

11213

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES
INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION

6

Determinación de Cortisol y Globulina Transportadora
de Corticoides (GTC) en Normales, Embarazadas y
Pacientes con Cirrosis Hepática y Síndrome de
Absorción Intestinal Deficiente

T E S I S
QUE PARA OBTENER
EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN ENDOCRINOLOGIA Y NUTRIOLOGIA
PRESENTA EL DOCTOR
GUILLERMO FANGHANEL SALMON

2001

MEXICO, D. F.

2001





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A MI MADRE
POR EL ESFUERZO DE
TODA UNA VIDA

A MI ESPOSA

POR SU CARIÑO Y MOTIVACION ' 1

A MI HIJA LISSETTE
FUENTE DE INSPIRACION

AL MAESTRO Y AMIGO
DR. JOSÉ A. GARCÍA REYES
PROFESOR TITULAR DEL CURSO.

AL DR. TOMAS MORATO C,
PROFESOR ADJUNTO DEL CURSO,
POR SUS CONSEJOS Y ENSEÑANZAS,
AUTOR MORAL E INTELECTUAL DE LA
PRESENTE TESIS.

INTRODUCCION

En estudios previos se han obtenido resultados que demuestran una disminución en la función suprarrenal en pacientes con cirrosis hepática (1). Se ha postulado la posibilidad de que esta alteración sea secundaria al mismo daño hepático; sin embargo, las explicaciones que se han vertido hasta la actualidad, carecen de bases firmes o bien quedan únicamente a la luz de las especulaciones.

En el presente estudio damos los resultados de algunos estudios realizados en cirróticos, que posiblemente ayuden a explicar varios de los fenómenos que acontecen no solamente en estos pacientes, sino en otros estados de nutrición, que nos permitan, además de integrar adecuadamente el estudio dinámico de la función suprarrenal, obtener conclusiones satisfactorias de los mecanismos que conducen al bajo funcionamiento de las glándulas suprarrenales.

En trabajos efectuados previamente (2) se ha puesto de manifiesto la alteración -- que existe en la síntesis y la secreción de proteínas por el hígado, no solamente -- en el paciente cirrótico sino además en todos los estados que coexisten con hiponutrición. Esta alteración protéica altera fundamentalmente la albúmina y algunas fracciones de las globulinas; algunas de éstas tienen un papel fundamental sobre el transporte de varios componentes hormonales, que facilitan su conducción por el torrente sanguíneo hasta el órgano blanco donde dichas hormonas ejercen su acción.

Teniendo en cuenta éstos datos, consideramos la posibilidad de explicar satisfacto

riamente la disminución de la función suprarrenal en base a una disminución de las globulinas transportadoras, en éste caso las que favorecen el transporte de los corticoïdes, con lo que se obtendría un aumento de la fracción libre de ésta hormona esteroïde, ejerciendo una mayor inhibición de la secreción hipotalámica del factor liberador de la corticotropina, con la consiguiente disminución del estímulo para la producción y secreción de corticoïdes y, por lo tanto, habría una disminución de la función suprarrenal (Fig. 1 y 2).

La globulina transportadora de corticoïdes, que será referida a lo largo del texto como GTC, fue descrita por primera vez por Daughaday (3,4), quien lo denominó Corticosteroid Binding Globulin o CBG y más tarde Sandberg y Slaunwhite (5) la llamaron transcortina. Perteneció al grupo de las glucoproteínas y se ha demostrado por electroforesis de papel pertenecer a la fracción de las alfa 1 globulinas (6,7), aunque en un reporte reciente se habla de la posibilidad de que ésta proteína pertenezca a una fracción que se encuentra entre las alfa 1 y las alfa 2, o sea, pertenezca a una porción interalfa (8). El peso molecular para la GTC ha sido establecido entre 50 000 a 58 500 (9,10), siendo el más utilizado el de 51 700 (11). Los estudios referidos indican que tiene un solo sitio de unión para cada molécula de esteroïde; se sintetiza por el hígado aunque su lugar de producción no ha sido determinado y, como podemos observar en la Tabla I, no sólo transporta cortisol sino también otras moléculas esteroïdes, aunque con menor afinidad que para ésta (12, 13). La energía libre de la unión es alta y se ha calculado en valores de 10 a 11 kcal. por mol.

En la tabla II se pueden apreciar algunas de las más importantes características y propiedades fisicoquímicas de la GTC, no sólo en la especie humana, sino también en el conejo y la rata que también han sido ampliamente estudiados.

EJE HIPOTALAMO - HIPOFISIS - SUPRARRENAL

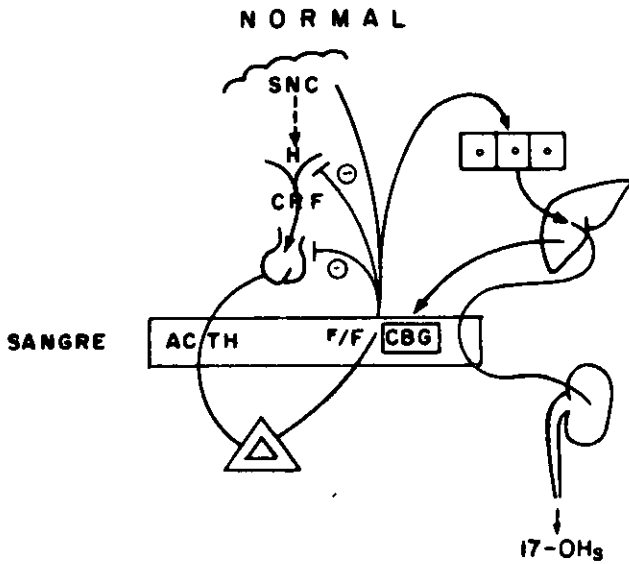


FIGURA 1 : Interrelación del eje hipotálamo - hipófisis suprarrenal con el funcionamiento de la glándula hepática.

TABLA I
AFINIDAD DE HORMONAS ESTEROIDES A GTC

| <u>ESTEROIDE</u> | <u>% AFINIDAD</u> |
|-------------------------|-------------------|
| Cortisol | 89 |
| Corticosterona | 78 |
| 11 Desoxicorticosterona | 77 |
| Cortisona | 62 |
| Progesterona | 20 |
| Androstendiona | 18 |
| Testosterona | 11 |
| Estradiol - 17 | 0 |

Slauwhite and Sandberg (*)

(12)

TABLA II

PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE LA GTC EN EL HUMANO, CONEJO Y RATA

| PARAMETROS | GTC EN: | | |
|------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | Humano (*) | Conejo (**) | Rata (***) |
| Coefficiente de sedimentación | 3.79 | 3.55 | 3.56 |
| Coefficiente de difusión | 6.15 | 7.02 | - |
| Volúmen parcial específico | 0.708 | 0.695 | 0.711 |
| Peso molecular | 51 700 | 40 700 | 52 600 + 3 000 |
| Movilidad electroforética a pH 8.6 | -4.9 | -5.1 | - |
| Carbohidratos (%) | 26.1 | 29.2 | 27.8 |
| Nitrógeno (%) | 12.7 | 12.1 | - |
| Sitios de unión | 1 | 1 | 1 |
| Constante de asociación, K a 4°C | 5.2×10^8 | 9.0×10^8 | 5.1×10^8 |
| Constante de asociación, K a 37°C | 2.4×10^7 | 4.7×10^7 | 2.8×10^7 |
| Energía libre a 4°C (Kcal/mol) | -11.0 | -11.3 | -11.0 |
| Energía libre a 37°C (Kcal/mol) | -10.5 | -10.9 | -10.6 |

* Muldoon & Westphal (14)

** Chader & Westphal (15)

*** Chader & Westphal (16)

Además, se ha caracterizado en su contenido de aminoácidos. En la Tabla III se puede apreciar la composición de aminoácidos y carbohidratos encontrados en el humano, así como en otras especies animales de uso común en el laboratorio (conejo y rata).

El cortisol (F) * es una de las hormonas esteroideas de mayor concentración en la sangre, y se ha calculado que aproximadamente el 95% se encuentra unida a la GTC y el resto circula en forma libre, siendo ésta fracción la forma activa.

* La nomenclatura de los nombres triviales de los esteroides utilizadas en el texto son:

Cortisol, Hidrocortisona (compuesto F) : 11 beta, 17 alfa, 21-Trihidroxi - 4 - pregnen 3,20 - diona; Corticosterona (compuesto B) : 11 beta, 21 - Dihidroxi - 4 - pregnen - 3,20 - diona; 11 - Desoxicorticosterona (DOC) : 21 - Hidroxi - 4 - pregnen - 3,20 diona; Cortisona : 11 beta, 21 - Dihidroxi - 4 - pregnen - 3,11,20 - Triona; Progesterona (P 4) : 4 - pregnen - 3,20 - diona; 17 alfa - Hidroxiprogesterona: 17 alfa - Hidroxi - 4 - pregnen - 3,20 - diona; 11 Desoxicortisol (compuesto S) : 17 alfa, 21 dihidroxi - 4 - pregnen - 3,20 - diona; Androstendiona: 4 - Androsten - 3,17 - diona; Testosterona: 17 beta - hidroxi - 4 - Androsten - 3 ona; Estradiol - 17 beta: 1, 3, 5 (10) - Estratrieno - 3,17 beta-diol; Aldosterona: 11 beta, 21-dihidroxi - 18 - aldo - 4 - pregnen - 3,20 - diona.

TABLA III
COMPOSICION DE AMINOACIDOS Y
CARBOHIDRATOS DE LA GTC EN HUMANOS, CONEJOS Y RATAS

| <u>RESIDUO</u> | <u>COMPOSICION DE LA GTC EN:</u> | | |
|-----------------|----------------------------------|---------------|-------------|
| | <u>Humano</u> | <u>Conejo</u> | <u>Rata</u> |
| Lisina | 15 | 10 | 20 |
| Histidina | 9 | 6 | 7 |
| Arginina | 10 | 10 | 10 |
| Acido aspártico | 32 | 25 | 39 |
| Treonina | 22 | 19 | 23 |
| Serina | 22 | 21 | 27 |
| Acido glutámico | 38 | 30 | 42 |
| Prolina | 22 | 16 | 17 |
| Glicina | 19 | 19 | 21 |
| Alanina | 23 | 21 | 23 |
| Cisteína | 2 | 6 | 9 |
| Valina | 26 | 18 | 20 |
| Metionina | 10 | 3 | 8 |
| Isoleucina | 16 | 10 | 13 |
| Leucina | 40 | 26 | 34 |
| Tirosina | 10 | 8 | 10 |
| Fenilalanina | 19 | 11 | 16 |
| Triptófano | 3 | 5 | 4 |
| Hexosa | 37 | 26 | 32 |
| Hexosamina | 29 | 24 | 31 |
| Acido siálico | 7 | 12 | 12 |
| Fructuosa | 5 | 2 | 8 |

Calculado por: Muldoon & Westphal (14); Chader & Westphal (15 ó 16)

La concentración de GTC en suero, aumenta en estados de hiperestrogenismo, como son el embarazo y el obtenido por la administración de estrógenos sean estos sólo o asociados y utilizados como terapia anovulatoria (17, 18) y se ha encontrado disminuida en pacientes con cirrosis hepática (19). La lesión hepática en estos casos parece ser la responsable de la baja producción de la proteína antes mencionada.

En vista de la falta de información sobre la concentración de GTC en sujetos desnutridos con alteración en la síntesis de proteínas circulantes y su relación con el estado funcional del hígado, se consideró de interés determinar la concentración de dicha proteína transportadora, en pacientes con diferente estado de nutrición. También la concentración de cortisol en suero, y la valoración de 17-OHCE urinarios, fueron considerados parámetros fundamentales para un análisis de correlación más integral al propósito indicado antes a manera hipotética.

Cabe mencionar que la medición de GTC en suero ha sido realizado antes por numerosos investigadores, utilizando diferentes métodos como se puede apreciar en la Tabla IV. La mayoría de ellos son laboriosos y por lo tanto limitan el número de muestras a procesar. En éste trabajo realizamos algunas modificaciones a aquellos de absorción -- descritos por De Moor (20) y Trapp (21), para obtener una mayor practicabilidad, -- precisión y reproducibilidad y por ende confiabilidad en la determinación de GTC, -- para alcanzar nuestros objetivos.

TA B L A I V
METODOS UTILIZADOS PARA MEDICION DE GTC EN SUERO

| M E T O D O | A U T O R | A Ñ O | Referencia |
|-----------------------------|-------------------------|-----------|------------|
| Equilibrio por diálisis | Daughaday | 1956-1962 | 22 - 32 |
| | Slaunwhite and Sandberg | 1959 | 5 |
| | Murphy and Pattee | 1963 | 19 |
| Electroforesis: | Daughaday | 1958 | 23 |
| | Doe et al | 1960 | 24 |
| Ultrafiltración: | Mills et al | 1960 | 18 |
| | Sandberg et al | 1966 | 25 |
| Filtración en gel: | De Moor et al | 1962 | 26 |
| | Doe et al | 1964 | 27 |
| | De Moor et al | 1966 | 28 |
| | Musa et al | 1967 | 9 |
| | Lohrenz et al | 1967 | 29 |
| Aislamiento: | Muldoon and Westphal | 1967 | 14 |
| - Con resinas hidrofóbicas | Usui and Kawamoto | 1972 | 30 |
| Absorción: | | | |
| - Con florisil: | De Moor and Heyns | 1968 | 20 |
| | Trapp and West | 1969 | 21 |
| - Con carbón: | Este estudio | 1975 | |
| Cromatografía por afinidad: | Rosner and Bradlow | 1971 | 8 |
| Inmunológico: | Rosner et al | 1973 | 31 |

MATERIAL Y METODOS

Material clínico, pruebas realizadas

Un total de 142 sujetos fueron incluidos en el estudio, divididos en tres grupos:

Grupo I (control)

Estuvo formado por 21 sujetos del sexo masculino y 20 del sexo femenino.

Grupo II

Se incluyeron 41 pacientes con desnutrición secundaria divididos en dos subgrupos. El subgrupo A comprendió 21 enfermos con cirrosis hepática. La cirrosis hepática fue corroborada en todos los casos por pruebas de funcionamiento hepático y biopsia del hígado. El subgrupo B integró 20 pacientes con síndrome de absorción intestinal deficiente (SAID) secundario a varios padecimientos como: resección quirúrgica previa, ileítis regional, enteropatía por gluten y sprue. Las alteraciones sugestivas de absorción intestinal deficiente fueron corroboradas por pruebas como ---- D-xilosa, contenido de grasa fecal, prueba de carotenos, así como por biopsia intestinal y exámenes radiológicos. Todos los pacientes incluidos en este grupo, tenían un peso por lo menos de un 20% más bajo que el normal.

GRUPO III

Comprendió a 60 mujeres embarazadas con diferente edad gestacional, que varió desde 4 a 40 semanas.

En 8 pacientes del grupo con cirrosis hepática se practicó prueba de estimulación con ACTH (IM) por dos días las muestras de suero en todos los grupos de pacientes se obtuvo entre las 7 y 8 de la mañana consiguiéndose de las venas del codo, lo----
grándose ulteriormente por centrifugación el suero, el cual se mantuvo en congelación a 4° C.

1. Para la determinación de GTC.

El cortisol tritado (1, 2, 6, 7 - ^3H - Hidrocortisona) o $^3\text{H-F}$, con actividad específica de 91 Ci/mmol, fue obtenido de New England Nuclear (Boston, Mass.).

Su pureza fue cotejada por cromatografía de papel en el sistema Bush B₅ y disuelto en metanol al 5% en benceno a concentración de 25 uCi/ml. De ésta se preparó una solución conteniendo 6.00 uCi de $^3\text{H-F}$ en 25 ml. de solución amortiguadora de fosfatos 0.1M, pH 7.4 y KCl a concentración 0.1 M. Ésta solución F1 se conserva a 4° C.; cada 0.1 ml. contienen aproximadamente 20 000 cpm, con eficiencia de conteo aproximada de 40%.

El cortisol no radioactivo (F) se obtuvo de Steraloids Inc. (New York) y fue recristalizado antes de su uso. Se preparó una solución de 10 mg. por ml. de metanol. Esta se conserva a -15° C. y a partir de ella se preparó la solución F2 a concentración de 200 ng de F por ml. de solución de fosfatos - KCl.

Suspensión de carbón. El carbón utilizados (E. Merck, Ag, Germany) fue lavado varias veces en agua deionizada y activado en horno (100° C.) bajo vacío durante 4 horas. La suspensión fue preparada con 625 mg. de carbón activado en 100 ml. de solución amortiguadora.

2. Para la determinación de cortisol.

El cortisol tritado (New England Nuclear) fue preparado en solución amortiguadora de Buffer de Borato 0.06 M, PH 8.0 para que cada 0.1 ml. contengan aproximadamente 10 000 cpm, con la misma eficiencia de conteo señalada. (3 uCi de $^3\text{H-F}$ para 25 ml. de Buffer) a ésta se agrega 100 mg. de alfa globulina humana.

Metanol-Borato: (MeOH/Borato). Metanol 10% en bufer de Borato.

Solución sobresaturada de sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: preparada con un mínimo de 140 g. en 200 ml. de agua destilada.

3. Para la determinación de 17 hidroxicorticoesteroides urinarios:

De acuerdo a la técnica de Porte-Silber (33, 34).

Reactivos:

- a) Diclorometano destilado
- b) Metanol espectroscópico (Eastman Organic Chemicals)
- c) Acido sulfúrico (Dupont ó Merck)
- d) Acido acético glacial
- e) Beta glucuronidasa (Ketodasa Warner Chilcott de 5 000 unidades Fishman--por ml.)
- f) Acido sulfúrico al 62 % en agua
- g) Sulfato de sodio anhidro granular
- h) Hidróxido de sodio al 10 %
- i) Hidróxido de sodio 0.1 N.
- j) Fenilhidrazina purificada por cristalización referida
- k) Blanco de reactivos (dos partes de (H_2SO_4) al 62 % y una de metanol preparado antes de usarse)
- l) Reactivo de Porter - Silber. - 43.3 miligramos de fenilhidrazina en 100 ml. de blanco de reactivo.
- m) Solución Buffer de acetatos 0.5 M, pH 4.5
- n) Estándar de hidrocortisona recristalizado a partir de metanol en una concentración de 100 g. por ml.

Métodos.

I. Procedimiento para la determinación de GTC en suero:

A alícuotas (por triplicado) de 0.1 ml. de suero en tubos de 10 x 75 mm. se añadieron 0.2 ml. de la solución F1 y 0.2 ml. de la solución F2, y después de

breve agitación mecánica (vortex) se guardaron a 4° C. durante 18 horas, después de las cuales se agregó a cada tubo 0.2 ml. de la suspensión de carbón, mezclándose brevemente. Todos los tubos se colocaron sobre agua-hielo durante 15 minutos y centrifugaron a 2 500 RPM durante 10 minutos a 4° C.

CONTEO: la radioactividad fue analizada en alícuotas de 0,2 ml. del sobrenadante a los que se agregaron 0.3 ml. de solución amortiguadora y 5 ml. de solución de conteo compuesta por 4g. de 2.4 - Difeniloxazol (PPO), 100 mg. de 1.4 - bis 2-(4 - methyl - 5 - phenyloxazolyl) - benzene (Dimethyl POPOP) y 1 litro de tolueno. Después de nueva agitación en "vortex", la radioactividad fue determinada en un espectrómetro de centelleo líquido Packard, modelo 3315 durante 1 minuto en condiciones de máxima eficiencia para tritio.

Como controles (unión inespecífica) se utilizaron sueros calentados a 60° C. durante 25 minutos, los cuales fueron procesados en la misma forma. El 100 % de $^3\text{H} - \text{F}$ (n=3) se preparó con 0.2 ml. de solución F1, 0.2 ml. de la solución F2 y 0.3 de solución amortiguadora. Como controles de carbón se utilizaron muestras (n=3), conteniendo 0.2 ml. de la solución F1 0.2 ml. de la F2, además de 0.1 ml. de la solución amortiguadora y 0.2 ml. de la suspensión de carbón, siendo centrifugadas, para contar 0.2 ml. del sobrenadante.

Las etapas del procesado seguido en la determinación de GTC en suero, se resumen de la Tabla V.

Para el cálculo de la capacidad de unión y el contenido de la proteína transportadora de corticoides (GTC) en las muestras problemas, se utilizaron las siguientes fórmulas:

TABLA V

PROCEDIMIENTO PARA LA MEDICION DE GTC EN SUERO *

| | |
|---|---------|
| 1. Suero (triplicados) | 0.1 ml. |
| adición de: | |
| a) 20 000 CPM de $^3\text{H-F}$, (a.e.: 91 Ci/mM) | 0.2 ml. |
| b) 40 ng de F/PB-KCl ** | 0.2 ml. |
| 2. Incubación: 18 Hs./ 4°C. | |
| 3. Adición de carbón 625 mg/100 ml PB - KCl | 0.2 ml. |
| 4. Centrifugación (2500 RPM/4°C/10 min.) | |
| 5. Conteo de una alícuota de sobrenadante (1:3.5) | 0.2 ml. |
| 6. Cálculo de capacidad de unión (ugF/100 ml) y | |
| 7. Cálculo de concentración de GTC (mg/l) | |

* Modificación de las técnicas de Moor & Heyns (1968) (20)

** PB = Buffer de Fosfatos O.I.M. pH 7.4

A. CAPACIDAD DE UNION DE LA GTC = FT x % U x 1000

En donde:

FT: Cortisol endógeno + cortisol exógeno (muestra procesada)

%U: Porcentaje de unión de cortisol a la GTC =

$$= \frac{\text{CNP M} * \quad \times 3.5 ***}{\text{CNP M} ** \text{ TOTALES } 3 \text{ H-F}} \times 100$$

1 000 factor de conversión de cortisol en 0.1 ml. a g. de F/100 ml. de suero, que es la forma en que se expresa la capacidad de unión de la GTC.

$$B. \text{ CONTENIDO DE GTC/LITRO} = \frac{CU \text{ (GTC)} \times 10 \times PM \text{ (GTC)}}{PM \text{ (F)} \times 1000}$$

en donde:

CU (GTC): Capacidad de unión de GTC

PM (GTC): Peso molecular de GTC (51 700)

PM (F): Peso molecular de cortisol (362)

10, factor para el cálculo a 1 litro

1 000, factor de transformación de microgramos a miligramos

El contenido de GTC puede calcularse en forma simple, a partir del resultado de la primera fórmula (CU) (GTC), multiplicando esta cifra por 1.42, que proviene de los componentes de la fórmula B. O sea:

$$\frac{10 \times 51\,700}{362 \times 1\,000} = 1.4281767 - 1.42$$

II. Procedimiento para la medición de cortisol total en suero.

La concentración de cortisol fue determinada en duplicado de 0.1 ml. de suero problema, diluido en 4.9 ml. de metanol al 10% en Buffer de Borato 0.1 ml. de esta dilución fue utilizada para el análisis radioinmunológico en tubos de 12 x 75 ml. agregando 0.1 ml. de $^3\text{H} - \text{F}$ (10 000 cpm) y 0.1 ml. de anticuerpos --- (F 21-53 en Endocrine Sciences, USA) específico como anticortisol. Esta dilución de anticuerpo debe unir 65 a 75 % de $^3\text{H} - \text{F}$ a nivel cero masa. La curva estándar fue preparada en triplicado con concentración de F de 100 pg. a 2 ng. - La unión cortisol - anticuerpo se realizó a temperatura ambiente durante 2 horas y se empleó 0.3 ml. de sulfato de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) concentrada por tubo para la precipitación del complejo antígeno (F, $^3\text{H} - \text{F}$) anticuerpo, seguida de centrifugación. La medición de radiactividad se hizo en 0.3 ml. del sobrenadante. El contenido de F en la muestra fue establecido por interpolación de valores sobre la curva estándar utilizando papel logit para la realización del fenómeno competitivo. El cortisol total fue expresado como ng. por ml. de suero. La sensibilidad del método permite detectar cifras del orden de 10 ng. de F/ml. No es necesario calcular pérdidas ya que el procedimiento no requiere extracción ni purificación de la hormona a determinar, sino una simple dilución del suero utilizado.

Los pasos resumidos para la determinación de cortisol en suero se pueden observar en la Tabla VI.

TABLA VIRADIOINMUNOANÁLISIS DE CORTISOL EN SUERO

| | |
|--|---------|
| 1. Suero diluido (1 : 50) con 10% MeOH/Borato | 0.1 ml. |
| $^3\text{H-F}$ (10 000 CPM), | 0.1 ml. |
| Anti-F (F 21 - 53) * | 0.1 ml. |
| 2. Incubación: 2 Hs/t.a. | |
| 3. Adición de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Soln. Saturada) | 0.3 ml. |
| 4. Centrifugación | |
| 5. Conteo de alícuotas de sobrenadante (1 : 2) | 0.3 ml. |
| 6. Cálculo de contenido F vs curva estándar (0-2 ng, triplicados) | |

* Endocrine Sciences, USA.

Especificidad: F, 100%; B, 89%; p_4 , 2%;
17 p_4 , 20 p_4 y S, 1.8% Aldo, 1.6%,

DOC, 1.5%, otros C_{21} , C_{19} ó C_{18} , menos

B) Preparación de estándares y blancos se emplea Hidrocortisona.

Utilizar dos tubos que servirán como blancos de reactivos y otros dos tubos con 20 y 40 microgramos del estándar de hidrocortisona cada uno. A todos se les agregan 30 ml. de diclorometano y procesa a partir de la etapa 8 descrita para los problemas hasta la obtención de un extracto seco.

C) Reacción de color: Formación de cromógenos de Porter - Silber.

Agregar 5 ml. del reactivo de Porter - Silber a los extractos de estándares y problemas. Dejar de 18 a 24 horas en la obscuridad. Leer en Densidad Óptica (D.O.) en un espectrofotómetro modelo Beckman DB a 370, 410 y -- 450 milimicrones. Hacer la corrección de Allen. (35) Para estándares y problemas. Las densidades ópticas corregidas se grafican en papel milimétrico en las ordenadas y la concentración de hidrocortisona una de (20 y 40-mg.) en las abscisas. Sobre esta "curva de calibración" ó de estándares se interpolan los valores de D.O. de los problemas. El cálculo para el contenido de 17 - OHCE en orina se establece, en términos de hidrocortisona considerando la alícuota del volúmen urinario total y se expresa como miligramos en 24 horas. No requiere corrección de períodos ya que los estándares utilizados fueron sometidos al mismo procesamiento.

RESULTADOS :

La precisión del procedimiento utilizado para la determinación de GTC, fue analizada en una colección de sueros de hombres normales y mujeres embarazadas. Los resultados se resumen en la Tabla VII. El coeficiente de variación (CV) intraensayo en sueros de hombres normales fue de 6.32% (n=11) y el obtenido de mujeres embarazadas de 5.23% (n=11). El CV interensayo con muestras de hombres normales fue de 12.14% (n=9) y el calculado de las mujeres embarazadas de 6.44% (n=8).

La capacidad de unión de la GTC (g F/100 ml) en sujetos normales fue de 14.85 y 15.58 para hombres y mujeres respectivamente. En el grupo de desnutridos los resultados fueron de 10.79 para aquellos con síndrome de absorción intestinal deficiente y de 9.22 para los pacientes cirróticos. En el grupo de embarazadas los resultados fueron de 26.74, 31.69 y 36.33 en los trimestres progresivos de gestación (TABLA VIII).

La concentración de GTC (mg/l) en suero fue de 20.91 y 21.72 para el primer grupo (control), de 15.31 y 31.05 para el segundo grupo y de 37.79, 44.71 y 51.18 para el grupo de embarazadas (TABLA VIII). Los resultados de los valores individuales se muestran en la figura 3.

Los valores de cortisol (ng/ml) en el grupo control fue de 124.4 y 123.5 para

TABLA VIIPRECISION DE LA DETERMINACION DE GTC EN SUERO (mg GTC/l)

| SUERO DE: | INTRAENSAYO | | INTERENSAYO | |
|------------|-------------|-------|-------------|-------|
| | H.N | M.E | H.N. | M.E |
| \bar{X} | 19.60 | 37.82 | 19.68 | 37.43 |
| \pm D.E. | 1.24 | 1.98 | 2.39 | 2.41 |
| C.V. (%) | 6.32 | 5.23 | 12.14 | 6.44 |
| (n) | 11 | 11 | 9 | 8 |

H.N.: Hombre normal

M.E.: Mujer embarazada

TABLA VIII

| SUJETOS | CAPACIDAD DE UNION DE LA GTC (ug F/ 100 ml) | | | CONTENIDO SERIO DE LA GTC (mg / l) | | | | |
|------------------------|--|-------|------|------------------------------------|-----------|-------|------|-----------|
| | \bar{X} | \pm | D.E. | LIMITES | \bar{X} | \pm | D.E. | LIMITES |
| <u>Normales:</u> | | | | | | | | |
| Hombres (n = 21) | 14.85 | | 2.24 | 12.5-18.9 | 20.91 | | 2.54 | 17.3-26.3 |
| Mujeres (n = 20) | 15.58 | | 2.11 | 12.6-18.9 | 21.72 | | 2.84 | 17.5-26.2 |
| <u>Desnutridos:</u> | | | | | | | | |
| S.A.I.D. (n = 20) | 11.64 | | 2.05 | 6.3-14.0 | 16.54 | | 2.92 | 8.9-19.8 |
| Cirróticos (n = 21) | 9.22 | | 1.85 | 2.8-11.9 | 13.05 | | 2.63 | 5.5-16.8 |
| 1er. Trím. (n = 20) | 26.74 | | 1.91 | 23.9-30.6 | 37.79 | | 2.65 | 33.9-42.6 |
| 2o. Trím. (n = 20) | 31.69 | | 2.19 | 27.3-35.7 | 44.71 | | 3.18 | 38.0-50.6 |
| 3er. Trím. (n = 20) | 36.33 | | 3.47 | 31.0-42.3 | 51.18 | | 4.93 | 43.1-60.0 |

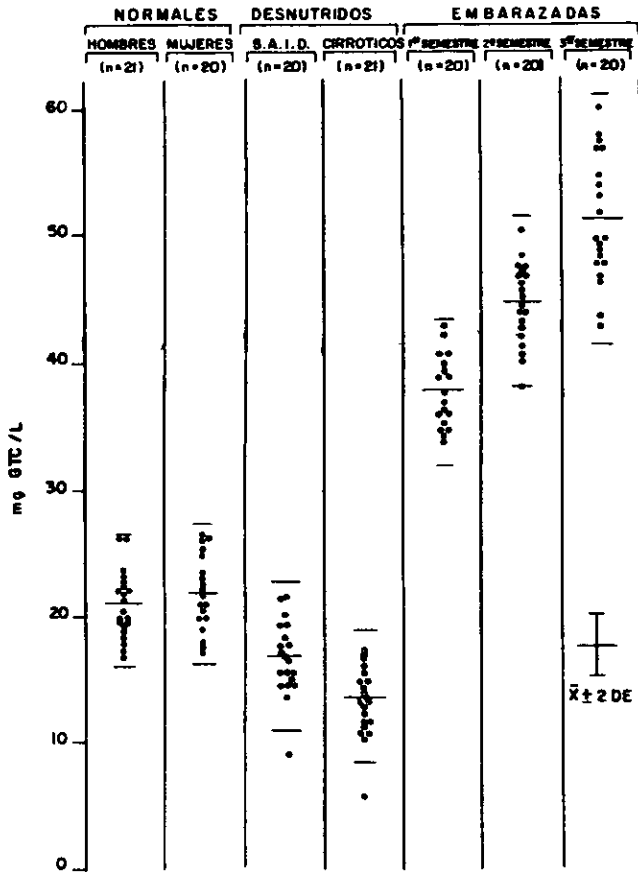


FIG. 3

FIGURA 3 Resultados obtenidos de la determinación de la globulina transportadora de corticoides en suero en suero de sujetos normales, desnutridos y mujeres embarazadas.

hombres y mujeres normales respectivamente. En el grupo II de desnutridos para el subgrupo de pacientes con síndrome de absorción intestinal deficiente las cifras fueron de 87.0 y para el subgrupo de enfermos con cirrosis hepática de 96.7. Las cifras de cortisol para el grupo III, de mujeres en diferentes edades gestacional fue: para el primer trimestre de 274.0, en el 2o. trimestre de 296.5 y en el 3o. de 347.0. (TABLA IX).

Los valores obtenidos en las determinaciones de los 17 hidrocorticosteroides urinarios en el Grupo de sujetos normales y en los pacientes desnutridos se encuentran resumidos en la Table IX. Para el Grupo de Mujeres Embarazadas no se realizaron dichas determinaciones.

En 8 de los 21 pacientes con cirrosis hepática se practicó prueba de estimulación con ACTH (I.M. x 2 días), los resultados se muestran en la Tabla X.

Los valores de albúmina y globulina encontrados en los subgrupos de desnutridos se encuentran en las Tablas XI y XII.

El análisis de la correlación entre los valores de la G T C con los encontrados de albúmina en suero en pacientes desnutridos, se muestran en las figuras 4 y 5.

TABLA IX

VALORES DE CORTISOL EN SUERO Y DE 17-OHCE OBTENIDOS EN
LOS GRUPOS ESTUDIADOS

| SUJETOS | CORTISOL EN SUERO (ng/ml) | | | 17-OHCE EN ORINA (mg/24 horas) | | |
|------------------------------------|------------------------------|-------|------|-----------------------------------|-------|------|
| | \bar{X} | \pm | D.E. | \bar{X} | \pm | D.E. |
| GRUPO I (Normales:) | | | | | | |
| Hombres (n = 21) | 124.4 | | 37.6 | 2.8 | | 1.2 |
| Mujeres (n = 20) | 123.5 | | 26.2 | 3.1 | | 1.3 |
| GRUPO II (Desnutridos:) | | | | | | |
| S.A.I.D. * (n = 20) | 87.0 | | 10.3 | 1.2 | | 0.8 |
| Cirróticos (n = 21) | 96.7 | | 28.7 | 0.8 | | 0.6 |
| GRUPO III (Embarazadas:) | | | | | | |
| 1er. Trimestre (n = 20) | 274 | | 87.0 | - | | - |
| 2o. Trimestre (n = 20) | 296 | | 47.8 | - | | - |
| 3er. Trimestre (n = 20) | 347 | | 49.0 | - | | - |

* SAID.- Síndrome de Absorción Intestinal Deficiente

TABLA XPRUEBA DE ESTIMULACION CON ACTH (IM) POR DOS DIAS
OCHO PACIENTES CON CIRROSIS HEPATICA

| SUJETO | SEXO | BASAL | | 24 horas | | 48 horas | |
|-----------|------|-------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | | F/s | 17-OHCEu | F/s | 17-OHCEu | F/s | 17-OHCEu |
| 1 | F | 39 | 1 | 24 | 0 | 41 | 1 |
| 2 | M | 85 | 0 | 396 | 10 | 426 | 29 |
| 3 | F | 50 | 0 | 310 | 0.9 | 609 | 5.5 |
| 4 | F | 79 | 1 | 55 | 1.3 | 58 | 0 |
| 5 | F | 70 | 1.5 | 329 | 0.9 | 512 | 9.4 |
| 6 | M | 58 | 0 | 54.8 | 1.9 | 97.5 | 0.5 |
| 7 | F | 44 | 0.2 | 286 | 1.6 | 417 | 2.8 |
| 8 | M | 47 | 0 | 305 | 2.5 | 375 | 8.2 |
| \bar{X} | | 59 | 0.4 | 219.9 | 2.3 | 316.9 | 7.0 |

F/s=Cortisol en suero

17-OHCEu = Hidroxicorticoesteroides urinarios

Son valores normales de cortisol en suero y de los 17 Hidroxicorticoesteroides urinarios en nuestro laboratorio son:

F/s Basal: 50 a 200 mg/ml

17 OHCEu 3.4 ± 1.7 mg/24 horas

TABLA XI

VALORES DE ALBUMINA Y GLOBULINA EN SUERO (g/100 ml) OBTENIDOS EN LOS PACIENTES CON SINDROME DE ABSORCION - INTESTINAL DEFICIENTE.

| SUJETO | SEXO | ALBUMINA | GLOBULINA |
|--------|------|----------|-----------|
| D.A.M. | M | 2.8 | 2.6 |
| H.A.A. | M | 3.7 | 3.8 |
| J.L.H. | M | 2.8 | 3.9 |
| I.N.L. | M | 3.2 | 3.8 |
| T.H.R. | F | 3.3 | 4.2 |
| J.A.S. | F | 4.4 | 4.0 |
| R.A.F. | M | 2.9 | 3.2 |
| J.L.E. | M | 3.0 | 3.6 |
| V.A.B. | F | 2.7 | 3.1 |
| R.A.S. | M | 2.3 | 3.2 |
| R.D.T. | M | 2.8 | 3.5 |
| A.C.T. | M | 2.7 | 3.1 |
| E.G.R. | F | 2.5 | 3.0 |
| R.P.O. | F | 3.5 | 3.0 |
| A.C.M. | F | 3.0 | 4.5 |
| J.C.R. | M | 2.5 | 3.8 |
| V.R.E. | M | 4.0 | 3.5 |
| F.C.N. | M | 4.2 | 4.2 |
| T.C.S. | M | 2.8 | 3.9 |
| J.R.G. | M | 2.4 | 4.0 |

$\bar{x} \pm$ D. E.

3.07 \pm 0.60

3.59 \pm 0.49

TABLA XII

VALORES DE ALBUMINA Y GLOBULINA EN SUERO (g/100 ml) OBTENIDOS EN LOS PACIENTES CON SINDROME DE ABSORCION - INTESTINAL DEFICIENTE .

| SUJETO | SEXO | ALBUMINA | GLOBULINA |
|--------|------|----------|-----------|
| L.L.A. | F | 3.8 | 4.2 |
| T.A.O. | F | 4.4 | 4.0 |
| C.L. | M | 3.4 | 3.8 |
| R.M. | M | 2.7 | 4.5 |
| S.L.G. | M | 2.7 | 4.3 |
| J.F.J. | M | 4.2 | 4.3 |
| I.A. | M | 3.4 | 4.0 |
| J.O.F. | F | 4.4 | 4.2 |
| A.N. | F | 2.8 | 3.8 |
| F.R. | M | 3.9 | 4.2 |
| A.M. | M | 3.5 | 4.0 |
| E.V. | F | 3.1 | 4.2 |
| E.O. | M | 1.3 | 7.7 |
| F.G. | M | - | - |
| C.C. | M | 4.2 | 2.3 |
| P.G. | F | 5.5 | 3.2 |
| A.P. | F | 1.3 | 6.0 |
| J.T.D. | M | 3.0 | 4.5 |
| M.B. | M | 3.3 | 6.9 |
| F.H. | M | 2.5 | 4.2 |
| I.N.G. | F | 3.2 | 3.8 |

$\bar{x} \pm D.E.$

3.33 ± 1.00 4.40 ± 1.19

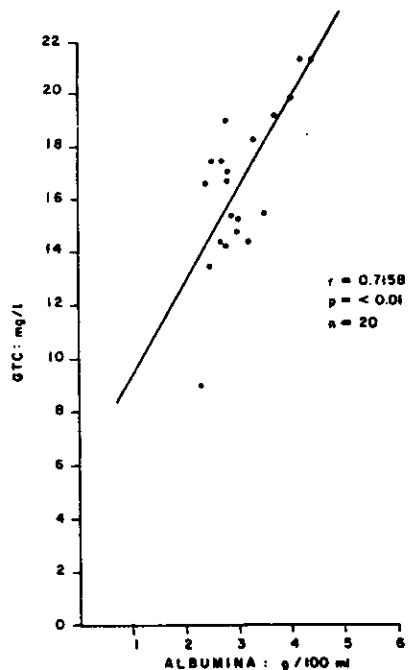


FIGURA 4: Relación de la globulina transportadora de corticoides con las cifras obtenidas de albúmina en suero de enfermos con síndrome de absorción intestinal deficiente.

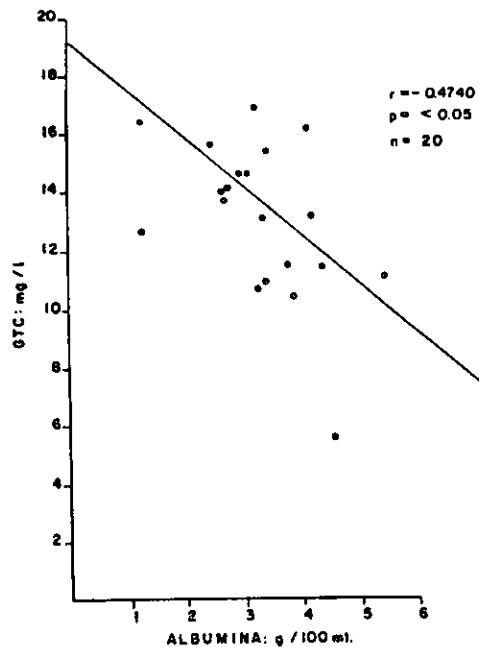


FIGURA 5: Relación de la globulina transportadora de corticoides y albúmina en suero de pacientes con cirrosis hepática.

DISCUSION:

Los resultados obtenidos en este estudio en relación con las cifras de GTC, aunque en general están acordes con aquellos informados por otros, son sin embargo discretamente más bajos. La diferencia en los valores podría ser debida a la metodología aquí utilizada, que en términos generales es diferente a la descrita por la mayoría de otros investigadores. En las tablas XIII, XIV y XV se pueden observar los resultados previamente obtenidos por otros autores tanto en sujetos normales de ambos sexos como en pacientes con cirrosis hepática, así como en mujeres embarazadas, en comparación a los obtenidos en este estudio.

La precisión del método aquí utilizado fue cotejada en sueros con dos concentraciones diferentes de GTC y en ambos fue posible demostrar que la variabilidad estuvo dentro de límites aceptables y que su reproducibilidad fue adecuada en los diferentes ensayos practicados.

Los valores de GTC encontrados en sujetos normales de ambos sexos, al igual que los informados, no reflejan diferencias significativas, siendo solo discretamente más altos en el sexo femenino que en el masculino (20, 21).

En este estudio se corroboró el aumento progresivo de los niveles de GTC en el transcurso del embarazo, siendo muy superiores a los encontrados en condiciones normales, detectándose concentraciones hasta de 51.18 mg/l en el tercer trimestre. El aumento en la producción y concentración de GTC se ha atribuido al exceso en la producción de estrógenos que normalmente se observa en esta situación fisiológica

TABLA XIII
VALORES DE GTC EN SUJETOS NORMALES

| AUTOR (ES) | METODO | VALORES NORMALES DE GTC(mg F/100 ml.) | n |
|--------------------------------|------------------------|---------------------------------------|-----|
| DAUGHDAY (1962) (32) | DIALISIS DE EQUILIBRIO | 20.1 ± 5.2 | 17 |
| DE MOOR ET AL (1962) (26) | FILTRACION EN GEL | 25.g + 3,8 | 83 |
| MURPHY & PATTEE (1963) (19) | DIALISIS DE EQUILIBRIO | H. 31.8 ± 5.5 | 12 |
| | | M. 30.9 ± 4.5 | 12 |
| DOE ET AL (1964) (27) | FILTRACION EN GEL | H. 24.0 ± 2.5 | 19 |
| | | M. 22.6 ± 3.0 | 16 |
| DE MOOR ET AL (1966) (28) | FILTRACION EN GEL | H. 24.4 ± 3.3 | 400 |
| | | M. 24.2 ± 2.3 | 50 |
| MULDOON & WESTPHAL (1967) (14) | AISLAMIENTO | 19 . 6 | - |
| MUSA ET AL (1967) (9) | FILTRACION EN GEL | 23.8 ± 7.7 | - |
| LOHRENS ET AL (1967) (29) | FILTRACION EN GEL | 24.6 ± 2.4 | - |
| DE MOOR & KEYNS (1968) (20) | ADSORCION | H. 24.2 ± 2.5 | 30 |
| | | M. 24.8 ± 3.9 | 29 |
| TRAPP & WEST (1969) (21) | ADSORCION | 18.6 ± 1.9 | 15 |
| ESTE ESTUDIO (1975) | ADSORCION | H. 14.8 ± 2.24 | 20 |
| | | M. 15.5 ± 2.11 | 20 |

H: Hombres

M: Mujeres

TABLA XIV

VALORES DE GTC EN MUJERES EMBARAZADAS

| AUTOR (ES) | METODO | VALORES DE GTC (mg F/100 ml.) | n | VALORES NORMALES |
|---------------------------|-------------------|--|----------------|------------------|
| DE MOOR ET AL (1962) (26) | FILTRACION EN GEL | 1er. TRIMESTRE: 39 . 4 2do. TRIMESTRE: 48 . 4 3er. TRIMESTRE: 52 . 4 | 4 6 6 | 25.9 ± 3.8 |
| DE MOOR ET AL (1966) (28) | FILTRACION EN GEL | 1er. TRIMESTRE: 25 . 4 ± 2 . 9 2do. TRIMESTRE: 41 . 2 ± 3 . 5 3er. TRIMESTRE: 43 . 1 ± 3 . 8 | | 24.2 ± 2.3 |
| TRAPP & WEST (1969) (21) | ADSORCION | 3er. TRIMESTRE: 32 . 4 | 10 | 18.6 ± 1.9 |
| ESTE ESTUDIO (1975) | ADSORCION | 1er. TRIMESTRE: 26 . 7 ± 1 . 91 2do. TRIMESTRE: 31 . 6 ± 2 . 19 3er. TRIMESTRE: 36 . 3 ± 3 . 47 | 20 20 20 | 15.3 ± 1.97 |

TABLA XV

VALORES DE GTC EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPATICA

| AUTOR (ES) | METODO | VALORES DE GTC (mg F / 100 ml) | n | VALORES NORMALES |
|--------------------------------|------------------------|-----------------------------------|----|------------------|
| DE MOOR ET AL (1982) (26) | FILTRACION EN GEL | 27.3 | 10 | 25.9 ± 3.8 |
| MURPHY & PATTEE (1963) (19) | DIALISIS DE EQUILIBRIO | 24.3 ± 5.1 | 12 | 31 ± 5 |
| DOE ET AL (1964) (27) | FILTRACION EN GEL | 16.1 | 8 | 23 ± 3 |
| ESTE ESTUDIO (1975) | ADSORCION | 9.22 ± 1.85 | 21 | 15.3 ± 1.97 |

(21, 26, 28). A este respecto cabe mencionar que la terapia estrogénica en mujeres no embarazadas produce un incremento en la concentración de GTC. Este efecto también se observa en hombres (17, 18, 26), y que el incremento de GTC se debe fundamentalmente a los estrógenos, ya que se detectan diferencias aún en las mujeres menstruales en las etapas de mayor producción estrogénica (26, 32).

Los valores de GTC en el grupo de desnutridos fueron los más bajos encontrados de todos los grupos estudiados, y de estos los de mayor significación se encontraron en los pacientes con cirrosis hepática. Las cifras detectadas en los pacientes con síndrome de absorción intestinal deficiente fueron de 16.54 ± 2.92 mg/l, en comparación con las obtenidas en pacientes con cirrosis hepática, cuya concentración fue de 13.05 ± 2.63 . La diferencia fue altamente significativa entre estos dos resultados ($p < 0.001$). La diferencia entre los valores del grupo de desnutridos con los valores obtenidos en sujetos normales fue también igualmente significativa ($p < 0.001$). Estas diferencias pueden ser explicadas en base a que en el grupo de desnutridos existe una falta de absorción intestinal de componentes necesarios para la producción proteica, además de la alteración hepática que representa una falla en la síntesis tanto de albúmina como de algunos de los componentes de las globulinas. Posiblemente las cifras encontradas en los pacientes con cirrosis hepática representen una falla tanto en la absorción como en la producción y secreción de dichas proteínas.

Las cifras de cortisol encontradas en el suero de sujetos normales son similares a las obtenidas por otros grupos que han utilizado ya sea técnicas de saturación proteica (36), de dilución isotópica (37), ó radioinmunológicas como la aquí empleada en esta medición.

Los cambios hormonales que ocurren durante el período de gestación en relación --

con los niveles de cortisol en suero ya ha sido señalado previamente en esta etapa fisiológica (38). La hipersecreción de corticoides no solamente ha sido informada durante el embarazo normal sino también en el patológico (39). Esta hipersecreción de cortisol ha sido considerada como un fenómeno de "stress", sin embargo, en esta condición fisiológica no hay, para la gran mayoría de las mujeres, manifestaciones de hipercortisolismo clínico. Se ha sugerido que así como incrementa el cortisol a lo largo del embarazo, también hay aumento en la producción de estrógenos que a su vez producen un aumento en la concentración de GTC, que inactivaría el exceso de cortisol (38). En este estudio se pudo corroborar perfectamente el incremento proporcional entre las cifras de cortisol total y las de GTC producido en el embarazo. La concentración de GTC es capaz de inactivar no menos del 90% de las cifras de cortisol total circulante detectadas en las diferentes edades de gestación analizadas.

También se pudo corroborar que los valores de cortisol en suero de sujetos desnutridos se encuentran en los límites bajos de normalidad, como ha sido también encontrado por algunos investigadores para otras razas en condiciones similares con o sin alteración hepática (40). Este hecho permite conjeturar sobre el posible mecanismo regulatorio involucrado para mantener una secreción de cortisol adecuada pese a la disminución en la producción de GTC. A este respecto cabe mencionar que los pacientes con cirrosis del hígado, además de las cifras de cortisol mencionadas y de GTC encontradas, tienen excreción baja de 17-hidrocorticoesteroides urinarios. Es posible que debido a la limitación en el transporte por deficiencia de GTC, pueda existir una concentración de cortisol libre dentro de límites normales o pueda aún estar aumentada, como ha sido encontrado recientemente por Mc Caum y Fulton (41).

Estos hallazgos podrían explicar la baja excreción de 17-hidroxycorticoesteroides

urinarios encontrados por ellos y también en este estudio.

Estos hechos resultan en una aparente incongruencia entre la disminución de la excreción de metabolitos de cortisol y un aumento de la fracción libre de esta hormona ya que en estas condiciones se esperaría una mayor inactivación periférica que no se observa ni al analizar los 17-OHCE y los 17= O urinarios ni por la excreción de cortisol libre urinario (41). Por otro lado, es poco probable que haya cambios en la vida media del cortisol circulante particularmente con cifras disminuidas de GTC. Es difícil, con estos datos, explicar satisfactoriamente las alteraciones y significación biológica de dichos cambios en este grupo particular de pacientes. No hay datos disponibles sobre cambios en la filtración glomerular.

Aparentemente este factor no sería el más importante ya que la estimulación con -- ACTH realizada en 8 de los sujetos con cirrosis hepática la excreción de 17-hidrocorticosteroides aumentó rápidamente y las cifras obtenidas después de dos días de estímulo con la hormona trópica estuvieron dentro de límites normales lo que elimina no sólo la posibilidad de una alteración en la filtración renal sino también la incapacidad suprarrenal que podría bien ser considerada como manifestación secundaria a los cambios descritos (42). Aparentemente no hay alteración importante en los mecanismos de reducción y conjugación al ácido glucurónico, proceso que se realiza fundamentalmente en el hígado y que con el daño hepático podría esperarse alterado. No existe información al respecto y sería un área de interés analizar más cuadrosamente.

Al analizar el contenido de albúmina, en el suero se detectó una disminución importante de esta fracción tanto en aquellos con SAID como en los cirróticos. Sin embargo las concentraciones de 3.07 y 3.33 g % para los grupos en cuestión respectivamente no son significativas estadísticamente ($p < 0.20$). Sin embargo, las diferencias

cias encontradas en la fracción de globulinas no sólo es significativa entre ambos grupos ($p < 0.05$) sino es también diferente de la de sujetos normales. Este incremento de globulinas es más importante en el sujeto con cirrosis y como ha sido -- descrito por otros investigadores el aumento global es a expensas de la fracción - gamma. Este fenómeno ha sido interpretado como una proteogénesis extrahepática, quizás en tejidos de la economía ricas en linfocitos y células plasmáticas --- (43), aunque la significación real es aún desconocida.

Desafortunadamente, en este estudio no se pudo corroborar que el aumento de glo bulinas detectado, pudiera ser debido a la fracción gamma, ya que no se hizo el análisis electroforético y evidentemente carecemos de la información sobre el con tenido total de -globulinas, grupo al que pertenece la GTC deficiente en --- nuestros casos. Además, al hacer el análisis de correlación de valores de albúmi- na globulinas en los grupos de desnutridos, se encontró un hecho muy interesante. La correlación A/G en los pacientes con SAID es directa ($p < 0.01$), es decir, a me nor concentración de albúmina menor concentración de globulinas (Fig. 4).

Esto parece indicar que en estos sujetos, sin deterioro de la función hepática, la síntesis de ambas proteínas son función de los precursores disponibles, disminuidos en estos sujetos, pero aquellos con valores bajos se manifiesta para ambas a dife- rencias de los pocos con cifras normales y aún elevadas, que ponen de manifiesto la suposición mencionada. Por el contrario, en los sujetos con cirrosis, además de que no se pudo demostrar este fenómeno, la correlación obtenida tiene tenden- cia a ser inversa (Fig. #5) pese a la dispersión de los datos individuales obtenidos ($p < 0.05$).

Estos hallazgos son indicativos de diferencias cualitativas en las síntesis proteicas en ambos grupos. Sin embargo, la explicación definitiva a estas observaciones -

quedaría abierta para nuevas teorías y especulaciones, que permitan explicar las alteraciones hormonales encontradas y los mecanismos regulatorios involucrados - ya que en el momento actual existen algunas incongruencias en base a los hallazgos hasta ahora disponibles.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

BIBLIOGRAFIA

1. URIBE, M., MORATO, T., KERSHENDBICH, D., y WOLPERT, E.: Insuficiencia Suprarrenal en pacientes con cirrosis hepática. XIV Reunión Anual de la Soc. Mex de Nutr. y Endocr. Nov. 1974.
2. LEVIN, A.S. and JEFFAYL, T.: Metabolism of serum albumin in rats with - cirrhosis of the liver. J. Lab. Clin. Med., 63: 776, 1964.
3. DAUGHADAY, W.H.: Binding of corticosteroids by plasma proteins. II Paper electrophoresis and equilibrium paper electrophoresis. J. Clin. Invest., - 35: 1434, 1956.
4. DAUGHADAY, W.H.: Corticosteroid binding by a plasma alpha globulin. J. Clin. Invest., 36:881, 1957.
5. SLAUNWHITE, W.R., Jr., and SANDBERG, A.A.: Transcortin: A corticosteroid binding protein of plasma. J. Clin Invest., 38:384, 1959.
6. SEAL, U.S. and DOE, R.P.: Purification, some properties and composition of the corticosteroid and thyroxine - binding globulins from human serum. Ex-- crepta Medica ICS, 83:325, 1964.
7. SEAL, V.S. and DOE, R.P.: Corticosteroid binding globulin: Biochemistry, - physiology and phylogeny en: Pincus, G., Nakao, T. and Tait, J.F. (Eds): Steroid Dynamics. Academic Press, New York, 1966, p. 63.
8. ROSNER, W. and BRADLOW, L.: Purification of Corticosteroid - Binding Globulin from Human Plasma by Affinity Chromatography. Clin Endocr 33:193, 1971.
9. MUSA, B.U., SEAL, U.S., DOE, R.P.: Excretion of corticosteroid - binding globulin, thyroxine-binding globulin and total protein in aduek males - with nephrosis: effects of sex hormones. J. Clin. Endocr. 27: 768, 1967.
10. SLAUNWHITE, W.R., Jr., SCHNEIDER, S., WISSLER, F.C., and ----- SANDBERG, A.A.: Transcortin: A corticosteroid - binding protein of plasma. IX. Isolation and characterization. Biochemistry, 5: 3527, 1966.

11. FANGHANEL, G., BLITZ, I., URIBE, M., MORATO, T.: Determinación de cortisol y globulina transportadora de corticoides (G T C) en normales, embarazadas y pacientes con cirrosis hepática y síndrome de malabsorción intestinal. *Rev. Invest. Clin.* 28: 151, 1976
12. SANDBERG, A.A., SLAWNWHITE, W.R., Jr., and CARTER, A.C.: Transcortin: A corticosteroid binding protein of plasma. III. The effects of various steroids. *J. Clin. Invest.*, 39: 1914, 1960.
13. DIAMOND, M., RUST, N and WESTPHAL, U.: High-affinity binding of progesterone, testosterone and cortisol in normal and androgen-treated guinea pigs during various reproductive stages: relationship to masculinization. *Endocrinology* 84: 1143, 1969.
14. MULDOON, T.G. and WESTPHAL, U.: Steroid protein interaction. XV. -- Isolation and characterization of corticosteroid - binding globulin from human plasma. *J. Biol. Chem.*, 242:5636, 1967.
15. CHADER G.J. and WESTPHAL, U.: Steroid - Interactions isolation and characterization of the corticosteroid - binding globulins of the rabbit. *J. Biol. Chem.* 243:928, 1968.
16. CHADER, G.J. and WESTPHAL, U.: Steroid - Interactions isolation and characterization of the corticosteroid - binding globulins of the rabbit. *Biochemistry* 7:4272, 1968.
17. SANDBERG, A.A. and SLAWNWHITE, W.R., Jr.: Transcortin: A corticosteroid binding protein of plasma. II levels in various conditions and the effects of estrogens. *J. Clin. Invest.*, 38: 1290, 1959.
18. MILLS, I. M., SCHEDL, H.P., CHEN, P.S. and BARTTER, F.C.: The effect of estrogen administration of the metabolism and protein binding of hydrocortisone. *J. Clin. Endocr.*, 20:515, 1960.
19. MURPHY, B.E.P. and PATTEE, C.J.: A study of the binding capacity of corticosteroid - binding globulin in plasma. *J. Clin. Endocr.* 23: 459, 1963.
20. DE MOOR, P. and HEYNS, W.: Cortisol binding affinity of plasma transcortin (CBA) as studied by competitive adsorption. *J. Clin. Endocr.* 28:1281, - 1968.
21. TRAPP, G.A. and WEST, C.D.: Determination of corticosteroid - binding - proteins by a adsorption method. *J. Lab. and Clin. Med.*, 73:861, 1969.

22. DAUGHADAM, W. H. : Binding of corticosteroids by plasma proteins. I. Dialysis equilibrium and renal clearance studies. *J. Clin. Invest.* 35: 1428, 1956.
23. DAUGHADAM, W.H. : Binding of corticosteroids by plasma proteins. IV. The electrophoretic demonstration of corticosteroid binding globulin. *J. Clin. Invest.* 37: 519, 1958.
24. DOE, R.P., ZINNEMAN, H.H., FLINK, E.B, and ULSTROM, R.A.: Significance of the concentration of nonprotein - bound plasma cortisol in normal subjects, Cushing's syndrome, pregnancy and during estrogen therapy. *J. Clin. Endocrinol.* 20: 1484, 1960.
25. SANDBERG, A.A., ROSENTHAL, H., SCHNEIDER, S.L., and SLAUNWHITE, W. R. : Protein - steroid interactions and their role in the transport and metabolism of steroids, in Pincus, G., Nakao, T., and TAIT, J.F., Editors. *Steroid - dynamics*, New York, 1966, Academic Press, INC., P. 1.
26. DE MOOR, P., HEIRWEGH, K., HEREMANS, J.F. and RASKIN, M.D.: Protein binding of corticosteroid studied by gel filtration. *J. Clin. Invest.*, 41: 896, 1962.
27. DOE, R.P., FERNANDEZ, R. and SEAL, U.S. : Measurement of corticosteroid - binding globulin in man. *J. Clin. Endocr.*, 24: 1029, 1964.
28. DE MOOR, P., STEENO, O., BROSENS, I. and HENDRIKS, A.: Data on transcortin activity in human plasma as studied by gel filtration. *J. Clin. Endocr.*, 26 : 71, 1966.
29. LOHRENZ, F.N., SEAL, U.S. and DOE, R.P. : Adrenal function and serum protein concentrations in a kindred with decreased corticosteroid - binding globulin (CBG) concentration. *J. Clin. Endocr.*, 27: 966, 1967.
30. USVI, T. and KAWAMOTO, H. : A new method for estimation of corticosteroid - binding globulin with hydrophobic resin. *Clin chim. Acta.*, 37: 151, 1972.
31. ROSNER, W., DARMSTADT, R.A. and TODEL, S. : A simple precipitin test for corticosteroid - absence of corticosteroid - binding globulin in 10,000 subjects. *J. Clin. Endocr.*, 37: 983, 1973.
32. DAUGHADAY, W.M., ALDLER, R.E., MARIZ, I. K. and RASINSKI, D.C. : -- Measurement of the binding capacity of corticosteroid - binding globulin in human plasma. *J. Clin. Endocr.*, 22: 704, 1962.

33. SILBER, R.H. and PORTER, C.C.: The determination of 17, 21, dihydroxy-20-KETOSTEROIDS in urine and plasma. *J. Biol. Chem.* 210:923, 1954.
34. CORRAL GALLARDO, J., ALAMILA, M., GALVAN, C., y GOMEZ --- MONT, F.: Determinación de 17, 21 dihidróxi - 20 - cetosteroides en orina y plasma por el método de silber porter. *Rev. Invest. Clin.* 9:379 (Julio - - Septiembre), 1959.
35. ALLEN, W.M.: A simple method for analyzing complicated absorption curves of use in the colorimetric determinations of urinary steroids. *J. Clin. - Endocr.*
36. MURPHY, B.E.P.: Some studies of the protein - binding of steroids and their application to the routine micro and ultramicro measurement of various --- steroids in body fluids by competitive protein - binding radioassay. *J. Clin-Endocr.* 27:973, 1967.
37. KENNY, F.M.; PREEYASOMBAT, CH.; and MIGEON, C.J.: Cortisol production rate II. Normal infants, children, and adults. *Pediatrics* 37 (1): 34-42, Jan. 1966.
38. MIGEON, C.J., KENNY, F. M. and TAYLOR, F.H.: Cortisol production rate. VIII. Pregnancy. *J. Clin Endocr.* 28: 661, 1968.
39. DE MOOR, P., STEENO, O., BROSENS, I. and HENDRIKX, A.: Data on transcortin activity in human plasma as studied by gel filtration. *J. Clin. -- Endocr.* 26: 71, 1966.
40. LEONARD, P.J. and MACWILLIAM, K. M.: Cortisol binding in the serum - in Kwashiorkor. *J. Endocrin* 29: 273, 1964.
41. Mc Cann, V.J. and Fulton, T.T.: Cortisol metabolism in chronic liver disease. *J. Clin Endocr. Metab.* 40: 1038, 1975.
42. FANGHANEL, S.G., MORATO, T., KERSHENOBICH, D WOLPERT, E.; -- Disfuncion suprarrenal en enfermos con cirrosis hepática sin manifestaciones - clínicas de hipocortisismo. IX semana nacional de la Sociedad Mexicana de - Gastroenterología, Diciembre 1976, México, D. F.