

LABORATORIO DEL HOSPITAL PROVINCIAL DE JAEN

JEFE: DR. ABELARDO MORENO QUESADA

## El laboratorio en las hepatopatías <sup>(1)</sup>

*Dr. Abelardo Moreno Quesada*

Hoy sólo expondremos las *pruebas biológicas destinadas a la diferenciación de las ictericias.*

Desde el punto de vista biológico, el primer dato a confirmar en el diagnóstico clínico de la ictericia es la demostración de la *hiperbilirrubinemia.*

La bilirrubina pertenece al grupo de los llamados pigmentos biliares, y, según la concepción clásica, se consideran dos tipos distintos de bilirrubina: la bilirrubina que reacciona en medio acuoso, llamada también *cole-rrubina*, y la bilirrubina que no reacciona sino en presencia del alcohol y se denomina *hemorrubina*. Pero en estos últimos años se ha dado un paso gigante en el conocimiento de estos

pigmentos, y a modo de resumen podemos concretar las siguientes conclusiones:

1.º Toda la bilirrubina está prácticamente unida a las proteínas (albúmina), y no hay, por tanto, bilirrubina libre.

2.º La bilirrubina directa es un compuesto formado por bilirrubina y *ácido glucorónico* bajo la forma de mono y diglucorónidos.

3.º La bilirrubina indirecta es la propia bilirrubina unida a las proteínas, pero no al ácido glucorónico.

4.º El compuesto bilirrubina-glucorónico es soluble en agua, y, por tanto, reacciona con el reactivo diazoico y da una reacción directa.

(1) Conferencia leída en el Seminario Médico del I. E. G., en memoria del Dr. Beltrán.

5.º La bilirrubina que no está unida al ácido glucorónico, sino solamente a las proteínas, es insoluble en agua, y, para que reaccione, hace falta la presencia del alcohol, que rompe esta unión dando una reacción indirecta.

En estas concepciones físico-químicas están basados los métodos de que actualmente disponemos los patólogos clínicos para efectuar la determinación de este pigmento. Nosotros tenemos una gran experiencia en el método de MALLORY y EVELYN, en el cual el reactivo diazoico reacciona con la bilirrubina transformándola en pigmento rojo o azorrubina.

En primer lugar, la determinación de bilirrubina y sus fracciones nos permitirá descartar una ictericia hemolítica pura, pues en esta afección existe una bilirrubina elevada (20-25 miligramos por ciento), pero la fracción que aumenta es la bilirrubina indirecta, no soluble en agua, y, por tanto, no se produce eliminación por el riñón (no hay coluria).

Mas todas las cosas no son tan sencillas, pues en el grupo de las ictericias parenquimatosas y obstructivas las dificultades se acumulan, siendo casi imposible la diferenciación de las mismas por el porcentaje de bilirrubina directa en relación con la total. En estos casos la urobilinogenuria, aunque puede servirnos de ayuda, tampoco es un factor decisivo, ya que esta última determinación sólo es de

gran valor en las fases preictéricas de la hepatitis aguda o crónica, donde las investigaciones efectuadas por Nogués demostraron que en la fase preictérica de las hepatitis la curva de urobilinogenuria es elevada, y baja, la curva de bilirrubinemia, pero, conforme va evolucionando el proceso, la primera va descendiendo, para aumentar la segunda, cruzándose ambas para después volver a cruzarse de nuevo en sentido inverso.

Conclusión: En un enfermo con ictericia intensa, un valor bajo de urobilinogenuria no significa que nos encontremos ante una ictericia obstructiva.

Pero el problema se complica aún más, si tenemos en cuenta la existencia de ictericias obstructivas intrahepáticas, con lesiones de los colangiolos, llamadas también hepatitis pericolangiolíticas.

Por los datos expuestos y siguiendo las concepciones bioquímicas expuestas por el doctor GRAS en su diagnóstico bioquímico de las ictericias, orientamos el problema de diagnóstico diferencial de las mismas en los siguientes datos:

- 1.º Valoración en la tasa de enzimas circulantes.
- 2.º Valoraciones de la lipemia.
- 3.º Variaciones del proteinograma y mucoproteínas.

## ENZIMAS

*Colinesterasa.* — La colinesterasa plasmática ha sido intensamente estudiada por la escuela de JIMÉNEZ DÍAZ, por MOGENA y VILLASANTE, señalando que en los enfermos con cirrosis y hepatitis existe una disminución marcada de la tasa de este enzima, siendo más patente en la atrofia amarilla de hígado.

El valor de la determinación de la colinesterasa en el diagnóstico diferencial de las ictericias ha sido controlado por ORELLANA en un grupo de cuarenta y nueve pacientes de ictericia obstructiva y treinta y dos de hepatitis, señalando que en las obstrucciones benignas los valores obtenidos están dentro de la normalidad, mientras que en las benignas están francamente descendidos, y concluye que la determinación de colinesterasa puede ser utilizada para el diagnóstico diferencial de la ictericia extrahepática benigna o maligna, pero que no sirve como dato único para el diagnóstico diferencial entre la ictericia obstructiva extrahepática y la parenquimatosa.

Por otra parte, las técnicas manométricas son engorrosas, aunque exactas, y las titrimétricas, más factibles de ejecución, están sujetas a error. Nosotros tenemos montado el método colorimétrico de MOLANDER y FRIEDMAN, aunque no disponemos de casuística suficiente para exponerla

ante ustedes, pues es técnica recientemente incorporada a nuestro servicio privado.

*Fosfatasa.*—Son fosfomonoesterasas que actúan hidrolizando los ésteres primarios del ácido fosfórico. ROBERTS observó en una amplia serie de enfermos que en las ictericias obstructivas existía un aumento de fosfatasa alcalina, mientras que en el caso de ictericia catarral apenas está variada la tasa de este enzima, y posteriormente, en otras investigaciones más detenidas, señaló que la tasa de fosfatasa alcalina del suero puede servir para el diagnóstico diferencial de las ictericias obstructivas extrahepáticas.

Un punto interesante es el de que no existe ninguna relación entre el grado de ictericia y los valores de fosfatasa, como demuestran los trabajos de GIBBONS, según los cuales la elevación de fosfatasa depende, no sólo del factor éxtasis, debido a la obstrucción, sino también de la hiperproducción de la misma por la regeneración parenquimatosa o por las células neoplásicas.

Nuestra experiencia en esta determinación coincide con los datos antes expuestos, y en varios cientos de determinaciones hemos comprobado que el aumento es patente en las ictericias obstructivas extrahepáticas, modificándose muy ligeramente en las hepatitis.

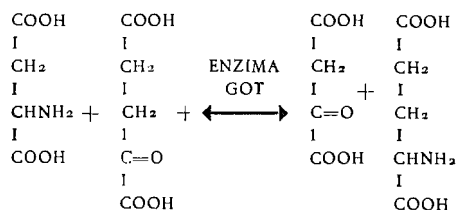
Hacemos hincapié en un detalle de

su técnica muy importante y en el control del substrato de  $pH = 9$ , que ha de ser comprobado siempre antes de su empleo, pues es muy fácilmente atacable por los microorganismos. Empleamos usualmente el método de KING-ARMSTRONG, y, más recientemente, la técnica preconizada por la Warner-Chilcott con reactivos estables indefinidamente y de ejecución rápida y segura.

*Transaminasas.*—Al comprobar la riqueza del tejido hepático en transaminasas, WROBLEWSKI y LADNE pensaron que sería interesante estudiar las variaciones de la tasa de esta enzima en el suero, como posible índice de lesión hepática.

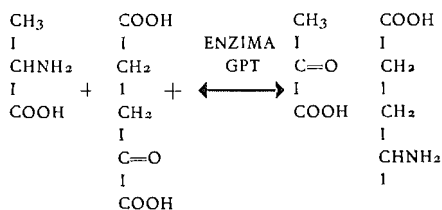
La enzima (G. O. T.) tiene la propiedad de transferir un grupo amino ( $NH_2$ ) de un aminoácido (aspártico) a un grupo cetónico (ácido alfa-cetoglutárico). Los productos formados en esta reacción (transaminación) son un aminoácido (ác. glutámico) y otro ácido cetónico, el ácido oxalacético.

La reacción es la siguiente:



La enzima (G. P. T.) transfiere el grupo amino del aminoácido (alamina) al grupo cetónico del ácido ceto-

glutárico, y se forma: un aminoácido, el ácido glutámico, y otro ácido cetónico, el ácido pirúvico.



La transaminasa glutámico-pirúvica se encuentra en mayor proporción en el hígado. Por esto una elevación de la T. G. P. indica siempre una lesión degenerativa de la célula hepática.

*Fundamentos técnicos.*—La determinación de la actividad transaminásica del suero se hace dosificándose el ácido pirúvico que se forma en la reacción. Este ácido pirúvico forma con la dinitrofenilhidrazona una sustancia cromógena denominada piruvato de difenil-etil-hidrazona, en medio alcalino y de intenso color pardo, que es medida por fotocolorimetría, y los valores se expresan en unidades por centímetro cuadrado de suero. Una unidad representa la presencia de materia cromógena equivalente a una  $\gamma$  (gamma) de piruvato.

Valores normales.—T. G. O. = 1-40 unidades.

Son muy demostrativos los trabajos de HENRY, quien, en un lote de 16 pacientes con hepatitis aguda, encuentra un valor de 800-3.000 unidades de T. G. P., y en otra serie de

25 pacientes con ictericia obstructiva, valores de 200 unidades.

Todos los autores están de acuerdo en el curso evolutivo de la curva de transaminasemia, siendo muy precoz en su aparición (antes de la fase icterica) y remitiendo en el curso favorable antes de la ictericia.

Por lo que se refiere a su valoración en el diagnóstico diferencial de las ictericias parenquimatosas, es de gran valor el dato positivo de una cifra elevada.

Frente a un enfermo muy icterico, un valor de transaminasa muy elevado sugiere el diagnóstico de hepatitis, mientras que una transaminasa moderadamente elevada sugiere el de una ictericia obstructiva.

Un dato muy interesante y que siempre hemos de valorar es la posibilidad de un rápido descenso de estos enzimas por efectos de tratamiento cortisónico.

Nuestra experiencia está basada en unas 20 determinaciones efectuadas, encontrando valores muy altos de 2.000 unidades en atrofia aguda de hígado, normal en las enfermedades extrahepáticas y discretamente aumentadas en las ictericias obstructivas.

*Dehidrogenasa isocitrica y láctica.*—Estas dos enzimas también se han estudiado en su aplicación al diagnóstico diferencial de las hepatopatías por SPENCER, WOLFSON y WILLIAMS. Como cifras normales encuentran 100

milimicras (m $\mu$ ) por centímetro cuadrado hora para la dehidrogenasa isocitrica y 7.000 para la láctica; pero es aún prematuro sacar conclusiones de unos factores que están en pleno estudio.

Existen también otros enzimas, entre los cuales está la *Procaínesterasa* que hidroliza la procaína (disminuida su actividad en las hepatopatías).

La *Aldolasa* es un enzima que escinde la fructuosa-difosfato en gluceroaldehido-fosfato y dihidroxiacetona-fosfato. Aumenta en la hepatitis viral.

La *Fosfohexosaisomerasa*, que cataliza el paso de glucosa-6-fosfato a fructuosa-6-fosfato, y la *Fosfoglucmutasa* y la *Fumarasa*, enzimas todos, de momento, muy difíciles de valorar.

## LIPIDOS

Vamos a exponer solamente a la consideración de ustedes las variaciones de la Colesterolemia, fosfolipidemia e hiperlipemia por la importancia que presentan sus variaciones en las hepatitis pericolangiolíticas de larga evolución y en las cirrosis biliares.

*Colesterol.*—La cifra normal oscila entre 150-220 miligramos por 100, y no hacemos hincapié en su técnica porque es sobradamente conocida y de práctica diaria en el laboratorio clínico.

En las ictericias obstructivas está aumentada y en las intrahepáticas es

normal. Pero lo que más interés presenta es el estudio de *Lipograma* (lipemia total, fosfolípidos, colestero y grasa neutra) en la diferenciación de las ictericias obstructivas intra y extrahepáticas.

Los trabajos más interesantes corresponden a KUNKEL y colaboradores, en 1946, que estudiaron una serie de 18 pacientes de cirrosis biliar primitiva observando la extraordinaria hiperlipemia que presentan estos pacientes a expensas de los fosfolípidos y colestero.

Nosotros empleamos el método turbidimétrico de KUNKEL y ARHENS, fundado en que el suero mezclado con fenol en lata concentración, precipita los lípidos sin interferencia de las proteínas; es un método muy sencillo y que recomendamos. La cifra normal es de 500-600 miligramos por 100.

Más engorrosa es la determinación del fósforo lipoideo, el método de BLOOR es el empleado por nosotros, y consiste en efectuar la extracción con alcohol-éter, destruir la materia orgánica con ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno y, posteriormente, dosificar el fósforo por el método de FISKE.

Finalizamos esta descripción con la determinación de las *Lipoproteínas* por electroforesis con técnica idéntica a la del proteinograma sobre papel, con la variación de que la coloración se efectúa con Sudan IV o con Sudan III, y la lectura se hace por

transparencia de la banda con  $\alpha$ -bromonaftol en parafina y mirándolo en el fotodensitómetro, o bien cortando el papel en tiras iguales y diluyéndolas en ácido acético al 25 por 100 en alcohol etílico. De gran valor es el cociente de lipoproteínas  $\beta/\alpha$  que aumenta considerablemente en los estados patológicos con alteración de los lípidos plasmáticos.

### PROTEINOGRAMA Y MUCOPROTEINAS

En 1943 empiezan a aparecer los primeros trabajos acerca del proteinograma en las hepatitis. En síntesis, podemos decir que en las hepatitis agudas (infecciosas o epidémicas), la proteinemia total oscila en los límites normales, existe una hipoalbuminemia discreta, no varía la globulina  $\alpha$ , hay un aumento discreto de la globulina  $\beta$  y un también discreto aumento de la globulina  $\gamma$ .

Un dato interesante para el diagnóstico de ictericia obstructiva extrahepática es el encontrarnos con un aumento de la globulina  $\alpha$  y un discreto aumento de la globulina  $\gamma$ , pues, como antes hemos expuesto, la globulina  $\alpha$  no aumenta en las hepatitis.

En las cirrosis biliares o en las hepatitis colangiolíticas de larga evolución se presenta con alguna frecuencia en el proteinograma un dato de gran interés diagnóstico: es la hiperproteinemia. Esta hiperproteinemia se

presenta con hipoalbuminemia y con gran hipergammaglobulinemia, así como un aumento de la globulina  $\beta$ , aumento que puede calificarse como de una hiperlipemia, puesto que ya hemos visto el aumento de esta fracción en el lipoproteinograma.

No exponemos la técnica del proteinograma por considerarla de gran sencillez y evitar hacer interminable esta conferencia.

Más interés que el proteinograma ofrece el estudio de la *Mucoproteíemia*.

Las mucoproteínas forman parte del grupo de las glicoproteínas, y entendemos como tales toda proteína unida a un hidrato de carbono distinto de la ribosa o de la desoxirribosa.

Para su medida se utiliza la propiedad que tienen estas proteínas de permanecer en solución cuando se precipitan el resto de las proteínas con ácido perclórico 0,75 M y haciendo actuar el ácido fosfotúngstico que precipita la mucoproteína, que es dosificada con el reactivo de Folin-Ciocalteu.

En 1951 GREENSPAN hizo interesantes trabajos sobre las mucoproteínas en las hepatopatías, llegando a la conclusión de que existe una disminución de mucoproteína sérica en el 85 por 100 de enfermos con hepatitis, mientras que sólo existe una disminución del 20 por 100 en las ictericias obstructivas, ya que en el 98

por 100 están aumentadas. En las metastasis hepáticas aumenta la mucoproteína en el 90 por 100 de los enfermos.

Las cifras normales de mucoproteína son de 60-65 miligramos por 100.

En las ictericias obstructivas intrahepáticas el valor promedio está en la zona normal con discreta tendencia a la disminución, y esto es muy interesante para el clínico, porque éste puede pensar en ictericia obstructiva intrahepática si junto al dato de la mucoproteína obtiene el de la hiperproteinemia con hipergammaglobulinemia.

## PUNCION BIOPSIA

Hemos dejado para el final la descripción de los cuadros histopatológicos existentes en las ictericias, y lo hemos hecho adrede, porque creemos que todo el problema de diagnóstico de las ictericias puede solventarse por medio de la punción biopsia, que es el medio más eficaz de diagnóstico.

Podrá alguien oponer a mi afirmación la conclusión de que es un método cruento; pero yo les aseguro que efectuada correctamente, los riesgos son mínimos y nada mejor para diagnosticar que la observación del propio tejido.

Se practica con aguja apropiada, existiendo infinidad de modelos. Nosotros hemos optado por el trocar del

doctor Segura Corrochano, que, a nuestro parecer, es la más sencilla.

La punción se efectúa inmediatamente debajo del reborde costal derecho y en su centro. Con los fragmentos obtenidos se efectúan cortes por congelación o con impregnación en parafina.

Histológicamente, en las ictericias se distinguen los siguientes cuadros:

Ictericias por obstrucción caracterizada por sobrecarga biliar. Los pigmentos se presentan en forma de granulaciones amarillentas en el interior de las células hepáticas y en forma de masas o trombos en los canalículos biliares. La sobrecarga biliar se manifiesta al principio en el centro del lóbulo hepático y, después, se extiende a la periferia, apareciendo los sinusoides muy dilatados, así como los canalículos intratrabeculares, en los que los trombos biliares toman

una forma alargada y erizada de pequeñas ramificaciones (aspecto de cuerno de ciervo). En la mayoría de los casos el espacio porta está indemne, y cuando existe infiltración portal, ésta es de polinucleares y fibroblastos.

En las ictericias intrahepáticas están afectados los espacios porta con infiltrados de eosinófilos y mononucleares que tienden a ganar las trabéculas hepáticas colindantes. Si la cirrosis se desarrolla rápidamente después de una colestasia o angiocolitis, el diagnóstico precoz, tan útil para el enfermo, sólo puede hacerse por la punción biopsia, donde observamos, aparte de los datos histológicos de una colestasia, la existencia de numerosos neocanalículos por metaplasia de la célula hepática que ulteriormente se transforma en una fibrosis y esclerosis de aspecto anular cuando está instalada definitivamente la cirrosis.