

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA.
INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.
—————FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS.—————

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS
METODOS DE BENEDICT Y DE FOLIN
WU PARA LA DETERMINACION DE
LA GLUCOSA SANGUINEA

Tesis

NATALIA ARANDA R.

GUADALAJARA, JAL.

ENERO DE 1939.



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.

Estudio comparativo de los Métodos de Benedict y de Folin Wu para la determinación de la Glucosa Sanguinea.

ENTRE las técnicas usuales que han sido empleadas para la determinación de la glucemia, se encuentran métodos estandarizados y que han sido consagrados por el uso haciéndolos corrientes en las prácticas ordinarias de química Biológica, como es el método colorimétrico de Folin Wu.

El presente trabajo tiene por objeto ensayar la técnica también colorimétrica de Benedict a base de Acido Pítrico, comparar los resultados obtenidos con el anteriormente citado y hacer un estudio de las glucemias normales y patológicas con el mismo.

GLUCEMIA .

Por Glucemia se entiende la cantidad de glucosa sanguínea determinada en la sangre en un momento dado. La sangre circulante contiene azúcar constantemente sufriendo variaciones constantes tanto en estado normal como patológico, variaciones que pueden apreciarse por medio de las técnicas que después señalaré y que en el individuo normal estas oscilaciones ocurren siempre dentro de ciertos límites que, de acuerdo con los demás constituyentes de la sangre (urea, cloruros, ácido úrico, proteínas, colessterina, etc.) constituyen el llamado equilibrio sanguíneo, elemento indispensable para el buen funcionamiento del organismo y en consecuencia para el desarrollo normal de todos los procesos del mismo. Cuando por alguna causa tiene lugar algún trastorno que rompa el estado de equilibrio, puede sobrevenir el recargo

o la disminución del tenor de una o varias substancias en la sangre y en consecuencia una perversión de una o varias funciones orgánicas. (uremia, uricemia, hipercloruremia, hiperglucemia, etc.)

La glucosa, perteneciente al grupo de los glúcidos, es un monosacárido con fórmula $C_6H_{12}O_6$, llega a la sangre procedente de los alimentos y sabemos que la glucosa de la sangre procede del glucógeno del hígado. De este modo el glucógeno aparece como la forma bajo la cual los glúcidos son almacenados en el organismo y la glucosa en la forma en que son utilizados.

El hígado es el órgano que retiene el azúcar alimenticio, lo almacena, lo transforma y lo restituye a la sangre en forma de glucosa. Sin embargo este poder de fijación del hígado no es ilimitado, porque si por ejemplo se inyecta por la vena porta una cantidad considerable de glucosa, el hígado no puede retenerla ni transformarla totalmente y habrá glucosuria; en esta forma es como se suceden los hechos: La glucosa formada en la digestión de los feculentos y de diversos azúcares es absorbida en el intestino y al llegar al hígado es detenida en parte por la célula hepática y transformada en glucógeno que se deposita quedando almacenado; para que el glucógeno sea utilizado enseguida en el organismo vuelve al estado de glucosa por obra de una amilasa hepática y sale del hígado por las venas suprahepáticas: esta es una secreción interna, el primer tipo que se conoció. Pero la sangre arterial contiene casi siempre la misma cantidad de glucosa de un gramo a un gramo y medio por litro; (según el método empleado) como el hígado vierte constantemente azúcar en la sangre, es necesario ya que la producción de azúcar no varía, que el consumo compense la producción. Efectivamente, la glucosa de la sangre disminuye en los órganos periféricos; la sangre que vuelve de los órganos exceptuando el hígado es siempre menos rica en azúcar que la sangre arterial; la sangre venosa de los músculos contiene por término medio 1.20 gramos por litro en lugar de 1.30 a 1.50 que es lo que se encuentra de ordinario en la sangre arterial. De estos hechos puede deducirse que el hígado que produce al mismo tiempo glucógeno y glucosa, regula la distribución en la sangre del azúcar absorbido en los intestinos, lo almacena en mayor o menor cantidad en la forma estable de glucógeno, este depósito es mas abundante cuando después de una comida fuertemente amilácea el azúcar pasa en exceso a la sangre intestinal, ce-

diéndola el hígado de continuo a la sangre en mayor o menor cantidad bajo la forma mas labil de glucosa. Sin embargo, esta regulación no es obra exclusiva del hígado. Cuando este órgano a consecuencia de un ayuno prolongado pierde todo el glucógeno que contenía, no por esto la sangre pierde su proporción normal de azúcar; continúa recibiendo cantidades equivalentes a las que se distribuyen en los músculos pues es bien sabido que otros tejidos como los músculos, pueden producir glucosa a expensas del glucógeno que contienen.

De este modo los músculos y el hígado están funcionalmente asociados en la producción y consumo del azúcar. El mantenimiento de las proporciones convenientes entre el glucógeno del hígado y los músculos y la glucosa de la sangre se hace por un mecanismo regulador; por el buen funcionamiento de este mecanismo se regula la proporción de azúcar en la sangre la que ha sido denominada **GLUCEMIA NORMAL**.

Hay hiper o hipoglucemia según aumente o disminuya esta proporción normal, al romperse el equilibrio entre la producción y el consumo del azúcar, ya por que éste se produzca en exceso o por que los tejidos pierdan la aptitud de destruirlos en cantidad suficiente.

INFLUENCIA DEL SISTEMA NERVIOSO EN LA FUNCION GLUCOGENICA Y LA GLUCEMIA.

Estas funciones se hallan bajo la dependencia del sistema nervioso que puede aumentarlas o reducir su actividad. Esta importante noción deriva de un experimento fundamental de **CLAUDIO BERNARD**, el experimento de la picadura del cuarto ventrículo llamada picadura diabética impropriamente, puesto que solamente determina una glucosuria pasajera y no una diabetes verdadera. Algunos investigadores han intentado probar que los efectos de la picadura del cuarto ventrículo son debidos a un mecanismo no nervioso. Otras excitaciones además de la asfíctica ponen en actividad el centro bulbar, se vé p. ej.: que la excitación del centro del extremo central del neumogástrico produce la glucosuria, el mismo efecto produce la excitación de los nervios depresores o del extremo central del ciático. Es posible pues, que por la influencia de excitaciones reflejas el centro bulbar entre en actividad pero se ignora cómo intervienen tales excitaciones para

la regulación de la glucemia normal. Sea cual fuere el mecanismo de la acción de la picadura diabética esta excitación hace entrar en juego centros que están en comunicación con el hígado; por la excitación de estos centros se activa la transformación del glucógeno en glucosa. Así es que tanto la punción del cuarto ventrículo como la excitación de los espláncnicos provocan hiperglucemia y glucosuria por exageración de la producción de azúcar en el hígado. De este modo se afirman más aún las íntimas relaciones del glucógeno hepático y la glucosa de la sangre, cuya realidad está ya demostrada.

A la inversa las influencias nerviosas actúan también disminuyendo la producción hepática de azúcar como p. ej.: la sección de los espláncnicos va seguida de hipoglucemia.

TRASTORNOS DE LA FUNCION GLUCOGENICA Y DE LA GLUCEMIA.

GLUCOSURIAS Y DIABETES.

El aumento de azúcar en la sangre o hiperglucemia por acción del hígado da lugar a la glucosuria. CL. BERNARD creía que el azúcar no pasaba a la orina sinó cuando la sangre contenia mas de 2 gramos por 1000, pero esto no es exacto, puede haber glucosuria a pesar de una glucemia muy poco superior a la normal, normales o aún debajo de las normales debiéndose esto a un trastorno en la permeabilidad del riñón para esta substancia (diabetes renal).

Teóricamente hay dos causas que determinan la glucosuria de origen hepático, una es que el hígado haya perdido mas o menos la propiedad de retener y fijar el azúcar en forma de glucosa y esto es un trastorno de la función glucogénica, o una producción exagerada de glucosa y esto es un trastorno de la función glucémica.

DIABETES E HIPERGLUCEMIAS.

La diabetes se considera actualmente como una enfermedad heritaria, lo dice NAUNYN y lo confirma JOSLIN; se hereda la tendencia diabética, y así un individuo que en alguna ocasión ha presentado una glucosuria ligera que ha cedido fácilmente, está en con-

diciones de ver reaparecer su glucosuria por cualquier causa. La herencia en las estadísticas de JOSLIN se encuentra en el 46% de los pacientes tratados por él y la considera como la causa fundamental de la enfermedad, siendo las demás únicamente causas incitantes sobre todo la obesidad.

Actualmente ha sufrido grandes modificaciones sobre este padecimiento y su tratamiento, desde que las nuevas investigaciones han descubierto que existen en el páncreas unas acumulaciones celulares descritas por Langerhans cuya naturaleza epitelial es indudable; son verdaderas glandulitas cerradas. (Islotes de Langerhans). Después de las ligaduras de los conductos excretores del páncreas, este órgano se atrofia persistiendo sin embargo los islotes de Langerhans con todos sus caracteres; en diversos casos de diabetes con desnutrición se han hallado lesiones, en estos islotes. Por esto desde que Laguesse emitió esta idea había tendencia a atribuir a estos grupos celulares la secreción interna del páncreas. La prueba experimental ha sido dada por Macleod el cual junto con Bouting y otros colaboradores ha logrado preparar un extracto pancreático llamado Insulina que facilita la acumulación del glucógeno en el hígado, piel y músculos y la combustión de la glucosa en los tejidos y a la vez ejerce un control sobre el metabolismo de las grasas y de las proteínas y se ha demostrado la relación que existe entre los islotes de Langerhans y las demás glándulas de secreción interna y el hígado. El páncreas es siempre el centro alrededor del cual gravita el diabetes, aunque sus crecientes relaciones con las otras glándulas de secreción interna se vuelven cada día más estrechas; la insulina segregada por el páncreas es indispensable para la vida. La insulina y el glucógeno son mutuamente indispensables para el diabético, a la vez que necesita insulina necesita del glucógeno ya almacenado en el hígado, músculos y piel. Joslin hace la comparación diciendo que el glucógeno representa la moneda y la insulina el banquero que la pone en circulación. Así el concepto que se forma de un diabético es según su capacidad de producir insulina, y su almacenamiento de glucógeno en el hígado, músculos y piel, implica que hay insulina porque es la única que puede favorecer su acumulación.

El glucógeno en el hígado no se comporta únicamente como material, sino que produce mayor cantidad de glucosa que la que correspondería al glucógeno almacenado, por que no únicamente con ayuda de la Insulina, los monosacáridos solubles se transfor-

man en glucógeno al igual que los que provienen de las proteínas y de las grasas, hay que notar que para que esto se verifique, es necesario que exista ya glucógeno, por lo que se pregunta si el glucógeno se comporta como un catalítico o hay que imaginar una hormona que explique su acción. Se ha supuesto que la insulina se encarga de evitar que estas transformaciones en el hígado sean excesivas y cuando esta hormona pancreática falta, vienen la glucosuria e hiperglucemia así como también resultan en presencia otros derivados de las grasas y de las proteínas que pueden llevar al enfermo a la acidosis y al coma diabético.

Los músculos y la piel son otros lugares de depósito del glucógeno, se ha visto que cuando se inyectan insulina y azúcar en un músculo, el equivalente de una mitad del azúcar es gastado por oxidación y el resto se transforma en glucógeno. Por esto hoy día el éxito de los atletas depende de su entrenamiento para aumentar su glucógeno y su capacidad para almacenarlo, pues se ha visto que al final de una gran carrera, el azúcar de la sangre se encuentra mas bajo que el nivel normal.

Actualmente en la fisiología de la diabetes se habla de la conexión entre el páncreas y las otras glándulas endócrinas. Entre las 14 que se han descubierto hasta la fecha en la hipófisis, hay una llamada elevadora del azúcar o auto-insulina que se cree obra sobre un supuesto centro del azúcar, del cual sus efectos son transmitidos a las cápsulas suprarrenales. Normalmente la hormona aparece en la sangre después de ingerir una comida muy grasosa. Si esta hormona es inyectada a ratas, produce una reducción del glucógeno del hígado, excesivas cantidades en la circulación repercuten en hiperglucemia y glucosuria, y al contrario la ausencia de la hormona en los animales que se les ha quitado la hipófisis trae una notable hipoglucemia, una notable sensibilidad a la insulina, una disminución de la reserva de glucógeno y una mejoría de una diabetes previamente provocada. La pituitaria segrega otra hormona llamada hormona ketogénica, cuya acción consiste en aumentar los cuerpos ketogénicos en la sangre, sobre todo el ácido beta-oxibutírico y la acetona aumentando la acción dinámina específica de las proteínas. Es conocida la obesidad de origen hipofisiario que se desarrolla en la insuficiencia pituitaria y es probable que esta obesidad sea precursora de la diabetes.

La glándula tiroidea entre también en los problemas diabéticos, porque al aumentar la función tiroidea, es alterado el me-

canismo de los glúcidos, se ha visto cuando hay hipertiroidismo, aparecer hiperglucemia y glicosuria.

La suprarrenal, como tiene a los músculos en un estado constante de tensión, y como éstos necesitan grandes cantidades de glucosa en la sangre para dar la energía exigida, y por este constante movimiento de azúcar algunas veces resulta el desarreglo de otras glándulas principalmente los islotes de Langerhans la pituitaria y suprarrenales.

Se ha visto que la tiroxina y la adrenalina son antagonicos y este antagonismo es completo, así, una dosis de insulina dada a un enfermo diabético que sea suficiente para eliminar el azúcar de la orina, si se inyecta extracto tiroideo al mismo tiempo, ésta resulta insuficiente. Al contrario si una dosis de insulina es tan grande que produzca shock insulínico, este shock puede prevenirse si es dado simultáneamente extracto tiroideo, pero esto se sostiene solamente en el caso de que haya suficiente glucógeno almacenado en el hígado que pueda ponerse en circulación, pues si se agotara por completo este glucógeno, una dosis de insulina produciría un shock insulínico fatal. Como se ha dicho en la actualidad, se cree que los islotes de Langerhans son y seguirán siendo el centro de los problemas del diabético, aunque este centro es influenciado por otras hormonas. Ultimamente se hacen estudios sobre una hormona segregada por la mucosa duodenal y se le ha llamado Incretina o Duodenina, esta hormona estimula a los islotes de Langerhans a producir insulina y en los animales de experimentación se ha encontrado que reduce la hiperglucemia resultante de inyecciones de dextrosa y adrenalina y aún se ha dicho que reduce la glucemia normal.

Antiguamente los regímenes dietéticos eran con restricción absoluta de glúcidos, en cambio los actuales con una cantidad relativa de estos, acompañada algunas veces de su correspondiente dosis de insulina son menos dañosos que los antiguos, en la actualidad, se puede decir que el tratamiento de la diabetes se ha estandarizado, conociendo según la clase de diabetes de cada paciente, la cantidad de calorías que necesita y distribuir las convenientemente entre glúcidos, proteínas y grasas.

En la actualidad los pacientes glucosúricos deben dividirse en: 1o.-Diabéticos verdaderos; 2o.-Diabéticos potenciales y 3o.-Glucosúricos aún no clasificados.

Examen Químico de la Sangre

Al hacer un examen químico de azúcar en la sangre, se presentan un cierto número de problemas sobre la presencia, la naturaleza y la cantidad del azúcar en la sangre.—Sin que me sea posible dar detalles, voy a indicar los principales problemas y responder a ellos.

1o.—ASIENTO DEL AZUCAR EN LA SANGRE

El azúcar debe ser buscado en la sangre total? en el plasma? en el suero? en los glóbulos. Las opiniones difieren en este sentido, pero generalmente se ha acordado reconocer que el suero encierra la mayor parte del azúcar sanguíneo y los glóbulos una porción menor. De todas maneras es, en la sangre total donde se debe dosificar.

2o.—NATURALEZA DEL AZUCAR EN LA SANGRE

Como ya se ha dicho antes, este azúcar es la glucosa, pero se pueden encontrar otros hidratos de carbono como por ejemplo la levulosa y la maltosa, cuya presencia es afirmada por unos y negada por otros, el ácido glucosúrico aunque no es siempre constante se ha demostrado su presencia, el glucógeno que la sangre transporta en sus leucocitos, y hay que añadir otras substancias reductoras aún indeterminadas.

3o.—ES UNA GLUCOSA UNICA O SON VARIAS GLUCOSAS?

Las recientes investigaciones han demostrado que hay muchas variedades de glucosas, tienen la misma constitución química el mismo poder reductor, pero difieren ligeramente en sus propiedades físicas y en particular en la constitución entera de su grupo molecular de lo que resultan sus poderes rotatorios diferentes.

Después de las investigaciones de Winter y Smith la glucosa tal como penetra en el organismo aparecería en dos formas diferentes de la en que se encuentra en la sangre normal, la cual, sola, sería capaz de ser utilizada por los tejidos.

Desde el punto de vista del metabolismo, por consecuencia, el último merecería ser llamado activo, los otros dos representan las glucosas inactivas. Por otra parte existe esta teoría "En la sangre diabética la glucosa activa sería reemplazada en proporción mas o menos grande por la glucosa inactiva. El estado diabético sería entonces definido como la impotencia del organismo para transformar la glucosa inactiva tal como le viene del intestino por la vena porta en glucosa activa capaz de ser utilizada; en este caso la glucosa quedada inactiva ha sido retirada por los tejidos no pudiendo ser acumulada en la sangre hasta que la hiperglicemia ha alcanzado un cierto nivel muy alto, entonces es eliminada por glucosuria". Esta teoría ha sido objeto de numerosas objeciones.

40.—EL AZUCAR EN LA SANGRE ESTA LIBRE O COMBINADA?

Se admite generalmente que es libre al menos en parte. Lepine propone llamarle azúcar inmediata en lugar de azúcar libre, es decir que enteramente libre o no, es en todos los casos inmediata, libre y dosificable en un extracto, lo que prácticamente viene a ser lo mismo. En caso contrario formaría parte de combinaciones estables, sería entonces designado bajo el nombre de azúcar combinado. Desde otro punto de vista se puede distinguir el azúcar real de la sangre, es decir aquella que revela inmediatamente sus propiedades reductoras, y el azúcar virtual que se pone en evidencia sólo por la acción de las diastasas o de los ácidos calientes.

IMPORTANCIA DE LOS METODOS DE DOSIFICACION

La dosificación del azúcar en la sangre ofrece un gran interés. Es utilizada sobre todo en la actualidad muy frecuentemente como auxiliar muy importante en el diagnóstico, la patogenia, el pronóstico y la terapéutica de la diabetes; el empleo de la insulina en lo particular necesita una gran precisión en las dosificaciones por su repetición frecuente en un mismo sujeto. Aparte de la diabetes hay otras muchas afecciones de patogenia obscura que justifican esta vusca.

Las determinaciones químicas de la glucosa sanguínea ha quedado incluida como uno de los métodos rutinarios que se prac-

ifican con muy diferentes tipos de enfermos adquiriendo importancia particular en el coma diabético, en cuyo caso sirve también con más precisión que lo que pudiera servir la glucosuria, como guía en el tratamiento que ayude eficaz y seguramente, como control para regular la administración de insulina, ayudando en esta forma al médico se llegue a provocar el Estado hipoglucémico, accidente muy grave que se debe impedir a toda costa, es, en esos casos donde la determinación de las glucemias debe practicarse con un método que reúna las siguientes condiciones:—preciso, de ejecución fácil, que no necesite una gran cantidad de sangre particularmente en los casos en que deba repetirse muchas veces. Revisando las diferentes técnicas que para estas dosificaciones han sido indicadas podrán encontrarse procedimientos múltiples en los que los tecnicas y los reactivos usados son también en número considerable, es así como podrán observarse métodos en los cuales grandes cantidades de sangre son necesarios (30 c.c. como mínimo) y otros por el contrario donde solo pequeñísimas cantidades son necesarias (0.1 c.c.).

De entre los métodos más usados puede citarse el de Bertrand en el que se necesitan 30 c.c. de sangre basado en la precipitación del sulfato de cobre con el sulfato férrico y el Permanganato de Potaza. El método Iodométrico de Shaffer y Hartmann que utiliza el filtrado obtenido según el método de Folin que después indicaré, usa solución de yoduro de potasio y el sulfato de cobre que una vez precipitado se pone de manifiesto utilizando el (ARROW-ROOT) starch. De entre los métodos micrométricos se utiliza frecuentemen el iodométrico de Hagerdorn-Jeusen en el que solo 0.1 de sangre es necesaria y en el que una vez obtenido un filtrado libre de proteínas por medio de una solución coloidal de hidróxido de zinc se trata con ferrocianuro de potasio haciéndose la titulación con una solución de tiosulfato de sodio.

El método de Folin-Wu perfectamente conocido y usado casi corrientemente en la mayoría de los laboratorios y es el que una vez desproteinizada la sangre se pone en contacto con una solución fosfomolibdica. Como este método, ha servido de punto de comparación en las dosificaciones que con el método de Benedict fueron practicadas en el desarrollo de este trabajo, haré una descripción detallada de la técnica.

Método de Folin-Wu

Obtener por punción venosa 5 c.c. de sangre, hecha incoagulable añadiendo una pequeña cantidad de oxalato neutro de potasio. Se ponen los 5 c.c. de la sangre oxaltada en un recipiente de 200 c.c. de capacidad, se añade 7 veces su volúmen de agua destilada y se mezcla bien con agitación, en seguida se pone un volúmen de una solución de tungstato de sodio al 10%, un volúmen igual a la cantidad de sangre que se está usando, luego se pone gota a gota y agitando fuertemente H_2SO_4 N/1 en cantidad suficiente hasta precipitar completamente las proteínas, se forma un coágulo café, se completa a 10 volúmenes con agua bidestilada, se agita todo fuertemente y se deja en reposo 5 minutos, se filtra a través de papel filtro y tiene que salir un líquido claro cristalino como agua de roca y en caso contrario se vuelve a filtrar; de este filtrado cada c.c. representa 0.10 c.c. de sangre; se puede conservar 2 o 3 días bien poniéndole una capa de tolueno o de xilol y se pone en la nevera. Este primer tiempo para quitar las proteínas.

REACTIVOS NECESARIOS

Reactivo número 1o.—Testigo. Solución standard de glucosa purísima anhidra al 1%, de esta solución se preparan los testigos que se han de usar diluyéndola al 1:50 para el standar número I y al 1% para el standar número II.

Reactivo número II.—En 400 c.c. de agua disolver 40 grs. de Carbonato de sodio anhidro, luego añadir 7.50 grs. de ácido tartrico y 4.50 grs. de Sulfato de cobre cristalizado; completar el volumen a 1000 c.c.

Reactivo número III.—35 grs. de ácido molibdico, 5 grs. de tungstato de sodio, 200 c.c. de Na OH al 10% y 200 c.c. de agua hiérvase por 30 mn. Enfriar, deluir a 350, añadir 125 c.c. de ácido fosfórico al 85% y completar a 500 c.c.

TECNICA DE LA INVESTIGACION

Poner 2 c.c. del filtrado exento de proteínas en un tubo de Folin o sea 0.20 de sangre. En un segundo tubo de Folin 2 c.c. del patrón de glucosa Núm. I, en un tercer tubo 2 c.c. del patrón de glucosa Núm. II, a cada tubo añadir 2 c.c. de la solución de

sulfato de cobre; esto no debe sobrepasar nunca de la porción angosta del tubo. Se sumergen los tubos en agua hirviendo durante 6 minutos, se colocan luego los 3 tubos en agua fría sin agitarlos por 3 mn. (se forma un precipitado de óxido cuproso) a cada tubo se añaden 2 c.c. de la solución fosfomolibdica y aparece un hermoso color azul intenso en los 3 tubos, esto disuelve y cuando este precipitado se haya disuelto se añade agua hasta la marca 25 de los tubos y se mezcla vigorosamente por agitación. Se hace la comparación de coloración al trasluz en los tubos, desechándose el que menos se parezca y se hace la comparación colorimétrica con la siguiente fórmula:

LECTURA DEL TESTIGO.

LECTURA DEL DESCONOCIDO. $\frac{\quad}{\quad}$ Miligramos por 100 c.c. de sangre

Multiplicando este resultado por 2 en caso de que se utilice fuerte (solución al 1:50.).

Lectura del testigo = 15 15

Ej.: — = 83.3 miligr. en 100 c.c.

Lectura del desconocido = 18 18 de sangre.

Método de Benedict

REACTIVOS NECESARIOS.—SOLUCION TESTIGO DE GLUCOSA.—(3 c.c. contienen 0.6 mlg. de glucosa.). Se disuelven 20 miligramos de glucosa purísima anhidra en 50 c.c. de solución saturada de ácido picrico y completar a 100 c.c. exactamente.

ACIDO PICRICO SECO.—Ácido picrico seco químicamente puro especial para química sanguínea. (No sirve el ácido picrico químicamente puro, solo especial para química sanguínea, debiéndose tener mucho cuidado en esto).

SOLUCION SATURADA DE ACIDO PICRICO EN AGUA

Se disuelven 1.22 grs. de ácido picrico seco en 100 c.c. de agua destilada, en caliente, se deja enfriar y se filtra.

SOLUCION STANDARD DE CARBONATO DE SODIO

Se disuelven 220 gramos de carbonato de sodio anhydro en 1000 c.c. de agua destilada en caliente, se deja enfriar y se filtra.

APARATOS.

Colorímetros de Dubosq o de Kleth.

Un tubo de ensayo con un cristalito de Oxalato de potasio para recoger la sangre. (agitar para que no se coagule).

Tubos marcados a 10 c.c. exactamente.

Embudos de cristal, papel filtro, pipetas, Baño María hirviente.

TECNICA.

Se obtiene por punción venosa de 3 a 5 c.c. de sangre, hecha incoagulable como ya dije antes.

Se toman 10 c.c. de agua destilada en un tubo de centrífuga; se añade 2.50 c.c. de sangre lavando varias veces la pipeta con la misma agua; mezclar bien y dejar reposar hasta laqueado de la sangre; añadir 0.25 grs. de ácido pícrico seco (especial para sangre) agitar hasta disolverlo. En este punto la mezcla es uniformemente amarilla. Dejar en reposo de 5 a 10 minutos agitando de tiempo en tiempo; centrifugar 5 mm. a alta velocidad y filtrar. Este primer tiempo sirve para quitar las proteínas. Cada c.c. del filtrado contiene 0.2 c.c. de sangre. Se ponen 3 c.c. del filtrado en un tubo marcado en 10 c.c. añadir 1 c.c. la solución saturada de carbonato de sodio, en otro tubo marcado también a 10 c.c. se colocan 3 c.c. del standard de glucosa-ácido pícrico y añadir 1 c.c. de la solución saturada de carbonato de sodio. Se colocan ambos tubos en agua hirviente durante 15 mn. se dejan enfriar hasta temperatura ambiente. Diluir el standard con agua destilada hasta la marca 10. Diluir el desconocido hasta 10, 15, 20 c.c. dependiendo de la intensidad del color. El color del desconocido deberá ser más ligero que el color del standard.

LECTURA EN EL COLORIMETRO CALCULO

Lectura del Testigo.	Dilución del Desconocido.
_____	X _____
	X100 = a
Lectura del Desconocido.	Dilución del Testigo.
miligramos de glucosa en 100 c.c. de sangre.	

Ejemplo: Lectura del Testigo=15; lectura del desconocido=13; dilución del testigo=10; dilución del desconocido=10.

15 10

— X — X 100=115 mg. de azúcar en 100 c.c. de sangre.

13 10

En último método como se ve por lo anterior la precipitación de las proteínas tiene lugar a expensas del ácido pícrico en cuyo tiempo hay que tener particular cuidado tanto en la utilización de ácido pícrico especial como en saber conocer, (esto último sólo con la práctica) el momento oportuno en que se ha logrado la precipitación total de las proteínas, circunstancias estas dos últimas que me hicieron repetir varias pruebas.

El método de Benedict tiene la ventaja de utilizar el mismo ácido pícrico para precipitar las proteínas y como colorante indicador que sirve para hacer la comparación colorimétrica. En presencia de la glucosa sanguínea y actuando junto con el carbonato de sodio se obtiene una solución coloreada cuyo color amarillo va haciéndose cada vez más fuerte hasta alcanzar a veces tonos rojizos (aspecto de tintura de yodo débil) según la cantidad de glucosa encontrada.

Antes de determinar las relaciones comparativas entre este método y el de Folin Wu en individuos enfermos, practiqué un crecido número de observaciones en individuos normales en diferentes estados del periodo de la digestión con objeto a la vez de fijar la media normal de glucosa en nuestro medio, en individuos adultos de ambos sexos, habiendo concluido que las cantidades encontradas son de 70 a 110 miligramos, según el Texto de Química Fisiológica Práctica de Juan Roca 2a. edición; las normales con el método de Benedict se deben tomar de 70 a 100 miligramos por 100 c.c., sabiendo por otra parte que estas mismas normales en el método de Folin son de 80 a 120 miligramos. Al expresar los resultados es conveniente indicar el procedimiento que se ha seguido para que así puedan compararse los datos de diversas precedencias.

Glucemia en Individuos Normales

METODO DE BENEDICT

No.	Sexo.	Iniciales	Tiempo de extracción después de ali.	Miligramos por 100 c.c.
1.	F.	E.V.	4 horas	84.7
2.	F.	M.L.R.	En ayunas.	78.1
3.	M.	A.P.	3 Horas	97.4
4.	M.	F.R.	En ayunas.	116.3
5.	M.	I.M.	En ayunas.	91.6
6.	F.	B. de R.	En ayunas	81.6
7.	F.	A.C. de F.	En ayunas.	91.7
8.	M.	A.M.	4 horas.	117.6
9.	F.	S.P. de O.	3 horas.	112.3
10.	F.	F.A.	Desp. de ay. prolong.	55.5
11.	M.	E.V.	En ayunas.	92.5
12.	M.	C.M.	Ayuna prolong.	62.5
13.	M.	E.O.	En ayunas.	81.2
14.	M.	A.U.	En ayunas.	99.
15.	M.	S.M.	2 y media Hs.	135.5

Glucemia en Individuos Enfermos

No.	Sexo.	Iniciales.	Tiempo de Ex. Después de Alim.	Folin Wu Miligramos	Benedict. por 100 c.c.
1.	M.	A.P.S.	3.30 Hs.	64.1	60.6
2.	M.	V.S.	En ayunas	89.8	81.9
3.	M.	V.S.	3.30 Horas.	124.	113.
4.	M.	A.R.	En ayunas.	104.9	111.1
5.	F.	M.C.A.	5 horas	129.3	125.
6.	F.	G.U.R.	En ayunas	81.5	85.4
7.	M.	E.C.	En ayunas	106.4	99.7
8.	F.	G.M.C.	En ayunas	436.	450.
9.	F.	M.G.A.	4 horas.	194.8	189.
10.	F.	C. de A.	En ayunas.	104.2	98.
11.	M.	E.P.	En ayunas.	117.2	119.
12.	F.	E.E.S.	En ayunas.	258.6	277.6
13.	F.	R.C.A.	En ayunas.	108.7	113.6
14.	M.	S.V.T.	En ayunas.	95.7	99.
15.	M.	E.V.	En ayunas	83.3	80.6
16.	F.	M.A.A.	4 horas.	234.4	222.2
17.	M.	J.H.	4 horas	82.7	78.7

No.	Sexo.	Iniciales	Tiempo de Ex. Después de Alim.	Folin Wu Miligramos	Benedict. por 100 c.c
18.	M.	G.V.	4 horas.	95.2	91.7
19.	F.	R.B.	En ayunas.	101.2	104.
20.	M.	A.C.	En ayunas.	118.1	125.
21.	M.	M.C.	En ayunas.	82.4	77.5
22.	M.	C.M.	En ayunas.	118.1	107.4
23.	F.	M.G.	En ayunas.	94.9	90.9
24.	M.	A.T.	En ayunas.	147.1	142.8
25.	F.	O.R.	Des. Ay. Pro.	78.9	75.7
26.	F.	A.P.	En ayunas.	208.4	212.6
27.	M.	G.L.	En ayunas.	127.2	123.4
28.	M.	S.J.R.	En ayunas.	93.7	90.9
29.	F.	R.T.V.	En ayunas.	102.1	101.
30.	M.	R.C.	En ayunas.	187.5	181.8

Estas observaciones fueron practicadas en el Laboratorio de la Escuela Autónoma de Medicina bajo la dirección de mis maestros los señores Doctores Salvador Urzúa L., Enrique Hernández Sánchez y Agustín Bátiz y G.

NOS CONSTA QUE OBSERVO:

Firmado:

Firmado:

Dr. SALVADOR URZUA L. Dr. ENRIQUE HERNANDEZ SANCHEZ.

Firmado:

Dr. AGUSTIN BATIZ y G.

Conclusiones:

10.—La cantidad de azúcar media normal que encontré por el método de Benedict, es de 70 a 110 miligramos por 100 c.c.

20.—Hay una relación muy estrecha entre los datos obtenidos con el método anterior y el método de Folin Wu.

30.—La técnica del método de Benedict es mas sencilla que la de Folin Wu y requiere menos tiempo en su ejecución.

NATALIA ARANDA R.

Bibliografía:

"Les Applications Pratiques Du Laboratoire a la Clinique".—E. Gasse Lafont.

Approved Laboratory Technic.—Kolmer and Boerner.

Clinical Laboratory Methods and Diagnostics.—Gradwohl.

Revista M. F. de G.—Tomo IX. Núm. 4.—Conceptos sobre la diabetes.—Dr. Juan Miguel Gil Alonso.

Technique Chimique.—A. Morel.

Tratado de Fisiología por el Dr. E. Glez.

Clinical Diagnosis by Laboratory Methods.—Todd Sanford.

Practical Bacteriology Blood Work Parasitology.—Stitt.

Química Fisiológica Práctica.—Juan Roca.—2a. Edición.