and Zeller J.A.: On the especificity and differentiation of cholinesterase, Proc. Soc. Exper. Biol. and — Med 38: 363, 1938.
- 4.- Sawyer C.H. and Everett J.W.: Cholinesterase in rat tissues and site of serum non-specific cholinesterase production. Am.— J. Physiol. 148:675, 1947.
- 5.- Ammon R.: Die fermentative Spaltung des Acetylcholins. Arch. ges — physiol. 233: 486, 1933.
- 6.- Michel H.C.: And electrometric method for the determination of red-Blood and Plasma Cholinesterase activity. J. Lab & Clin. Med. 34:1564, 1949.
- 7.- Molander D.W. Friedman M.M. and Ladue J. S.: Serum cholinesterase — in Hepatic and Neoplastic Diseases: A preliminary report. Ann. Int. Med. 42: 1139 (dec). 1954.
- 8.- Schiffrin A., Tuchman L. and Antopol W.: Diagnostic values of serum-cholinesterase determination in jaundice and in cirrhosis of the liver. Am. J. Dig. Dis. 9.342, 1942.
- 9.- Orellana Alcalde J.M.; Serum cholinesterase determination in the differential diagnosis of jaundice. J. Lab. and Clin. Med.— 36: 391,1950.
- 10.- Mann J.D. Mandel W.I., Eichman P.L. Knowlton M.A. and Sborov V. M.:— Serum cholinesterase activity in liver disease, J. Lab — and Clin. Med. 39: 543, 1952.
- 11.- Vorhaus L.J., and Kark R. M.: Serum cholinesterase in health and disease. An. J. Med. 14: 707, 1053.
- 12.- Ducci H. and Hurtado R.: La actividad colinesterásica del suero en — las enfermedades hepatobiliares. Rev. Médica de Chile 81: 673, 1953.
- 13.- Wroblewski F. and Ladue J.S. Transaminase concentration in different tissues. Proc. Soc. Exper. Biol. Med.: 91, 1 1956.
- 14.- Conrad F.G., Transaminase, New England J. Med.: 256:602 (march) 1957.
- 15.- Sellek A. y Frade A. La nueva prueba turbidométrica del Acetato de — Cobre como índice de disfunción hepática. Revista Cubana de Laboratorio Clínico, 10:28, 1956.
- 16.- Sellek A. and Frade A., A new turbidometric Copper Acetate test an index of liver disfunción. Revista Cubana de Laboratorio Clínico. XI:32, 1957.