

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS DATOS QUIMICOS ANALITICOS
DE LA SANGRE CON VALORES STANDARD EN UN GRUPO
REPRESENTATIVO DE LA POBLACION SALVADOREÑA

TESIS DOCTORAL

PRESENTADA POR

NORA EGLES AMAYA SANTAMARIA

PREVIA A LA OPCION DEL TITULO DE

DOCTOR

EN

QUIMICA BIOLOGICA

OCTUBRE DE 1970

SAN SALVADOR

EL SALVADOR

CENTRO AMERICA



T
616.07562
A 490c
1970
F. R. Q. Q.
E 3 1

37548

U N I V E R S I D A D D E E L S A L V A D O R

RECTOR

DOCTOR JOSE MARIA MENDEZ

SECRETARIO GENERAL INTERINO

DR. OSCAR QUINTEROS ORELLANA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

DECANO

DR. JULIO CESAR MORAN RAMIREZ

SECRETARIO

DR. ELIAS ALVARADO CORNEJO

R/13-X/30 37546



J U R A D O S

PRIMER EXAMEN GENERAL PRIVADO DE DOCTORAMIENTO

PRESIDENTE: *Dra. Blanca Lidia Quintanilla de León*

SECRETARIO: *Dr. Luis Mario Samayo*

VOCAL *: Dra. Estela Monterrosa de López*

SEGUNDO EXAMEN GENERAL PRIVADO DE DOCTORAMIENTO

PRESIDENTE: *Dr. Mauricio Bigueur*

SECRETARIO: *Dr. Pedro Geoffroy Luna*

VOCAL *: Dra. Concepción Lemus de Béndix*

JURADO DE TESIS

PRESIDENTE: *Dra. Concepción Lemus de Béndix*

SECRETARIO: *Dr. José Antonio Recinos*

VOCAL *: Dra. Miriam Dubón de Méndez*

AGRADECIMIENTO:

Agradezco sinceramente al Doctor Rómulo Sosa Cáceres por su buena voluntad para asesorarme y al personal del Laboratorio Clínico del ISSS por la valiosa cooperación prestada para llevar a cabo el presente trabajo.

DEDICATORIA:

*A Dios por ser mi fortaleza y guiar siempre
mi camino.*

A mis queridos padres:

*Andrés Amaya y María Luisa Santamaría de
Amaya, con cariño y gratitud infinita.*

A mis hermanos:

Abilio, Armando y Milo .-

A mis familiares, maestros, compañeros y amigos.-

I N D I C E

<i>I</i>	-	<i>INTRODUCCION</i>	<i>Página</i>	<i>1</i>
<i>II</i>	-	<i>MATERIAL Y METODOS</i>	<i>"</i>	<i>3</i>
<i>III</i>	-	<i>RESULTADOS</i>	<i>"</i>	<i>60</i>
<i>IV</i>	-	<i>DISCUSION</i>	<i>"</i>	<i>76</i>
<i>V</i>	-	<i>RESUMEN</i>	<i>"</i>	<i>79</i>
<i>VI</i>	-	<i>BIBLIOGRAFIA</i>	<i>"</i>	<i>80</i>

I N T R O D U C C I O N

El presente trabajo es el fruto de varios meses de continua prueba.

Mis experiencias prácticas las efectué en el Laboratorio Clínico del Instituto Salvadoreño del Seguro Social; los métodos empleados para verificar las determinaciones químico-clínicas son los que actualmente se siguen en dicho laboratorio.

Las muestras utilizadas en los exámenes fueron sangre total, suero y plasma según lo que se necesitaba en cada técnica.

La población de adultos de ambos sexos, masculino y femenino, ha sido heterogénea en lo que respecta a edad, peso nivel económico y social. En esta clase de personas escogí a las que se encontraban en condiciones de salud.

En cuanto a valores normales, nos hemos basado siempre en datos que nos proporcionan los libros que tratan sobre esto, datos que han sido obtenidos de pruebas hechas en países europeos y en los Estados Unidos de América, los cuales por su alto nivel de desarrollo no tienen los problemas de alimentación que países latinos como el nuestro poseen.

Aparte de otros factores que influyen en el estado de salud de una persona, se puede afirmar que si se tiene u-

na dieta equilibrada, se tendrá un buen estado de salud y por consiguiente los componentes químico-sanguíneos estarán en un nivel óptimo.

Debo aclarar que, si bien es cierto que algunas sustancias son elaboradas por el organismo sin que requieran necesariamente una fuente exógena, la mayor parte sí están relacionados con la clase de alimentación que ingerimos.

No puede hallarse ejemplo mejor del dicho "somos lo que comemos", que en el análisis de los valores de determinados constituyentes de la sangre (1).

Los valores normales encontrados en el transcurso de este trabajo no han variado grandemente con los que ya se saben, pero se establece así una comparación que creo ha de ser provechosa e interesante.

II - MATERIAL Y METODOS

GLUCOSA

La glucosa es un azúcar reductor monosacárido que se encuentra en el organismo animal en mayor cantidad que los otros azúcares.

Normalmente hay de 70-90 mgs. % de glucosa en la sangre. La determinación de ella es muy importante puesto que el aumento o la disminución de la misma se debe a defectos en el metabolismo por el mal funcionamiento de ciertos órganos. Existen varios métodos para determinar el índice de glicemina, pero el que he seguido es el de Somogy-Nelson para glucosa verdadera, en el cual como su nombre lo indica sólo se cuantifica la glucosa.

Por este método se separan las proteínas tratando la muestra con Hidróxido de Sodio 0.5 N. y Sulfato de Zinc, con lo que se forman los dos compuestos insolubles, Hidróxido de Zinc y Sulfato de Sodio; éstos se combinan con las proteínas y las arrastran en su caída.

Al calentar el filtrado exento de proteínas con un reactivo alcalino de cobre, la glucosa reduce los iones cúpricos a cuprosos. El precipitado de óxido cuproso se hace reaccionar luego con un reactivo de arsenomolibdato, y el molibdeno hexavalente incoloro pierde valencias y toma un in-

tenso color azul.

Estas dos reacciones de óxido-reducción se definen in completamente en términos de equivalencia química absoluta, pero en condiciones específicas y normalizadas, el rendimiento de la reacción tiene significación cuantitativa; pues la intensidad de color azul es proporcional a la cantidad de glucosa presente al principio. (2)

DETERMINACION

REACTIVOS:

Sulfato de Zinc al 5%

Hidróxido de sodio al 0.5 N.

Solución A

Reactivo de Cobre

Solución B

Reactivo de Arsenomolibdato de Amonio

Bicarbonato de sodio

Sal de la Rochella

Carbonato de Sodio

Sulfato de Sodio

Sulfato de Cobre

MATERIAL

Sangre oxalatada

Solución standard de glucosa - 100 mg% (Harleco)

METODO

Se hace un filtrado libre de proteínas de la siguiente manera:

A - 7 ml. de agua destilada agregar 1 ml. de sangre mezclar

por inversión. Añadir 1 ml. de Sulfato de Zinc al 5% mezclar por inversión. Luego añadir 1 ml. de Na OH 0.5 y agitar fuertemente, dejar reposar un momento y filtrar utilizando papel filtro. Queda así listo el filtrado libre de proteínas que de ahora en adelante en el presente trabajo he de abreviar FLP. (2)

Con el FLP de la muestra desconocida se determina la glucosa del siguiente modo: A 2 ml. de FLP contenidos en un tubo Polin agregar 2 ml. de solución cúprica alcalina, calentar en agua hirviente durante 8 minutos exactos, enfriar en baño de agua por 2 minutos y agregar luego de este tiempo 2 ml. de ácido fosfomolibdico (reactivo de arsenomolibdato de amonio), agitar lateralmente y dejar reposar 5 minutos.- Finalizado este tiempo parar la reacción agregando agua destilada hasta completar la marca 25 del tubo.

Mezclar por inversión, dejar reposar por 10 minutos y leer en el fotocolorímetro con filtro azul. Se tira un Blanco utilizando 2 ml. de agua destilada.

El Blanco, el standard y el FLP del suero control normal (Hyland) se tratan igual que el desconocido.

CALCULOS

Lect. del desconocido $\times 100$ - mgs/100 ml.

Lectura del Standard.

El promedio de valores normales de glucosa verdadera de 100 muestras de personas sanas es de 74 mgs% y los límites varían entre 58 y 97 mgs%.

COMPUESTOS NITROGENADOS

La división de las sustancias alimenticias en hidratos de carbono, grasas y proteínas se extiende a veces a los numerosos compuestos orgánicos que existen en el cuerpo. Los compuestos nitrogenados comprenden las proteínas y los nitrogenados no protéicos. (3)

NITROGENO NO PROTEICO

El NNP total se valora principalmente para medir la función renal, actualmente suele preferirse la determinación específica de urea o creatinina si aquella está muy elevada.

Para determinar el NNP. los compuestos específicos y diversas sustancias distintas de las proteínas, hay que retirar estas últimas de la sangre del suero o del plasma. Esto se consigue por la adición de un anión o un catión, que con la proteína forma un producto insoluble, o añadiendo soluciones que por reacción den un precipitado, el cual arrastra la proteína por co-precipitación. (3)

DETERMINACION

El método usado es el de Nesslerización Directa

(Koch-Mc-Meehan) (6)

En este método el filtrado libre de proteínas se trata con una mezcla de ácido y peróxido la cual convierte al nitrógeno en amoníaco. La solución se nessleriza y se lee comparándola con una solución de tiosulfato de amonio tratada en igual forma

REACTIVOS

Tungstato de sodio al 10% (wolframato sódico)

Acido sulfúrico 1/12 N.

Superoxol al 30%

MATERIAL

Sangre total oxalatada

Standard de NNP de 40 mgs/100 ml.

METODO

Se prepara en FLP de la siguiente manera:

A 8 ml. de ácido sulfúrico 1/12 N. contenidos en un tubo de ensayo se le agrega 1 cc. de sangre oxalatada y se mezcla, se agrega luego 1 cc. de tungstato de sodio al 10% y se agita fuertemente, se deja reposar unos minutos y se filtra. El filtrado está exento de proteínas. Se trata el suero control normal de la misma manera.

Con el FLP se hace lo siguiente:

En 1 tubo de digestión se colocan 3 cc. de FLP del desconocido. Se añade 1 ml. de ac. sulfúrico al 50% y 3 o 4 perlitas de vidrio para disminuir la ebullición.

Se pone a digerir la mezcla así hecha sobre un mechero. Primeramente se pone color marrón, luego marrón oscuro llegando a veces a tener un color negro.

Cuando se comienza a emitir densos humos blancos se coloca un embudo en la boca del tubo de digestión para evitar que se pierdan vapores de nitrógeno.

Se deja estar la mezcla hasta que se aclare, sino se aclara se le agregan de 2 a 3 gotas de Superoxol al 30% para clarificar mejor retirándolo antes de la llama. Se coloca nuevamente a la llama del mechero durante más o menos tres minutos.

Al final de este tiempo se quita del calor y se deja enfriar, se añade agua destilada hasta completar la marca 35. Se mezcla por inversión. Se toman 5 ml. de la muestra digerida con una pipeta y se ponen en un tubo de ensayo o directamente en el tubo del colorímetro, agregándosele 2 ml. de reactivo de Nessler.

Se lee inmediatamente en el fotocolorímetro con filtro verde (5).

Se hace igual para el FLP del suero control normal (Hyland).

Para preparar el Standard (Harleco) de 40 mgs%, se toman 3 cc. del mismo, se le agregan 1 cc. de ácido sulfúrico al 50% y se diluye hasta la marca 35 con agua destilada. Blanco: 1 ml. de ácido sulfúrico al 50% se diluye hasta la marca 35 con agua destilada. El Standard y el Blanco se tratan igual que el desconocido.

CALCULOS

Lectura de la muestra desconocida

 x 40 - mgs. por 100 ml.

Lectura del Standard

Los valores normales del NNP varían según algunos entre 25 y 35 mgs%, otros consideran los límites de 15-35 mgs%.

Según mis conclusiones dichos límites están entre 20 y 41 mgs%, teniendo como promedio 32 mgs%.

El nitrógeno que se determina por este método representa el de los correspondientes de la sangre no precipitados y que continúan en solución. A este nitrógeno se le ha llamado "no proteico" y "no coagulable". Viene a ser el 1% del nitrógeno total. Sus fuentes principales son la Urea, ácido úrico, creatinina, creatina y amonócidos. El resto del nitrógeno es de origen indeterminado y constituye casi la mitad del nitrógeno no proteico de la sangre total (4).

A C I D O U R I C O

El ácido úrico constituye el producto final del metabolismo de las purinas y es un producto en parte exógeno y en parte endógeno.

Su importancia reside en que su determinación es una prueba de funcionamiento renal. Está aumentado en trastornos tales como dolores en las articulaciones, dolores agudos de gota, en la insuficiencia cardíaca congestiva y en otras series de afecciones. (7)

El fundamento de su determinación consiste en que el color producido por la acción del reactivo del ácido úrico con el ácido úrico del FLP de la sangre, es comparado colorimetricamente con el color producido por el mismo reactivo y una solución standard del mismo (2).

DETERMINACION

REACTIVOS

Urea cianida

Reactivo de ácido úrico

MATERIAL

Sangre total oxalatada

Solución standard de ácido úrico - 4 mgs%

METODO

El método es el de Folin modificado para sangre to-

tal (16)

El FLP utilizado en este método se hace de la siguiente manera:

A 8 ml. de ácido sulfúrico 1/12 N. agregar 1 ml. de sangre total oxalatada, mezclar por inversión y añadir 1 ml. de tungstato de sodio al 10%, agitar fuertemente hasta que la mezcla tome un color chocolate. Filtrar a través de papel filtro.

En un tubo de ensayo poner:

1 ml. de FLP del desconocido.

Agregar 2 ml. de urea cianida y agitar lateralmente.

Añadir 0.8 m. de reactivo de ácido úrico y agitar lateralmente.

Dejar en reposo 20 minutos a temperatura ambiente y completar a 10 ml. con agua destilada. Leer en el fotolorímetro contra Blanco puesto a cero.

El Standard, el blanco y el FLP del suero control normal se tratan igual que la muestra desconocida. El blanco se prepara poniendo 1 ml. de H₂O destilada.

CALCULOS

Lect. desconocido x 4 - mgs %

Los valores normales obtenidos de 100 personas adultas sanas resultaron ser de 1.2 - 7.6 mgs% con un promedio de 4 mgs %.

CREATININA

La creatinina se encuentra almacenada en los músculos en forma de fosfocreatina que es una forma importante de almacenamiento de fosfato rico en energía. En las condiciones fisiológicas de pH, temperatura y otros factores, la fosfocreatina pierde espontáneamente los elementos del ácido fosfórico en una reacción de ciclación que origina la creatinina (8).

Este método se basa en la comparación sw un color amarillo rojizo producido al tratar el FLP con un picrato alcalino. La comparación se hace con una solución tipo de creatinina sometida a igual tratamiento (17).

DETERMINACIONREACTIVOS:

Hidróxido de sodio al 0.75 N.

Acido pícrico 0.04 M

MATERIAL

Sangre total oxalatada

Standard de creatinina - 0.2 mgs%

Standard de creatinina - 0.5 mgs%

METODO (10)

Se hace un FLP de la sangre total oxalatada y de este filtrado se toman 3 ml. que se colocan en un tubo de ensayo.

Se le agregan 2 ml. de solución pícrica alcalina, la cual se consigue mezclando partes iguales de NaOH 0.75 N y ácido pícrico 0.04 M.

Se tira a la par un FLP de suero control normal (Hyland), un Blanco que se prepara utilizando 3 ml. de agua destilada y dos standards de creatinina cuyas concentraciones son respectivamente de 0.2 y 0.5 mgs%. Se tratan igual que el desconocido.

Dejar reposar 15 minutos

Leer en el fotolorímetro usando filtro VERDE.

CALCULO

$$\frac{\text{Lect. de desconocido}}{\text{Lect. del Standard.}} \times \text{conc. del St. - mgs. de creatinina \%}$$

Si las lecturas del desconocido no son mayores de 20 (en el colorímetro) se usa el Standard de 0.2 mgs% para verificar el cálculo; si sobrepasa esta cifra se usa el de 0.5%.

Los valores normales obtenidos varían de 0.5- 1.2 mgs%. La importancia de los cambios es semejante a los de la urea y de ácido úrico, sobre todo cuando esos valores están elevados.

N I T R O G E N O U R E I C O

La determinación del NNP puede ser considerada como un método indirecto para determinar la concentración del Nitrógeno ureico de la sangre. Ambos métodos rinden aproximadamente la misma información clínica.

El nitrógeno ureico es la expresión del nitrógeno y no de la urea. Para determinarlo se ha seguido el Método Hyland, que prácticamente es un micrométodo.

DETERMINACION

El Hyland U N Test, determina el nitrógeno ureico por el método de Fenol-Hipoclorito.

REACTIVOS

Buffer Ureasa

Reactivo de Fenol de Color

Reactivo de Hipoclorito Alcalino

Standard de Nitrógeno ureico

METODO

1 - En cada uno de 4 tubos de 10 ml. poner 0.2 ml. de solución de Ureasa.

Uno será para el desconocido, otro para Blanco, otro para el Standard y otro para el Suero control Normal (Hyland)

2 - Al desconocido agregar 0.020 ml. de plasma con una pi-

pipeta de Shali, al blanco 0.020 de agua destilada al St. 0.020 ml. de Nitrógeno Standard que tiene una concentración de 15 mgs% idéntica cantidad para el suero control. Mezclar por agitación lateral. (Si se ocupa la misma pipeta, poner primero el agua destilada, luego el Standard lavar la pipeta con agua destilada y por último medir el desconocido) tapar los tubos.

- 4 - Poner los tubos en baño de agua a 50-60° C. por 5 minutos.
- 5 - Agregar a cada tubo 1 ml. de reactivo de Fenol diluido y 1 ml. de Hipoclorito alcalino, mezclar los tubos por agitación lateral.
- 6 - Poner los tubos nuevamente en baño de agua a 55-60°C. por 6 minutos.
- 7 - Agregar 8 ml. de agua destilada a cada tubo. Mezclar por inversión.
- 8 - Leer en el colorímetro, con filtro VERDE y contra blanco puesto a cero.

CALCULO

Las unidades Klett son directamente proporcionales a la concentración de Nitrógeno de amonio.

Lectura del desconocido x 15 - mgs % de N.U.

Lectura del Standard

Los valores obtenidos en mis determinaciones están comprendidos entre 7 y 27 mgs%.

ELECTROLITOS

Describir las concentraciones de electrólitos en la sangre y en otros tejidos del cuerpo en mgs. x 100 no es adecuado para que se comprenda bien el equilibrio o balance de los mismos cargados positiva o negativamente, que existen en el organismo.

Las sustancias no reaccionan entre sí gramo por gramo o miligramo por miligramo, sino en proporción a sus pesos equivalentes. Los electrólitos se determinan habitualmente en suero o plasma porque la distribución de ellos en la sangre total y el componente suero plasma es desigual (3).

El método seguido en el presente trabajo es el de Fotometría de Llama.

La colorimetría o fotometría por absorción mide la luz que atraviesa una solución; la luz absorbida por un material de color mide la cantidad del componente que se está determinando.

La Fotometría de Llama mide la cantidad de luz producida cuando el calor de una llama excita un elemento. Se basa en los ensayos de llama empleados en Química General, los cuales enseñan que el Sodio produce una llama amarilla, el Potasio una llama violada y el Litio, Estroncio y Calcio una llama roja.

La muestra, suero u orina o extracto de tejidos en

dilución se lleva a la llama en forma de vapor o rocío. La solución puede suministrarse por un atomizador y conducirse en el aire destinado al mechero, o bien se dirige atomizado a la llama por un tubo recto. La llama puede ser de gas propano, de H_2 o de Acetileno en aire u oxígeno (11). El empleado en el laboratorio del Instituto Salvadoreño del Seguro Social es de oxígeno.

Los electrólitos que se determinan principalmente en el suero o plasma son: sodio, potasio, cloro y CO_2 .

DOSIFICACION DE SODIO Y POTASIO POR EL FOTOMETRO DE LLAMA

(COLEMAN) (12)

- 1 - Conectar el spectofotómetro (colorímetro) y fotómetro de llama unos 10 o 15 minutos antes de usarlo (eléctricamente). Luego ponga en blanco la escala del colorímetro Coleman.
- 2 - Abrir la llave del tanque del gas (una vuelta entera) y hacer lo mismo con la llama de la manguera que conduce el gas al fotómetro de llama.
- 3 - Con la ayuda de un fósforo (nunca de un encendedor) encender el fotómetro, acercándolo con cuidado en las proximidades del quemador.
- 4 - Abrir con cuidado la llave del tanque de oxígeno llevando la bolita niquelada hasta la medida 3, la llama azul

que se originará será un poco más de media pulgada.

5 - Cuando no se tengan soluciones standarizadas, trabajar con una solución patrón de concentración conocida (Lab-trol, Chemtrol, Normal Hyland, etc.).

Para su preparación (tanto de patrón como de muestra a verificar) hacer una dilución en un frasco volumétrico, poniendo un mililitro de suero del paciente y completando a 100 con agua destilada.

6 - Poner el filtro que se va a utilizar (Sodio, Potasio, etc.) con el símbolo de frente, en el fotómetro de llama. En estos momentos la llama tiene que ser uniforme.

7 - Colocar en su respectiva cubera agua destilada y poner a cero con la ayuda de los botones del fotómetro de llama, elevando dicha cubeta dentro del aparato.

8 - Con la cubeta que tiene la solución patrón llevar a una medida determinada en porcentaje de tramitancia (50 o 60 etc.) lo cual se hará moviendo los botones del colorímetro Cólleman.

9 - Con la cubeta que tiene la dilución del suero del paciente medir la lectura y porcentaje de tramitancia.

10- Para apagar dichos aparatos es muy importante tener presente que se hará lo contrario del encendido, es decir, cerrando la llave del oxígeno primero y luego la del tan-

que de gas, dejando en el último paso la llave de la manguera cuando desaparezca la llama del quemador.

11- Cerrar el paso de la corriente eléctrica de los aparatos.

CALCULOS

Hacer una regla de tres simple ayudándose con la tabla de valores del patrón usado.

De donde:

Valor del patrón X lectura del desconocido - meq/lto.
en la muestra.

Medida dada por el patrón (en % de transmitancia)

SODIO

El sodio de los alimentos se suele obtener como Cloruro sódico y la cantidad ingerida varía según el gusto de cada cual. Por eso no se conoce la ración mínima exacta necesaria al día. (3)

DETERMINACION

El método empleado para la determinación: el Coleman-Flame Photometer (12)

REACTIVOS

Reactivo # 3 (0.75 meq/lto. de Na y 0.02 Sterox SE)

Reactivo # 4 (0.5 meq/lto. de Na y 0.02 Sterox SE)

MATERIAL: Suero

METODO

1 - En un frasco volumétrico poner 0.5 ml. de suero, diluir a 100 ml. con agua destilada

2 - En Beakers de 10 ml. poner:

1) Agua 2) agua; 3) Standard # 3; 4) Standard # 4

3 - Lavar el atomizador con el Beaker # 1

4 - Poner a Cero con el Beaker # 2

5 - Con el Beaker # 3 poner a 65% de trasmisión en el fotómetro.

6 - Leer el Standard # 4. Este debe leer 48, 49, 50.

(Si no da cualquiera de estas lecturas, comprobar la lectura del Beaker # 2, siempre lavando antes con el # 1)

CALCULOS

Se interpolan los valores de la tabla # 1 según la lectura del Standard # 4.

POTASIO

En una dieta normal no hay carencia, pues este elemento se encuentra prácticamente en todas las sustancias nutritivas. El potasio es el principal catión hallado dentro de las células. La cantidad mínima de potasio que el hombre necesita no se conoce. (3)

DETERMINACION

El método empleado es el Coleman Flame Photometer.

REACTIVOS

Reactivo # 6 (0.1 meq/lto de K; 25 meq/lto de Na y 0.02% Sterox SE)

Reactivo # 7 (25 meq/lto de Na y 0.02% Sterox SE)

Reactivo # 8 (125 meq/lto de Na y 0.01% Sterox SE)

METODO

- 1 - En un frasco volumétrico de 25 ml. poner 0.5 ml. de suero*
- 2 - Agregar 5 ml. de reactivo # 8*
- 3 - Diluir con agua destilada a 25 ml.*
- 4 - En Beakers de 10 ml poner para lavado y blanco el reactivo # 7*
- 5 - En el Beaker del Standard poner el reactivo # 6*
- 6 - Lavar el atomizador con el Beaker Marcado Blanco*
- 7 - Poner el Standard reactivo # 6 a 50% de transmitancia*
- 8 - Comprobar las lecturas y leer las muestras.*

CALCULOS

Lectura de la muestra - meq/lto de K.

Como en todas las determinaciones se trata igual el suero control normal.

Los valores encontrados son: Na = 134-150 meq/lto. promedio =
140 meq/lto.

K = 3. 0-5.8 meq/lto Promedio =
4.1 meq/lto.

TABLA # 1

Concentración de Sodio en meq/lto., según lectura del St. # 4
(10)

Lectura de muestra	48	49	50
48	100	-	-
49	103	100	-
50	107	103	100
51	109	106	104
52	112	110	107
53	115	112	110
54	118	115	114
55	121	119	117
56	124	122	120
57	127	125	124
58	130	128	128
59	132	131	131
60	135	134	134
61	138	138	137
62	141	141	141
63	144	144	144
64	147	147	147
65	150	150	150
66	153	154	154
67	156	158	158

CLORO

La cantidad exacta de cloruros que necesita una persona adulta no se conoce. En el adulto el intercambio de cloruros es de 2-7%, aproximadamente, del total de ellos en el cuerpo.

Los cloruros desempeñan una función integral en la acción amortiguadora o tampón, cuando se intercambian Oxígeno y CO_2 en los hematíes.

Cuando la sangre está oxigenada, los iones cloro pasan de los hematíes al plasma, mientras que el bicarbonato deja éste y penetra en los glóbulos.

DETERMINACION

Para la determinación del cloro en el suero se utilizó en este trabajo el método de Schales y Schales (13) cuyo fundamento es el siguiente: los cloruros se combinan con los iones mercúricos para formar cloruro mercúrico no ionizado.

Aunque no se forme precipitado el cloruro mercúrico no disociado es igualmente eficaz para retirar cloruro de la solución. El punto final se reconoce porque aparecen iones mercúricos disueltos identificables con el reactivo de S-difenilcarbarzona, que cambia de incolora a amarillo claro has

ta azul intenso al combinarse con los iones mercúricos.

REACTIVOS

Solución de Nitrato de mercurio

Solución Standard de cloruro de sodio

Indicador de S-difenil carbarzona

Agua destilada

MATERIAL: Suero

METODO

Poner en un Beaker de 50 ml. o en un matraz Erlenmeyer de 25 ml. 0.2 ml. de agua destilada.

Añadir 0.2 ml. de suero y mezclarlo bien.

Añadir 4 gotas de s-difenil carbarzona. El color es rojo asalmonado en una mezcla ligeramente turbia.

Con una microbureta graduada de 0.01 a 0.05 valorar la mezcla utilizando la solución de nitrato de mercurio.

La coloración cambia a violeta intenso y luego a amarillo claro, y el final es un viraje perfectamente visible a violeta. (10)

CALCULOS

$\frac{\text{Meq. del suero desconocido}}{\text{Meq. del Standard de Cloro}} = x \text{ l} = \text{meq. lto.}$

Meq. del Standard de Cloro

Los valores normales obtenidos están comprendidos entre 92

y 114 meq.lto.

DIOXIDO DE CARBONO

El mantenimiento de las funciones celulares y de la vida depende del suministro ininterrumpido de cantidades adecuadas de oxígeno a los tejidos. Durante las actividades metabólicas de las células se produce abundante CO₂ que debe eliminarse del organismo en su mayor parte. Como ambas sustancias son gases estos intercambios de oxígeno y dióxido de carbono entre el organismo y el medio se afectan por los pulmones y constituyen el principio y el fin respectivamente de los fenómenos respiratorios. (3)

El contenido total en dióxido de carbono comprende la suma de bicarbonato, ácido carbónico y CO₂ disuelto, presentes en el suero o plasma del paciente.

Se determina por métodos tritimétricos, pero en la actualidad se prefiere determinarlo volumétricamente o manométricamente, acidificando la muestra y estimando luego el CO₂ liberado (14)

Los métodos manométricos están basados en el mismo principio que los volumétricos, pero los aparatos manométricos aportan mejor control técnico sobre los factores influenciadores y son, por lo tanto, mas precisos y mas utilizados ampliamente en la actualidad. (1)

DETERMINACION

El método seguido en esta determinación es para el CO₂ en plasma o suero por medio del Microgasómetro de Nattelson (1)

REACTIVOS

Mercurio Metálico

Acido láctico

Reactivo de Antifoam o alcohol caprílico

Hidróxido de sodio

METODO

Se coloca el suero en un tubo de ensayo pequeño

- 1 - En el microgasómetro llevar el mercurio hasta la punta de la pipeta hasta que una pequeña gota cuelgue de ella.*
- 2 - Aspirar la muestra hasta la marca 0.03 rotando la máquina hacia atrás.*
- 3 - Aspirar 0.01 de mercurio*
- 4 - Aspirar 0.03 de ácido láctico*
- 5 - Aspirar 0.01 de mercurio*
- 6 - Aspirar 0.01 de reactivo Antifoam o alcohol caprílico*
- 7 - Aspirar 0.01 de mercurio*
- 8 - Aspirar 0.1 de agua destilada*
- 9 - Aspirar mercurio hasta la marca 0.12*

- 10 - Cerrar la válvula superior y llevar los reactivos hasta la marca de 3 ml. (notar si hay escape)
- 11 - Agitar por 1 minuto
- 12 - Llevar la solución hasta la marca 0.12, leer el manómetro (1ª lectura)
- 13 - Llevar el mercurio hasta el tope del manómetro y abrir la válvula.
- 14 - Agregar 0.03 de hidróxido de sodio
- 15 - Agregar mercurio hasta 0.12
- 16 - Cerrar la válvula y bajar la mezcla hasta la marca 3 ml. agitar por 10 segundos.
- 17 - Llevar la mezcla hasta la marca 0.12 y leer en el manómetro (2ª lectura)

CALCULOS

$$(P_1 - P_2) \times \text{factor} = \text{CO}_2 \text{ en meq/lto.}$$

En la mayoría de los laboratorios, la expresión volúmenes por ciento de CO_2 que significa centímetros cúbicos de dióxido de carbono disueltos en 100 cc. de sangre o suero se ha reemplazado por la de meq/lto. o milimoles por litro. En condiciones normales, 1 ml. o 1000 milimoles (mM) de gas CO_2 ocupan 22.226 litros o 22260 cc. Dado que Vols % $\times 10 = \text{cc. de CO}_2/\text{lto.}$ puede emplearse la siguiente ecuación.

$$\text{mMol/lto} = \frac{\text{vols\%} \times 10}{22.26} \quad \text{o} \quad \text{Mmol/lto} = \frac{\text{vols\%}}{2.226}$$

Las operaciones de división se pueden simplificar, para convertir a Meq/lto. multiplicando los cc. de CO_2 en 100 cc (vols%) por el factor 0.450 (3)

El factor por el cual se multiplica la diferencia de presión es obtenido de la siguiente tabla, según la temperatura al verificarse la prueba.

TABLA 2

Factores para la estimación del contenido de CO_2 (1)

Tamp. °C,	Factor (Vols%)	Factor (mM/l)
17	0.536	0.242
18	0.533	0.240
19	0.529	0.238
20	0.526	0.237
21	0.524	0.236
22	0.522	0.235
23	0.518	0.234
24	0.516	0.233
25	0.513	0.232
26	0.510	0.231
27	0.508	0.230
28	0.506	0.229
29	0.504	0.228
30	0.502	0.227
31	0.500	0.225
32	0.497	0.224

Los valores encontrados en mis determinaciones están comprendidos entre 19 y 31 meq/lto. con un promedio de 24 meq/lto.

C A L C I O

El calcio necesario varía según los individuos y aún en el mismo individuo según el momento.

Los factores que regulan la absorción y retención del Ca en personas normales son: acidez gástrica adecuada para re sorber sales cálcicas solubles; aportación suficiente de Vitamina D para facilitar la resorción de Ca; digestión normal de grasas, relación apropiada de Ca y fósforo en la dieta y una aportación que basta para la precipitación de sales cálcicas insolubles en el intestino (3). Es decir estos son factores endócrinos, renales, gastrointestinales y nutricionales que proporcionan en condiciones normales una regulación precisa de la concentración del Ca en el plasma y otros líquidos somáticos (15).

Todo el calcio de la sangre está en el plasma o suero.

DETERMINACION

El método que he usado para determinarlo es el de FERRO HAM. Este se basa en precipitar el Ca como sal insoluble del ácido cloranílico, el exceso de este ácido se elimina lavándolo con alcohol isopropílico.

Luego se disuelve el precipitado de cloranilato cálcico en la sal tetrasódica del ácido etilendiaminotetracético. La solución rosada resultante se compara en el colorímetro con

patrones y blancos preparados análogamente.

REACTIVOS

Acido cloránico al 1%

*Sal tetrasódica del ácido etilendiamino tetracético
(EDTA)*

Alcohol isopropílico

Standard de Calcio

MATERIAL: *Suero*

TECNICA

En el tubo de la incógnita se colocan 2 ml. de suero

En el del Standard 2 ml. de solución de Ca.

Se hace igual para el suero control normal

Añadir a cada tubo 1 ml. de ácido cloránico reactivo

Los tubos que contienen proteínas deben de ser agitados para redissolver cualquier proteína precipitada.

Dejar en reposo a temperatura ambiente no menos de 30 minutos. Centrifugar durante diez minutos a 1800 rpm.

Decantar el líquido sobrenadante y dejar escurrir los tubos dos o tres minutos sobre papel filtro. Limpiar el borde del tubo para eliminar la última gota.

Vertir en cada tubo 5 ml. de alcohol isopropílico para deshacer el precipitado que se resuspenderá en este reactivo, mezclar la solución.

Centrifugar, decantar y dejar escurrir como se hizo anteriormente.

Añadir dos gotas de agua destilada a los tubos con precipitados compactos.

Después de un minuto de reposo se golpea ligeramente cada uno de los tubos para disgregar el botón de sedimento hasta que quede suspendido en el agua.

Se añaden 5 ml. de EDTA a cada tubo. Taponar los tubos e invertirlos varias veces hasta que el precipitado se disuelva por completo, dejar reposar luego 5 minutos. Al final de este tiempo leer con filtro VERDE.

CALCULOS

Lectura de la muestra

Lectura del Patrón X 10 = mgs. de Ca./100 ml. de suero.

El standard usado es de 10 mgs. %

La concentración sérica de Ca. se mantiene con bastante constancia entre 3 y 3.5 meq/ x lto.

En mis resultados los valores están comprendidos entre 3.6 y 5.2 meq/ x lto., teniendo como promedio 4.5 meq/ x lto.

F O S F O R O

La determinación del fósforo inorgánico (fosfato) requiere la conversión del fósforo en un FLP a ácido fosfomolibdico y la posterior reducción de este ácido produce un color cuya intensidad es proporcional a la cantidad de fósforo presente en dicho filtrado.

DETERMINACION

REACTIVOS: Acido tricloroacético al 10%

Reactivo de Molibdato

Acido sulfúrico (1-2-4-amino naftol sulfónico)

MATERIAL: Suero

Standard de fósforo = 4 mgs%

METODO

El método usado en este trabajo es el de Fiske-Subarrow (modificado) (11)

En sendos tubos de ensayo poner:

9.5 ml. de ácido tricloroacético al 10%

0.5 ml. de suero desconocido

Mezclar bien y centrifugar por 5 minutos. Filtrar a través de papel filtro Whatman # 42.

Medir 5 ml. de filtrado en un tubo de ensayo

Medir 5 ml. del Standard de fósforo

Hacer igual para el filtrado del Suero Control Normal

(Hyland)

Blanco: 5 ml. de agua destilada

Seguidamente agregar a cada uno de los tubos:

0.5 ml. de reactivo de molibdato y mezclar

0.2 ml. de reactivo de ácido sulfónico

Taponar y dejar reposar 10 minutos, al cabo de los cuales se lee en el colorímetro contra blanco puesto a cero y utilizando filtro VERDE.

CALCULOS

Lectura del desconocido

\times conc. del St. mgs. de fósforo/100 de

Lectura del Standard

suero.

Los valores normales que encontré están comprendidos entre 1.0 y 4.5 mgs. de fósforo por 100 ml. de suero Promedio = 2.1 mgs%.

Puesto que el fósforo constituye uno de los electrólitos de la sangre, su concentración debería ser reportada en términos de meq/lto; sin embargo esto no puede hacerse con precisión, puesto que el fósforo existe en la sangre de dos formas, una como ión fosfato divalente ($\text{HPO}_4 =$) y otro como ión fosfato monovalente (H_2PO).

Las cantidades exactas de estas formas podrían ser dadas si se convirtieran los mgs. por ciento a meq/lto. pero esta proporción depende del pH de la sangre.

Los límites de concentración del fósforo inorgánico en el

suero de adultos sanos varían entre 2.7 y 4.5 mgs/100 ml. de suero y también existe una variación con la edad.

El reactivo 1-2=4 amino naftol sulfónico usado en la técnica es el agente reductor y es capaz de reducir el ácido fosfomolibdico sin que actúe sobre el reactivo de molibdato de amonio (ác. molibdico). Por lo tanto, la intensidad del color producido depende solamente de la cantidad de ácido fosfomolibdico presente y por consiguiente de la cantidad de fósforo en el filtrado.

ENZIMAS

Las enzimas que he determinado son las que comunmente se analizan en los laboratorios clínicos y las que en nuestro medio con mayor frecuencia se solicitan.

Ellas son: Fosfatasa alcalina

Fosfatasa ácida

Transaminasas

Amilasa

Las enzimas son proteínas simples o conjugadas que catalizan las principales reacciones bioquímicas.

Las cantidades de estas enzimas presentes en la sangre son demasiado pequeñas para permitir su determinación cuantitativa en términos de mgs/100; por lo cual son cuantificadas e identificadas por su acción sobre sustratos especiales. La enzima cataliza una reacción en la que existe un sustrato apropiado y el producto final es medido.

Las actividades enzimáticas son reportadas en varios tipos de unidades arbitrarias y sus resultados se expresan en términos de unidades arbitrarias que son afectadas por el tipo y concentración en el sustrato, pH, tiempo, temperatura, etc. En tales circunstancias, las unidades varían de acuerdo al método empleado (11).

FOSFATASAS: ACIDA Y ALCALINA

Acida: Una fosfatasa ácida producida por las células epiteliales acinosas de la próstata y que está bajo el control de los andrógenos, el bazo, los riñones, el hígado, el páncreas y los huesos, tiene particular importancia porque su actividad enzimática se desarrolla a un pH de 5.0; una segunda que no tiene mucha importancia o la tiene muy escasa se presenta en los eritrocitos y su mayor actividad corresponde a un pH de 6.0.- El tejido prostático contiene normalmente de 100-500 veces mayor cantidad de fosfatasa ácida por gramo de tejido que cualquier otro órgano del cuerpo; como se presenta en las secreciones prostáticas se la encuentra no solo en la sangre sino también en el sémen. Es también característicamente producida en el carcinoma de la glándula prostática. (3)

La fosfatasa ácida normal del suero que es la misma en el adulto que en el niño de uno y otro sexo es menor de una unidad Bodansky/100 y de 0-4 unidades King-Anstromg/100. (2)

Alcalina: Esta fosfatasa se presenta especialmente en los osteoblastos, las células de la mucosa intestinal y la corteza suprarrenal. Se presenta también en las células tubulares del riñón, en el bazo, en los pulmones, en las glándulas mamarias, los tubos seminíferos y los leucocitos. Su actividad se desarrolla a un pH de 9-10.

DETERMINACION

La determinación de la actividad de la fosfatasa se realiza midiendo la diferencia entre el fósforo inorgánico total, después de la incubación del suero con el sustrato de Beta-glicerofosfato de sodio y el fósforo inorgánico sin incubación. (2)

REACTIVOS: Acido tricloroacético al 30%

A - muestra ácida	B- muestra alcalina
C - Blanco ácido de muestra	E- blanco alcalino de muestra
D - Blanco ác.de reactivo	F- blanco alcalino de reactivo.

METODO (1) (10)

Se marcan 6 tubos de ensayos así:

A - B - C - D - E - F.

En el tubo A poner 9 ml. de sustrato ácido

En el tubo B poner 9 ml. de sustrato alcalino

Colocar ambos tubos en baño de agua a 37° C. por 5 minutos

Agregar a cada tubo 1 ml. de suero. Anotar el tiempo

Taponar los tubos, mezclar por inversión dos veces y colocarlos en baño de agua a 37° C. por una hora exacta

En los últimos 30 minutos del período de incubación poner en los tubos C y D 9 ml. de sustrato ácido.

En los tubos E y F poner 9 ml. de sustrato alcalino
 Sacar los tubos A y B del baño al final de la hora exacta
 Inmediatamente agregar 2 ml. de ácido tricloroacético al
 30% a todos los tubos, empezando por A y B. Leer en el co-
 lorímetro así:

Para fosfatasa ácida poner a cero con D.

CALCULOS

Para fosfatasa ácida

Lect. de A - factor = mgs% de fósforo inorgánico en
 muestra ácida.

Lect. de C - factor = mgs% de fósforo inorgánico en
 blanco ácido de muestra.

A - B = fosfatasa ácida en unidades Bodansky/100
 ml. de suero.

Para fosfatasa alcalina

Lect. de B - factor = mgs% de fósforo inorgánico de
 muestra alcalina.

Lect. de E - factor = mgs% de fósforo inorgánico en
 blanco alcalino de muestra.

C - D = fosfatasa alcalina en unidades Bodansky/100 ml. de
 suero.

Concentración del St. de Fósforo = factor

Lectura del Standard de Fósforo,

Los valores obtenidos en el presente trabajo son:

Fosfatasa ácida: 0.1 y 1.1 Promedio = 0.3 unidades Bodansky.

Fosfatasa alcalina 0.2 y 5.8 Promedio = 3.2 unidades Bodansky.

A M I L A S A

Los métodos para la determinación de la amilasa dependen de la habilidad de esta enzima para catalizar la hidrólisis del almidón a azúcar simple.

DETERMINACIONREACTIVOS:

Sustrato compuesto de: fosfato disódico anhidro
 ácido benzoico
 almidón
 agua destilada

Este sustrato deberá tener un pH de 7.0 ± 0.1

Solución Stock de Yodo 0.1 N.

Solución de trabajo de Yodo

0.01 N.

MATERIAL

Suero

METODO

El método empleado en este trabajo ha sido el de Caraway modificado, el cual tiene la ventaja sobre los otros métodos en utilizar menos tiempo y el de ser bastante exacto si se verifica tal como indica la técnica.

El fundamento del método consiste en que el color azul verde

producido por el sustrato de papa cuando se combina con yodo, es medido después de incubar con suero y comparado con un control. La disminución del color es proporcional a la cantidad de la amilasa.

Se emplean dos reactivos estables para la prueba, la cual es posible completar en 15 minutos.

Para la lectura en el colorímetro se utiliza filtro ROJO.

TECNICA

Pipetear 5 ml. del reactivo de papa (sustrato de almidón) dentro de cada uno de dos frascos volumétricos marcados a 50 ml. estos serán Muestra y Control.

Incubar el frasco de Muestra en un baño de agua a 37° C. por 5 minutos.

Pipetear exactamente 0.1 ml. de suero dentro del fondo del frasco de la muestra.

Mezclar bien y regresar al baño de agua por 7½ minutos exactos.

Después de los 7½ minutos sacar el frasco Muestra del baño de agua y agregar inmediatamente 5 ml. de reactivo de Yodo (sol. de trabajo) a ambos frascos Control y Muestra.

Diluir a 50 ml. con agua destilada, mezclar bien agitando por inversión.

Se tira un Suero Control Normal (Hyland) y se trata igual que el desconocido.

Medir la densidad óptica de la muestra y control poniendo a cero con agua destilada.

CALCULOS

$$\frac{\text{Densidad óptica del Control} - \text{Densidad óptica de Muestra}}{\text{Densidad óptica del Control}} \times 800 =$$

Unidades de Amilasa/100 ml.

El resultado se da en unidades. La Unidad de Amilasa por este método se define como: "La cantidad de enzima que cataliza la hidrólisis de 10 mgs. de almidón en treinta minutos hasta una etapa en que no se desarrolla color azul con el Yodo".

Puesto que el sustrato contiene 0.4 mgs. de almidón por ml. la cantidad de 5 ml. usada contiene 2 mgs. de almidón.

Por la definición arriba mencionada 2 mgs. de almidón hidrolizados en $7\frac{1}{2}$ minutos es equivalente a:

$$\frac{2}{10} \times \frac{30}{7.5} \times 1 \text{ (unidad)} = 0.8 \text{ unidades}$$

Por lo tanto bajo las condiciones de este procedimiento la hidrólisis de este sustrato representa 0.8 unidades de amilasa por 0.1 ml. de la muestra o sea que en 100 ml. serán 800 unidades.

El número de unidades de absorbancia entre cero y la lectura del control, representa 800 unidades de amilasa.

El número de unidades de absorbancia y la lectura del desconocido representa la cantidad de sustrato hidrolizado de la muestra (11)

Por lo que: $\frac{A_1}{A_2} \times 800 = \text{unidades de amilasa por } 100 \text{ ml.}$

$A_1 = \text{control}$ $A_2 = \text{desconocido.}$

El límite de la actividad de amilasa en el suero de adultos por este método es esencialmente el mismo que el del método sacarogénico y que está arriba de 160 unidades por 100 ml.

Es bien conocido que cuando el yodo es agregado a una solución conteniendo almidón un color azul es lo que resulta.

Con este procedimiento la concentración de la solución de yodo se mantiene constante, así que cualquier cambio en el color (o absorbancia) significa un cambio en la concentración de la solución de almidón.

Se piensa que este cambio es proporcional a la actividad de la amilasa en la muestra. Los valores normales obtenidos en 100 muestras de adultos sanos están comprendidos entre 57 y 160 unidades por 100 ml. de suero, con un promedio de 112 unidades por 100 ml. de suero.

TRANSAMINASAS

La actividad de la transaminasa (glutámica oxalacética; glutámica pirúvica es demostrable en el suero normal.

La concentración sérica de la TSGO se encuentra elevada en ciertos estados patológicos. Estas cifras elevadas se han observado en el infarto del miocardio, necrosis hepática aguda, etc.

La TSGP se encuentra en mayor concentración en el hígado que en el músculo cardíaco. Debido a esta distribución es posible que la TSGP se encuentra más consistentemente aumentada en la hepatitis y constituye un indicador más preciso de la lesión aguda de la célula hepática que la TSGO. Las concentraciones de la TSGP no se encuentran elevadas en el infarto del miocardio. (15)

DETERMINACION

REACTIVOS: 1- Buffer sustrato para TSGO. Es una solución bufereada de ácidos aspártico y ketoglutámico, con un pH=7.4 (reactivo # 1)

2 - Reactivo de Color DPNH. Es una solución de 2-4 dinitrofenilhidrazina (reactivo # 2)

3 - Buffer sustrato para TSGP. Es una solución bufereada de alanina y ácido alfa-cetoglutámico con un pH de 7.4 (reactivo # 3).

- 4- *Standard de Calibración que no requiere dilución*
- 5- *Hidróxido de sodio, aproximadamente 0.4 N. Disolver 16 gramos de Na OH (Q.P.) en perlas, en un litro de agua destilada.*

MATERIAL

Suero

METODO

El método usado en este trabajo es el de Reitman-Frankel modificado (DADE).

El fundamento para la TSGO es el siguiente: la enzima glutámica oxalacética cataliza la conversión de ácido aspártico y ácido alfa-cetoglutarico en ácido glutámico y ácido oxalacético.

En este procedimiento, los quetoácidos se hacen reaccionar con dinitrofenilhidrazina (DNPH) para formar las hidrazonas de quetoácidos, las cuales mediante la adición de NaOH, producen un color pardo intenso que puede leerse en el colorímetro o fotómetro.

El fundamento para la TSGP es el siguiente: la enzima cataliza la conversión de alanina (en presencia de ácido alfa-cetoglutarico) a ácido pirúvico. En este procedimiento los quetoácidos se hacen reaccionar con dinitrofenilhidra-

zina para formar las hidrazonas de queto-ácidos los cuales mediante la adición de hidróxido de sodio producen un color pardo intenso que puede leerse en el colorímetro o fotómetro. (5)

En el Laboratorio del ISSS las lecturas de las transaminasas se verifican en el espectrofotómetro a 505 milicras.

TECNICA

Aquí describo la determinación simultánea de TSGO y TSGP.

TSGO - 1) Transferir 1 ml. de reactivo # 1 a un tubo de ensayo que tenga una capacidad no menor de 15 ml. y colocar en baño de agua a 37° C. durante 5 minutos.

2) Agregar 0.2 ml. de suero, mezclar bien y colocar nuevamente en el baño de agua durante 1 hora.

TSGP - 3) Aproximadamente después de 20 minutos de haberse efectuado la etapa 2, en un segundo tubo de ensayo se coloca 1 ml. de reactivo # 3 y se deja en el baño de agua a 37° C. durante 5 minutos. Exactamente 30 minutos después de haberse iniciado la etapa número 2, se añaden 0.2 ml. de suero, agitar bien y colocar nuevamente en baño de agua por 30 minutos.

- 4) Al cabo de una hora de haber efectuado la etapa N^o 2, retirar los tubos del baño de agua y añadir 1 ml. de reactivo # 2 a cada uno de ellos. Agitar y dejar en reposo a temperatura ambiente por 20 minutos.
- 5) Añadir 10 ml. de NaOH 0.4 N a cada tubo, agitar y dejar en reposo por 5 minutos. El color es estable por más de una hora.
- 6) Efectuar la lectura a longitud de onda de 05 milimicras cuando se usa el espectofotómetro Coleman Jr. o utilizar filtro VERDE cuando se usa el colorímetro KLETT.

Valores normales encontrados: TSGP= 5-38 unidades Promedio=
21 unidades.

TSGO= 6-43 unidades Promedio=
24 unidades.

PROTEINAS TOTALES
Y DIFERENCIALES

Entre los diversos componentes de la sangre, están las proteínas, estas incluyen hemoglobina, fibrinógeno y proteínas del suero; estas últimas se dividen un tanto arbitrariamente en albúmina y globulinas y además, en globulinas α_1 , α_2 , beta y gamma.

En general, cabe definir a las proteínas como compuestos de peso molecular elevado que consisten principalmente o por completo, en cadenas de alfa-aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. (8)

Las proteínas se clasifican comunmente como sigue:

- a) proteínas simples; que contienen solamente aminoácidos.
- b) proteínas conjugadas, que comprenden, además, algún grupo prostético no aminoácido.
- c) proteínas derivadas, que en realidad no son mas que proteínas parcialmente hidrolizadas. (3)

La albúmina y las globulinas no son especies simples de proteínas, sino mezclas. Estas tomadas globalmente son las llamadas "proteínas totales" y cada una de ellas tomadas individualmente son las "diferenciales".

Determinar las proteínas totales y la albúmina y sustraer.

La diferencia es la globulina.

DETERMINACION

La separación de proteínas del suero en Albúminas y Globulinas se realizó durante muchos años por precipitación con Sulfato disódico al 21.5%, otras técnicas utilizan esta misma sal en diferente concentración. En la técnica se seguida en este trabajo se utiliza el sulfato disódico al 22.6%.

REACTIVOS

Reactivo de Biuret

Sulfato de sodio al 22.6%

Eter (calidad reactivo)

Aerosol T (Labtrol)

MATERIAL

Suero

METODO

El método seguido es el de Biuret (mejorado). El fundamento consiste en que las proteínas reaccionan con las soluciones cúpricas alcalinas formando un complejo estable de Biuret cuya intensidad azul violeta puede determinarse fotocolorimetricamente.- La modificación de este método se basa en la propiedad del Aerosol T, como un agente oxidante que reduce la tensión superficial y la tensión de las inter-

fases. Estas propiedades combinadas mejoran grandemente la separación de la globulina de la albúmina (5).

TECNICA

- 1 - En un tubo de ensayo o de centrifuga poner: 0.5 ml. de suero.
- 2 - Agregar 9.5 ml. de sulfato de sodio al 22.6%. Mezclar por inversión.
- 3 - Sacar 2 ml. del tubo y pasar a otro marcado para Proteína Total.
- 4 - A los 8 ml. que quedan en el tubo agregar 2 gotas de Aerosol T y 2 ml. de éter, se le pone tapón de hule y se mezcla fuertemente. Centrifugar por 10 minutos a 2000 rpm.
- 5 - Se forman dos capas separadas por un anillo blanco, se inclina el tubo y con pipeta y sin tocar el anillo se toman 2 ml. de la parte inferior y se pasan a otro tubo de ensayo marcado para Albúmina. Hacer lo mismo para el Suero Control Normal y el Labtrol.
- 6 - Se prepara un Blanco poniendo 2 ml. de sulfato de sodio al 22.6% en un tubo de ensayo.
- 7 - A los tubos marcados Pt, A, y Blanco agregar 8 ml. del reactivo de Biuret, mezclar por inversión y poner en

baño de agua a 37°C. por 10 minutos o dejar reposar 30 minutos a temperatura ambiente.

8 - Leer en el Colorímetro con filtro VERDE y contra el Blanco puesto a Cero.

CALCULOS

FACTOR = Concentración del Labtrol

Lectura del mismo

Lectura de PT x factor = gr.‰ de proteínas totales

Lectura de A x factor = grm.‰ de albúmina

Proteínas totales - albúminas = globulinas

Relación A/G = Albúminas en gr‰

globulinas en gr‰

Los valores normales encontrados en la población que escogí son los siguientes:

<i>Proteínas totales</i>	<i>5.0 - 8.8 gms‰</i>	<i>Promedio</i>	<i>6.9 grs.‰</i>
<i>Albúminas</i>	<i>2.3 - 5.8</i>	<i>"</i>	<i>4.2 grs.‰</i>
<i>Globulinas</i>	<i>2.0 - 4.5 grs‰</i>	<i>"</i>	<i>2.8 grs.‰</i>
<i>Relación A/G</i>	<i>0.9 - 2.5 grs‰</i>	<i>"</i>	<i>1.5 grs.‰</i>

F I B R I N O G E N O

Leeuwenhoek, padre del microscopio, fue el primero en observar que la sangre consiste de una parte líquida, el plasma y de elementos celulares suspendidos en la misma como los hematíes y probablemente descubrió también los leucocitos. Años más tarde William Hénson, señala la existencia de estos últimos en la sangre. Este mismo investigador es el primero en destacar, en 1771, uno de los componentes del plasma en An Experimental Inquiry into the Properties of the Blood, al descubrir la existencia de una sustancia fundamental para la coagulación sanguínea. Se consigue por mecanismo biológico la primera separación de una de las proteínas plasmáticas. La individualización de las restantes proteínas del mismo y la del propio Fibrinógeno, fue iniciada bastantes años después (9).

El Fibrinógeno es la proteína soluble de la sangre circulante y del plasma, que en el proceso de coagulación se convierte en fibrina insoluble, componente del coágulo de la sangre. Cuando el hígado no produce suficiente fibrinógeno o se forma y deposita demasiada fibrina, la sangre no se coagula y puede sobrevenir hemorragia; aunque además de esto, hay otras causas de coagulación anormal (1). Existen diferentes métodos para su determinación, pero el empleado en

este trabajo es el de Turbidimetría.

El fibrinógeno es la proteína plasmática más fácil de separar.

DETERMINACION

REACTIVOS

Reactivo de Fibrinógeno

MATERIAL

Plasma

Standard de 400 mgs%

METODO

En un tubo de ensayo poner 4.5 ml. de reactivo de fibrinógeno, agregar 0.5 ml. de plasma, mezclar por inversión.

El Standard se prepara poniendo 4 ml. del mismo y 6 ml. de agua destilada.

Dejar reposar por 4 minutos y leer en el colorímetro con filtro VERDE (10).

Poner a cero con agua destilada.

CALCULOS

Lectura de la muestra x 400 = mgs. de fibrinógeno %

Lectura del St.

Los valores normales encontrados son: 190-408 mgs.% con un promedio de 274 mgs.%

C O L E S T E R O L

Entre los lípidos utilizados por el organismo animal está el Colesterol, el cual es un esteroles que también se ha observado en la naturaleza.

Es el único que tiene importancia en el metabolismo animal y es de gran utilidad determinarlo pues es la sustancia de la cual se originan los ácidos biliares y además es un intermediario principal en la síntesis de las hormonas esteroles, como son progesterona, testosterona, estrógenos y hormonas corticosuprarrenales. (8)

DETERMINACION

Para determinar el Colesterol en el organismo animal existen diversos métodos, entre los que tenemos los llamados Métodos Directos que son muy sencillos y están expuestos a error por causa de la bilirrubina, proteínas y otros factores en el suero.

El método seguido en este trabajo es el BLOOR y consiste esencialmente en la extracción del colesterol con una mezcla de alcohol-éter, seguida de una extracción con cloroformo. El extracto cloroformico, se trata con anhídrido acético y ácido sulfúrico concentrado, produciéndose entonces un color verde, que es proporcional a la cantidad de colesterol presente.

REACTIVOS

Mezcla de alcohol-éter

Cloroformo

Anhídrido acético

Acido sulfúrico concentrado

MATERIAL

Suero

*Cholestrol (DADE Reagent) con una concentración de
202 mgs.‰*

METODO

- 1 - Poner aproximadamente 20 ml. de mixtura alcohol-éter en un tubo de digestión que tenga marca 25*
- 2 - Añadir gota a gota y moviendo constantemente el tubo 0.5 ml. de suero a ser analizado.*
- 3 - Llevar a ebullición en baño de agua hirviendo, por breves momentos agitando constantemente para evitar que se proyecte el líquido hacia afuera, dejar enfriar.*
- 4 - Completar a 25 ml. con mixtura alcohol-éter y filtrar.*
- 5 - 5 ml. de filtrado se ponen en un Beaker pequeño y se evaporan hasta secar en baño de agua, cuidando de que el residuo no se quemé.*
- 6 - Se extrae el colesterol del residuo hirviendo 3 o 4 veces sucesivas con 2 ml. de cloroformo anhidro puro y se*

decanta cada vez en tubos secos cónicos o del colorímetro.

7 - Diluir hasta la marca 5 con cloroformo.

8 - A estos 5 ml. del desconocido se le agregan 1 ml. de anhídrido acético y 0.1 ml. de ácido sulfúrico puro concentrado.

9 - Mezclar bien con bagueta de vidrio y dejar en reposo y en la obscuridad durante 15 minutos.

CALCULOS

Concentración del Colesterol

_____ = factor de calibración

Lectura del Colesterol

Lectura del desconocido por factor = mgs% de Colesterol

Valores normales obtenidos = 120 - 288 mgs% Promedio = 184 mgs%

Aunque los límites de concentración del Colesterol total del suero en adultos sanos usualmente se ha estimado entre 140-250 mgs/100 ml. de suero (11), éstos se aplican principalmente a los jóvenes adultos pues en personas de mas edad los niveles son significativamente más altos.

BILIRRUBINA

El primer compuesto biliar formado por la degradación de la hemoglobina es la biliverdina, la reducción ulterior de un grupo metínico produce bilirrubina; por degradaciones ulteriores este segundo pigmento se transforma en otros. (8).

La Bilirrubina emigra en el plasma o en el suero normal combinada especialmente con albúminas y una fracción menor se une con la globina alfa₁.

En esta forma es transportada al hígado, en donde se separa de la proteína portadora por acción de las células de Kupfer o poligonales.

Estas últimas excretan la bilirrubina hacia los canales biliares desde los cuales llegan por último al duodeno con la bilis. La Bilirrubina llamada directa no es conjugada, la indirecta si está conjugada con el ácido diglucorónico. Los tipos conjugados y no conjugados de la bilirrubina pueden distinguirse por la reacción de Van der Berg.

DETERMINACION.

La prueba consiste esencialmente en tratar la muestra con un colorante diazoico. La Bilirrubina se une con el ácido sulfanílico diazotado y se produce un colorante azoico.

La formación rápida de este colorante azoico sólo ocurre al añadir alcohol metílico o cafeína y esto es lo que caracteriza la reacción indirecta. (11)

REACTIVOS

Diazo reactivo Erlich A.

Diazo Blanco

Alcohol metílico

MATERIAL

Suero o plasma

METODO (10)

- 1 - En dos tubos de ensayo marcados Blanco y Muestra poner respectivamente 3.6 ml.de agua destilada.*
- 2 - Agregar a cada tubo 0.4 ml.del suero desconocido*
- 3 - Añadir 1 ml.de Diazo reactivo Erlich A.preparado antes de usarse (10 ml.de Diazo A y 0.3 ml.de Nitrito de sodio) al tubo marcado M (muestra)*
- 4 - En el tubo marcado Blanco agregar 1 ml.de Diazo Blanco*
- 5 - Dejar reposar 10 minutos y leer con filtro verde. Esta es la lectura de la Bilirrubina Directa.*
- 6 - Agregar, luego que se ha leído, 5 ml.de Metanol puro a ambos tubos, mezclar por inversión cuidadosa. Dejar reposar 15 minutos. Al cabo de este tiempo se hace la lectura segunda que es la Bilirrubina Total.*

CALCULOS

$$\frac{1^{\text{a}} \text{ lectura del desconocido} - 1^{\text{a}} \text{ lectura del Blanco}}{\text{Concentración del St. de 40 mgs.}} = \text{mgs}\%$$

de B.D.

$$\frac{2^{\text{a}} \text{ lectura del desconocido} - 2^{\text{a}} \text{ lectura del Blanco}}{\text{Concentración del St. de 20 mgs}} = \text{mgs}\%$$

de B.T.

$$B.T. - B.D. = \text{mgs } \% \text{ de B.I.}$$

Valores normales encontrados:

$$BT = 0.2 - 1.1 \text{ mgs } \% \text{ Media} = 0.6 \text{ mgs}\%$$

$$BD = 0.1 - 0.8 \text{ mgs } \% \text{ Media} = 0.3 \text{ mgs}\%$$

$$BT = 0.1 - 0.6 \text{ mgs } \% \text{ Media} = 0.3 \text{ mgs}\%$$

III- R E S U L T A D O S

El número de personas normales en el cual he determinado los diferentes valores de los componentes químico-biológicos de la sangre suero o plasma, asciende a 1500.

Por cada tipo de examen verificado se tomó una población de 100 pacientes, indistintamente del sexo masculino y femenino. La edad varió entre los 17 y 80 años, con una edad promedio de 44 años.

En las distintas determinaciones he usado un suero control normal, de la casa Hyland, el cual viene desecado y se reconstituye con 5 ml. de agua destilada. Cada caja contiene 6 frascos de suero para ser reconstituidos y trae por cada lote una lista de los límites y promedios que pueden obtenerse con el suero así preparado. Los standars usados y este suero control dan la seguridad de que los reactivos utilizados están reaccionando correctamente. En el caso de la Bilirrubina se tira a la par del desconocido un suero control anormal, el cual también tiene los valores anormales en la lista que trae el lote de frascos.

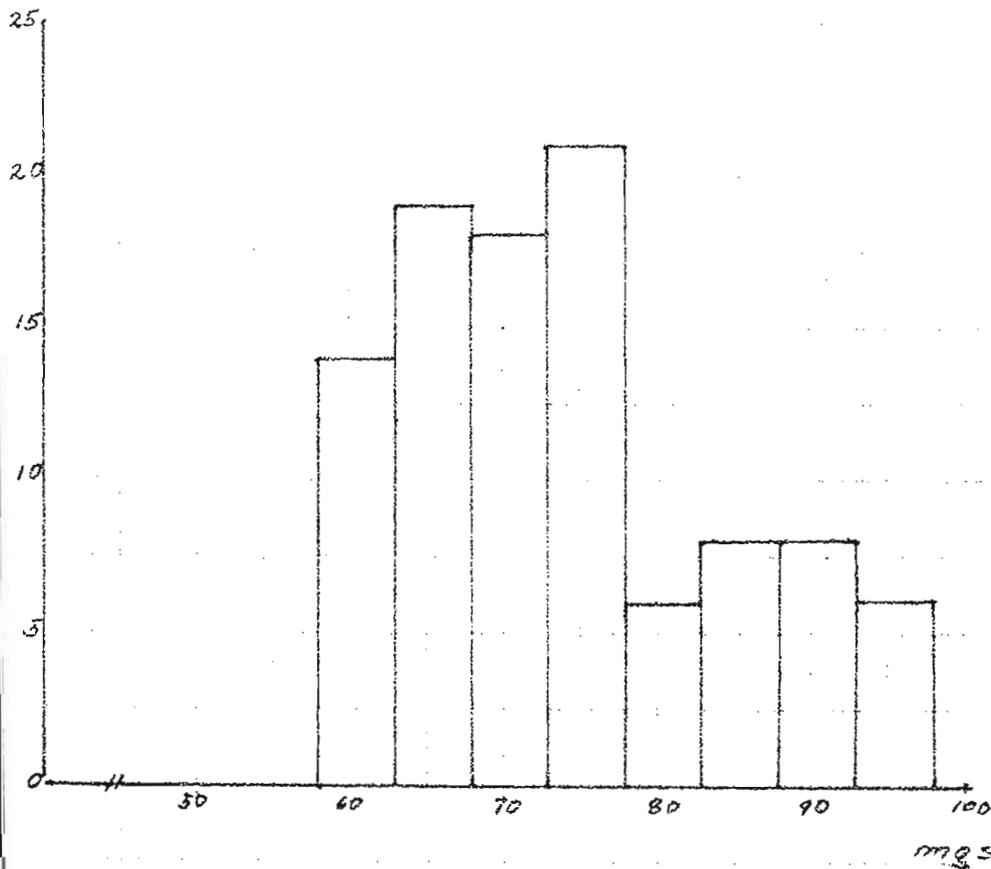
Al verificar los resultados he dado énfasis exclusivamente a los valores obtenidos, y en cada uno de ellos he

puesto en evidencia la desviación standard.

Un 90% de la población estudiada procede del radio urbano y un 10% del medio rural.

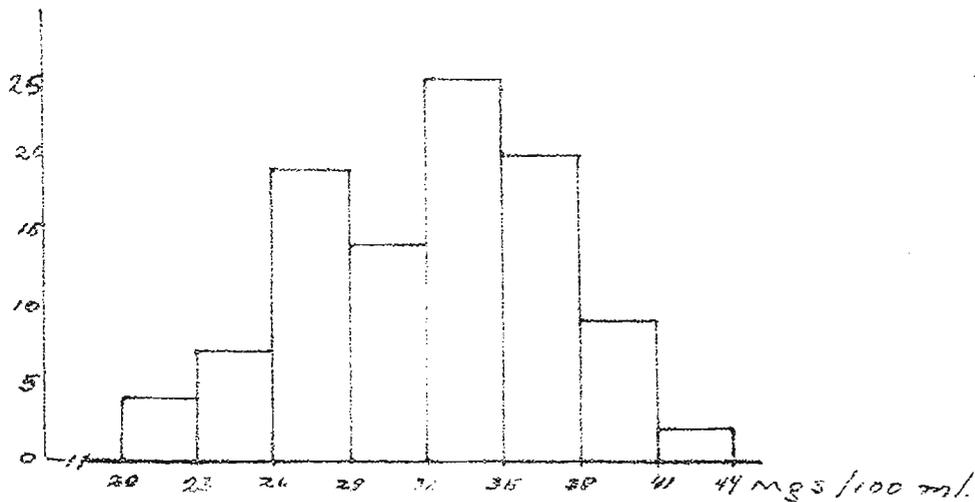
A continuación están las diferentes gráficas en forma de Histogramas. En el eje de las abcisas están los valores y en el eje de las ordenadas las frecuencias de dichos valores. Por último está la Tabla de Valores de los datos obtenidos en el presente estudio.

HISTOGRAMA DE VALORES NORMALES DE GLUCOSA VERDADERA DE PERSONAS ADULTAS SANAS (Nº DE CASOS = 100).



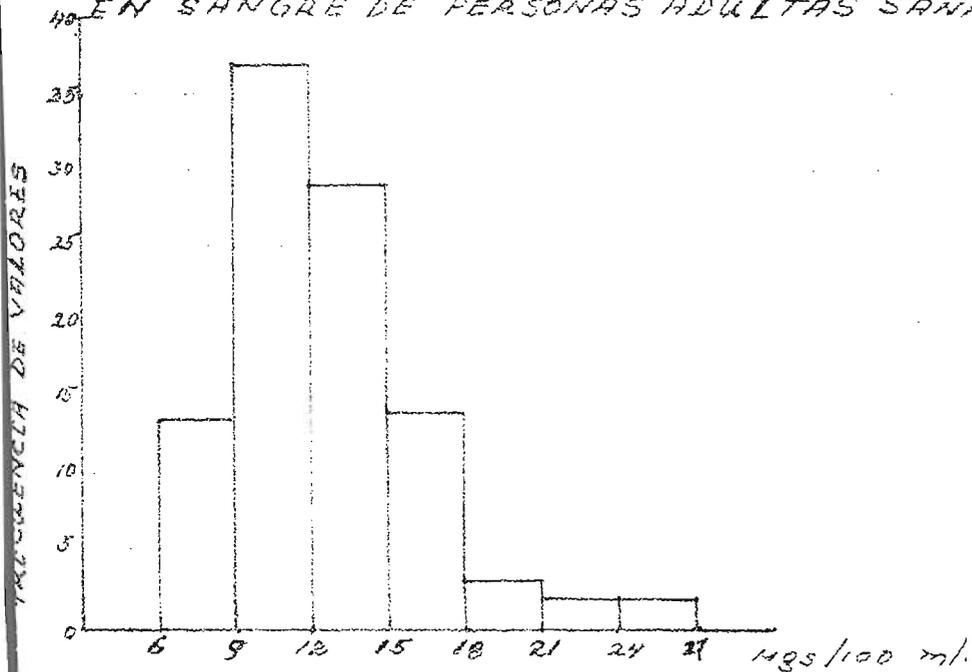
VALOR MEDIO NORMAL = 74 mg/100 ml. EN LA GRÁFICA -
 PUEDE OBSERVARSE QUE LOS VALORES MÁS FRECUENTES
 ESTÁN COMPENDIDOS ENTRE 63 Y 78 mg/100 ml.
 LA DESVIACIÓN STANDARD (σ) ES IGUAL A 10.

HISTOGRAMA DE VALORES NORMALES DE N.M.P. EN SANGRE DE PERSONAS ADULTAS SANAS. (Nº DE CASOS = 100).



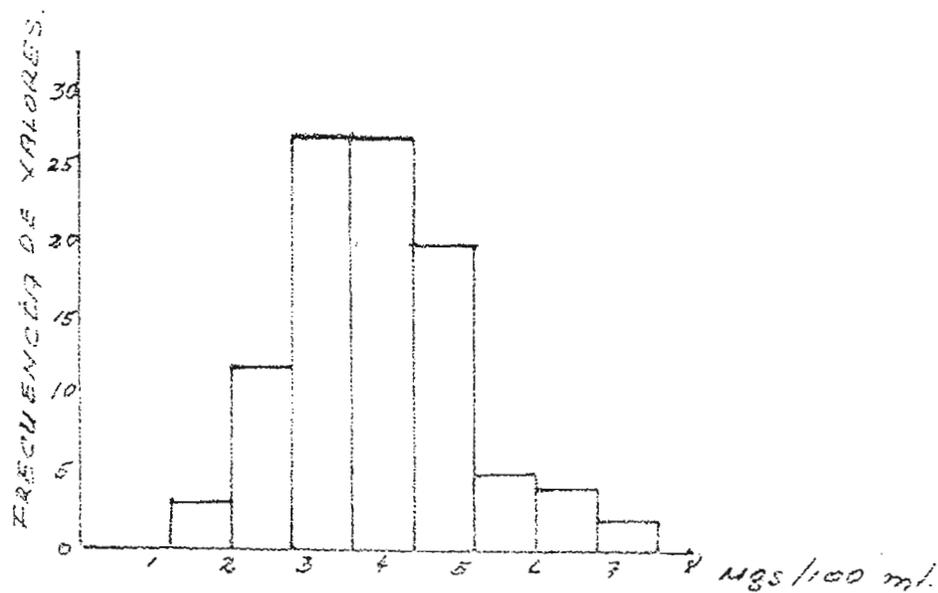
VALOR MEDIO NORMAL = 32 mg/100 ml. VALORES MÁS FRECUENTES COMPRENDIDOS ENTRE 26 y 35 mg/100 ml. DESVIACIÓN STANDARD = 4.9.

HISTOGRAMA DE VALORES NORMALES DE NITRÓGENO UREICO EN SANGRE DE PERSONAS ADULTAS SANAS. (Nº DE CASOS = 100).



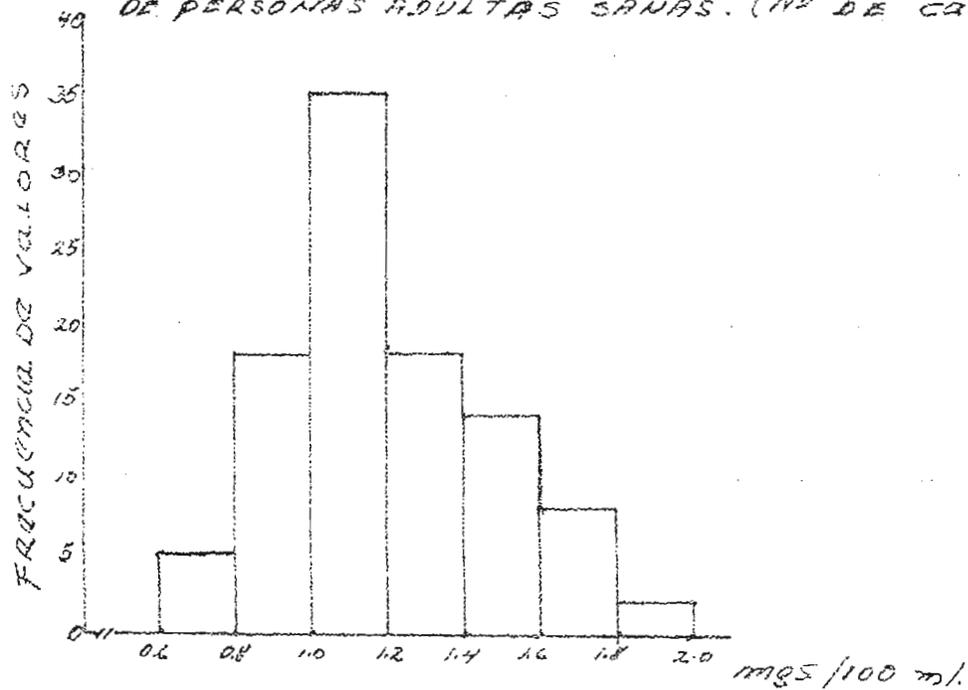
VALOR MEDIO NORMAL = 12 mg/100. VALORES MÁS FRECUENTES COMPRENDIDOS ENTRE 6 y 15 mg/100 ml. DESVIACIÓN STANDARD = 3.7.

HISTOGRAMA DE VALORES NORMALES DE ACIDO URICO EN SANGRE DE PERSONAS ADULTAS SANAS. (Nº DE CASOS = 100).



VALOR MEDIO NORMAL = 4.0 mg/100 ml. VALORES MAS FRECUENTES COMPRENIDOS ENTRE 2.8 y 5.2 mg/100 ml. DESVIACION STANDARD = 2.5.

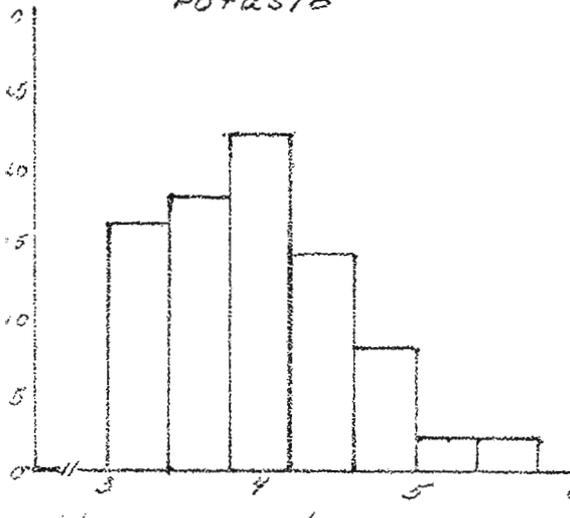
HISTOGRAMA DE VALORES NORMALES DE CREATININA EN SANGRE DE PERSONAS ADULTAS SANAS. (Nº DE CASOS = 100).



VALOR MEDIO NORMAL = 1.2 mg/100. VALORES MAS FRECUENTES COMPRENIDOS ENTRE 0.8 y 1.6 mg/100 ml. DESVIACION STANDARD = 0.29.

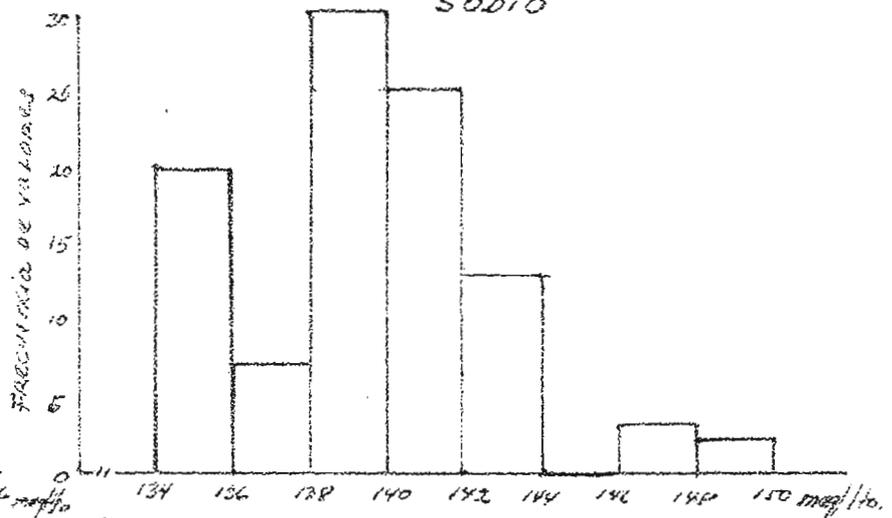
HISTOGRAMAS DE VALORES NORMALES DE LOS ELECTROLITOS SODIO, POTASIO, CLORO Y CO_2 DETERMINADOS EN SUERO DE ADULTOS SANOS (Nº DE CASOS = 100).

POTASIO



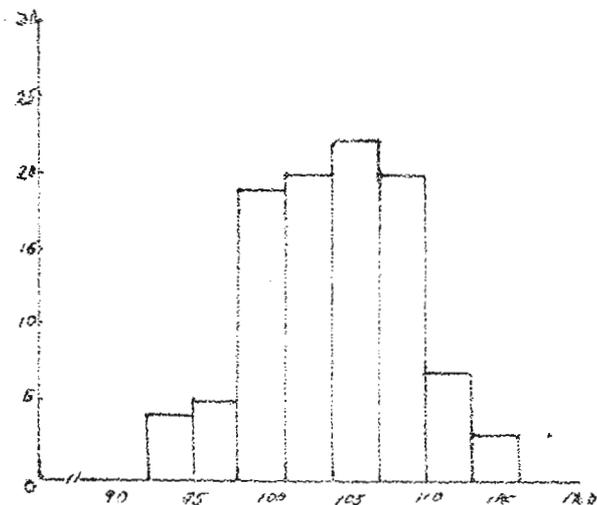
Valor medio normal = 4.1 mg/l. Desviación STANDARD igual a 0.6.

SODIO

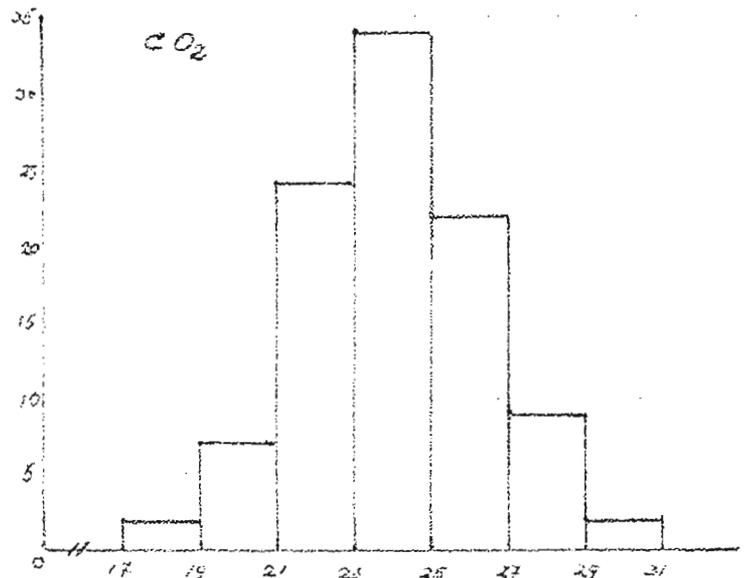


Valor medio normal = 140 mg/l. Desviación STANDARD igual a 3.5.

CLORO

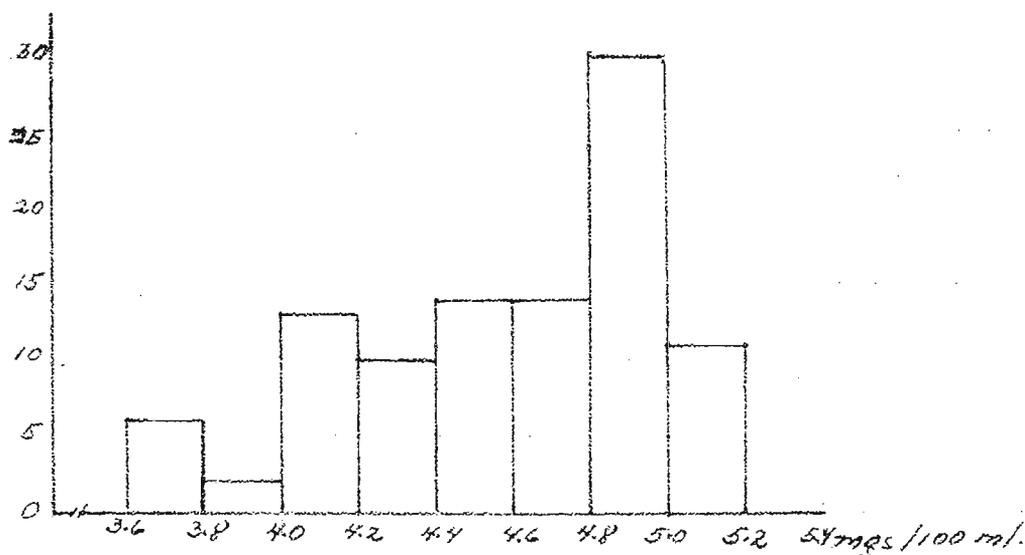


Valor medio normal = 104 mg/l. Desviación STANDARD igual a 4.8.

 CO_2 

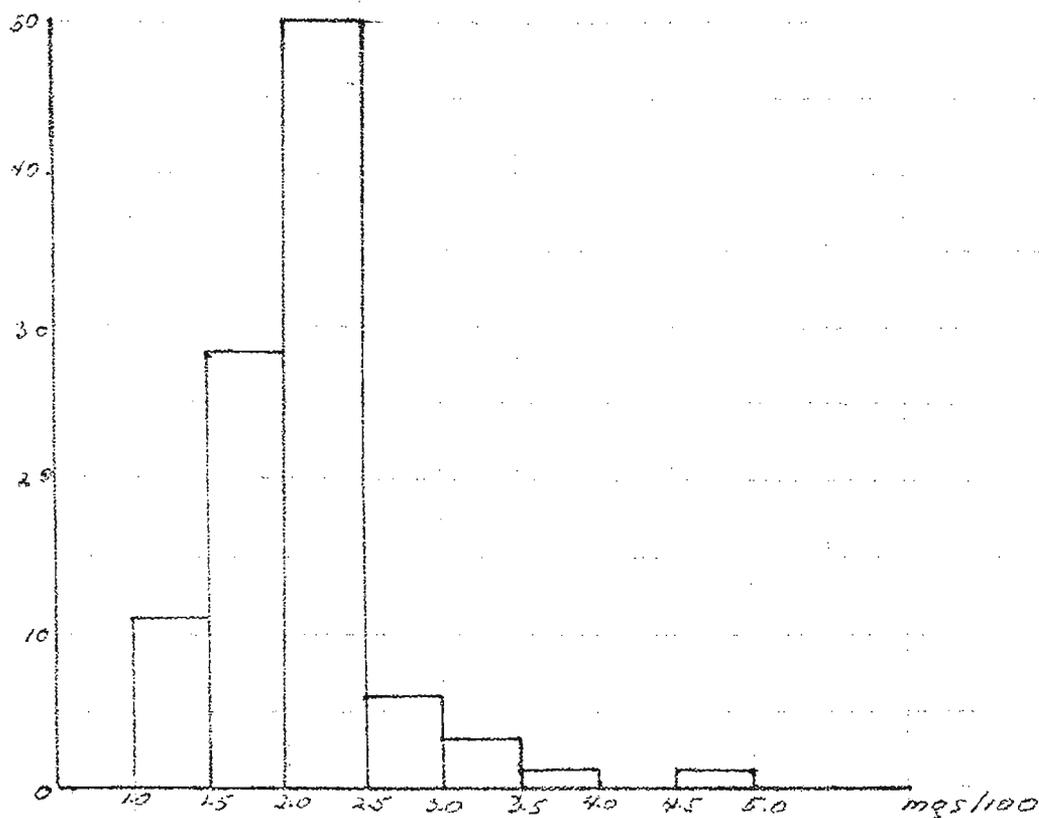
Valor medio normal = 24 mg/l. Desviación STANDARD igual a 2.4.

HISTOGRAMA de Valores Normales de Calcio en suero de personas adultas sanas (Nº de casos=100).



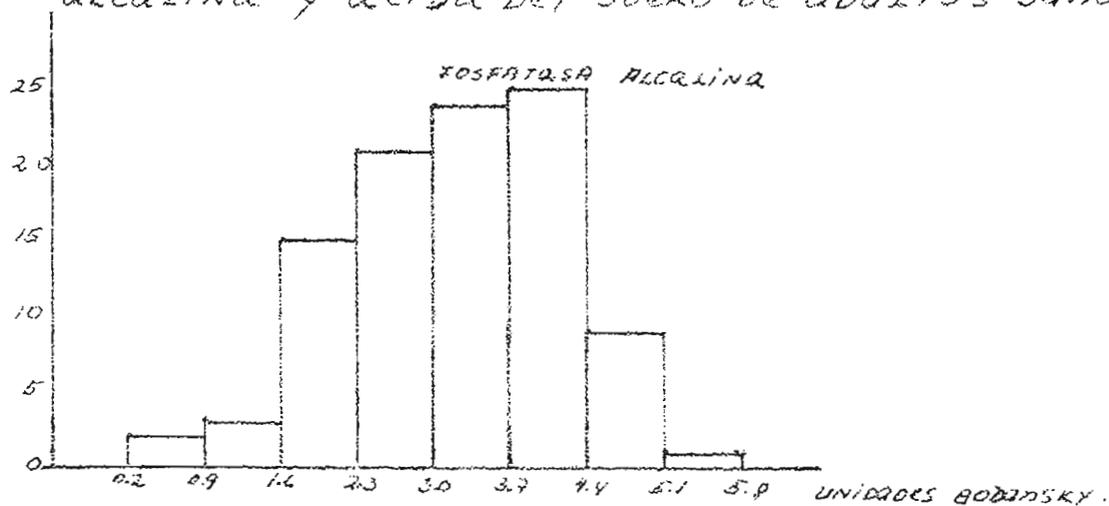
Valor medio normal = 4.6 mg/100 ml. de suero. En la gráfica se puede apreciar que los valores más frecuentes están entre 4.8 y 5.8 mg/100. La desviación standard es de 0.4.

HISTOGRAMA de Valores Normales de Fósforo en suero de personas adultas sanas. (Nº de casos=100).

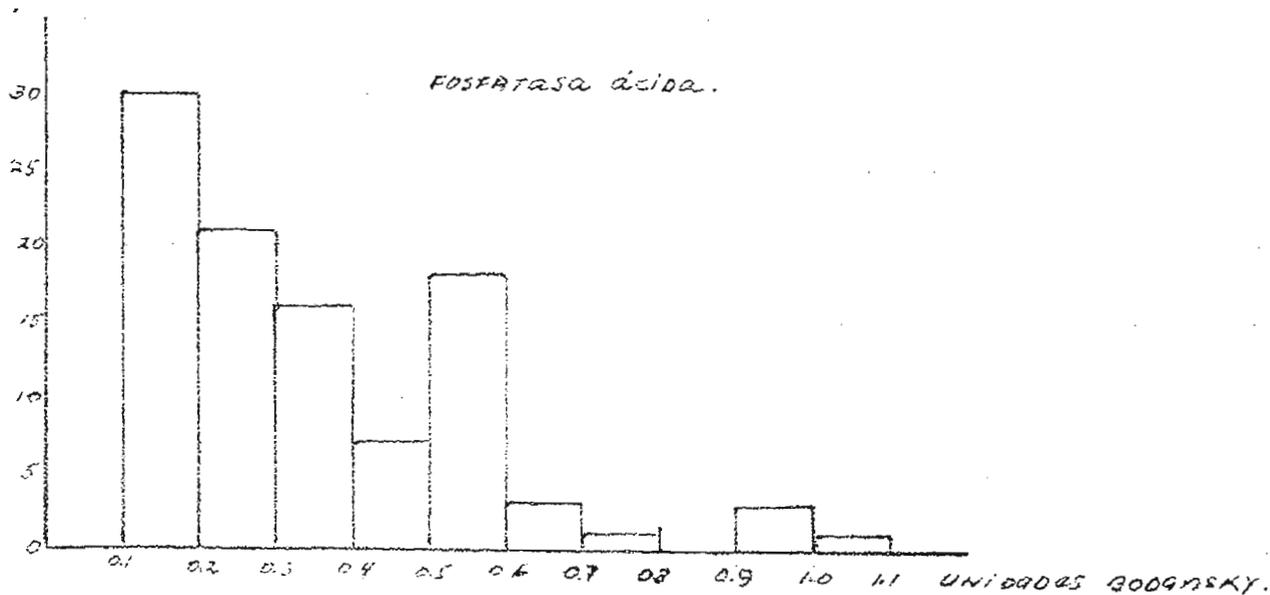


El valor medio es de 2.1 mg/100 ml. de suero. Los valores más frecuentes están entre 1.5 y 2.5 mg/100 ml. La desviación standard es de 0.4.

HISTOGRAMAS DE VALORES NORMALES DE LAS FOSFATASAS
ALCALINA Y ÁCIDA DEL SUERO DE ADULTOS SANOS. (Nº DE CASOS = 100)

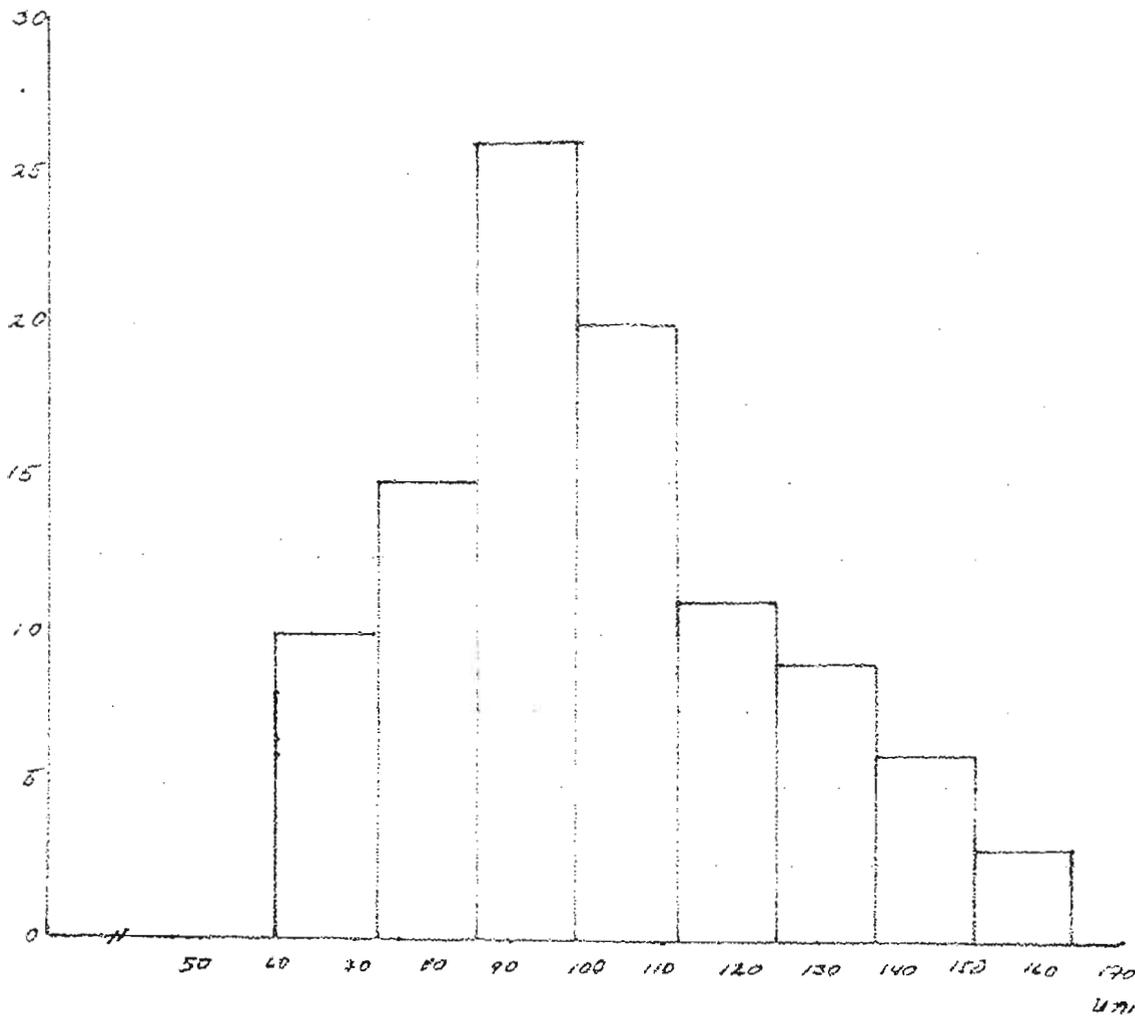


El valor medio normal es de 3.2 unidades Bodansky. Los valores más frecuentes están comprendidos entre 1.6 y 4.4 unidades. Desviación STANDARD = 0.99.



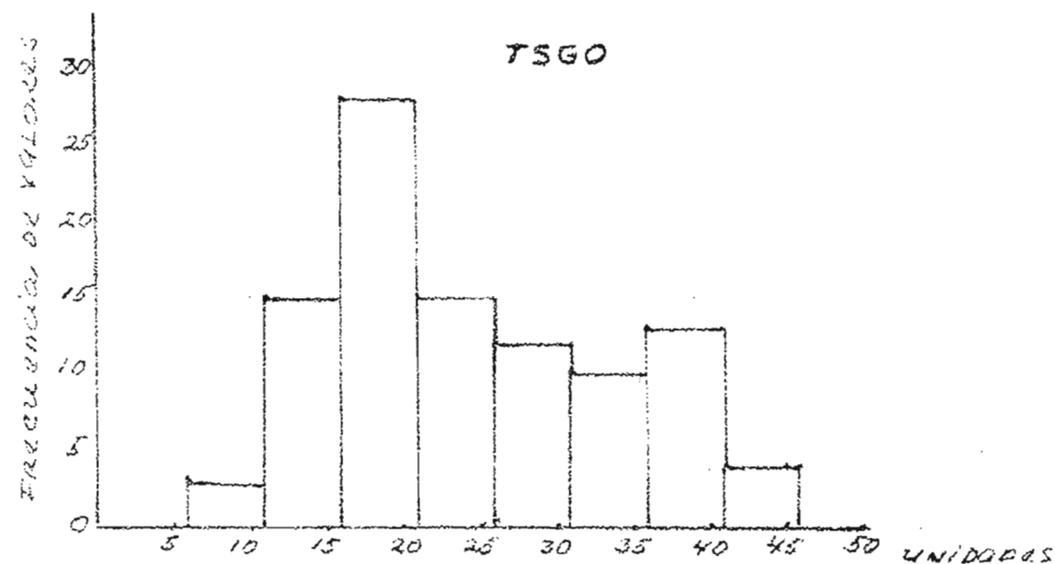
La media de los valores correspondió a 0.3 unidades. Obsérvese en la gráfica que los valores más frecuentes están comprendidos entre 0.5 y 0.6 unidades Bodansky. Desviación STANDARD = 0.19.

HISTOGRAMA DE VALORES NORMALES DE AMILASA EN SUERO DE ADULTOS SANOS. (Nº DE CASOS=100).

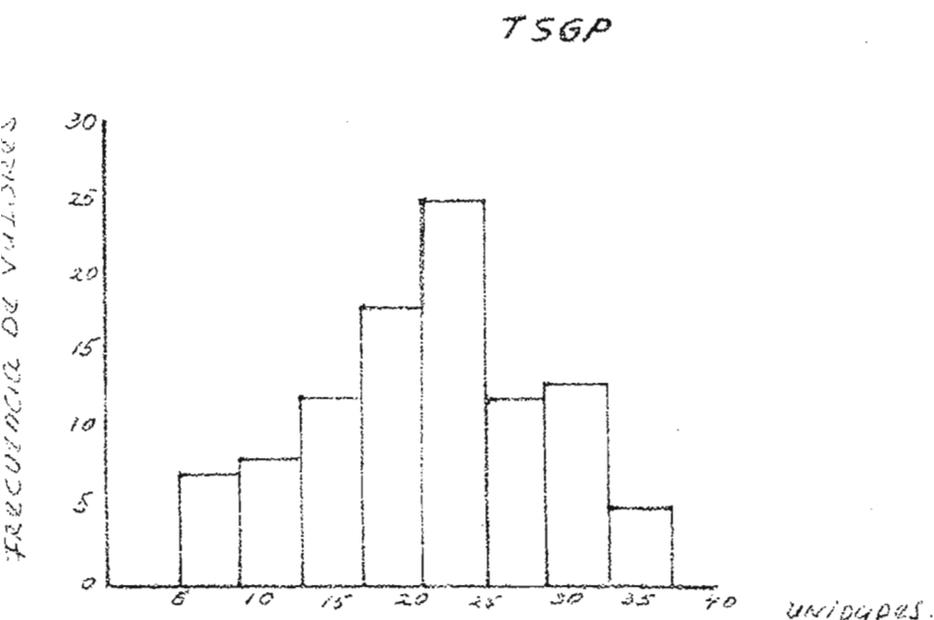


El valor medio normal es de 112 unidades. Los valores más frecuentes están comprendidos entre 73 y 112 unidades de amilasa. La desviación standard es igual a 23.

HISTOGRAMAS DE LOS VALORES NORMALES DE LAS
TRANSAMINASAS Oxalacética y Pirúvica, DEL SUERO
DE 100 ADULTOS SANOS.



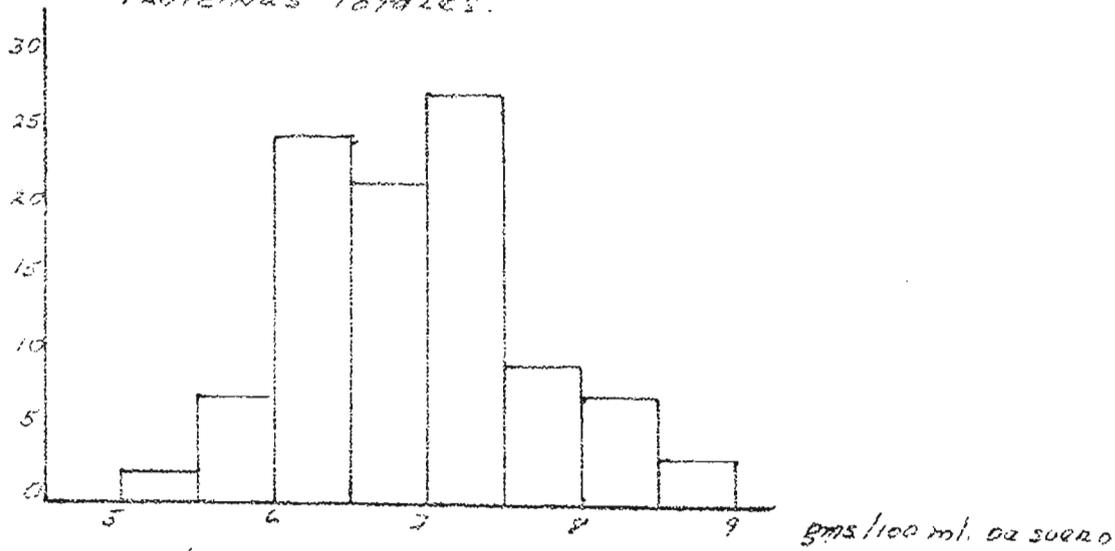
Valor medio normal = 24.5 UNIDADES. DESVIACIÓN STANDARD = 9.2.



Valor medio normal = 21.4 UNIDADES. DESVIACIÓN STANDARD = 7.4.

HISTOGRAMAS DE VALORES NORMALES DE LAS PROTEÍNAS TOTALES Y DIFERENCIALES DE 100 PERSONAS ADULTAS SANAS.

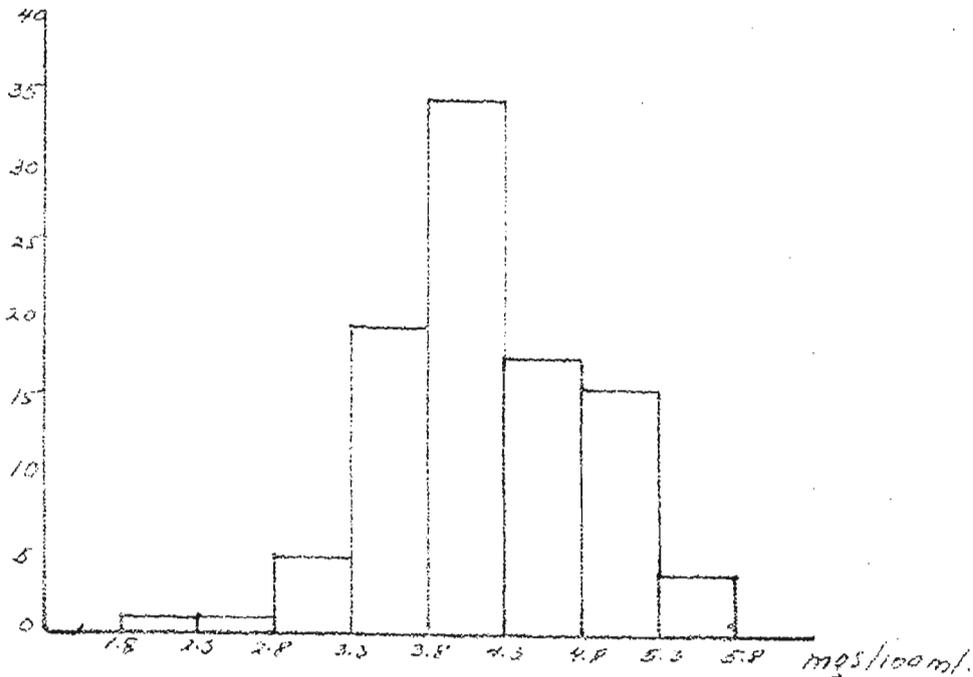
PROTEÍNAS TOTALES.



El valor medio obtenido es de 6.9 mg_s/100. Los valores más frecuentes están comprendidos entre 6.0 y 7.5 mg_s/100. La desviación standard es de 0.76.

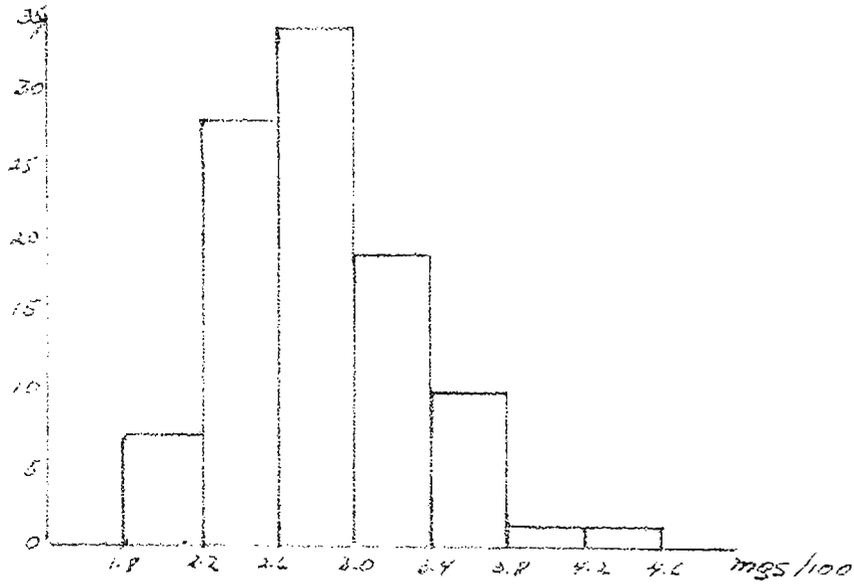
PROTEÍNAS DIFERENCIALES:

ALBÚMINA.



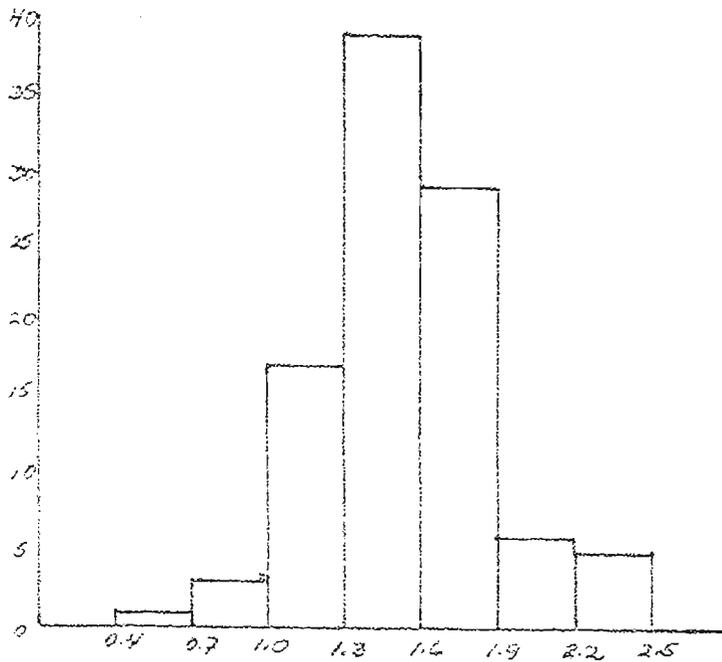
Valor promedio obtenido es de 4.2 mg_s/100. Los valores más frecuentes resultaron estar entre 3.5 y 5.3 mg_s/100. Desviación standard (σ_x) = 0.7.

Globulinas



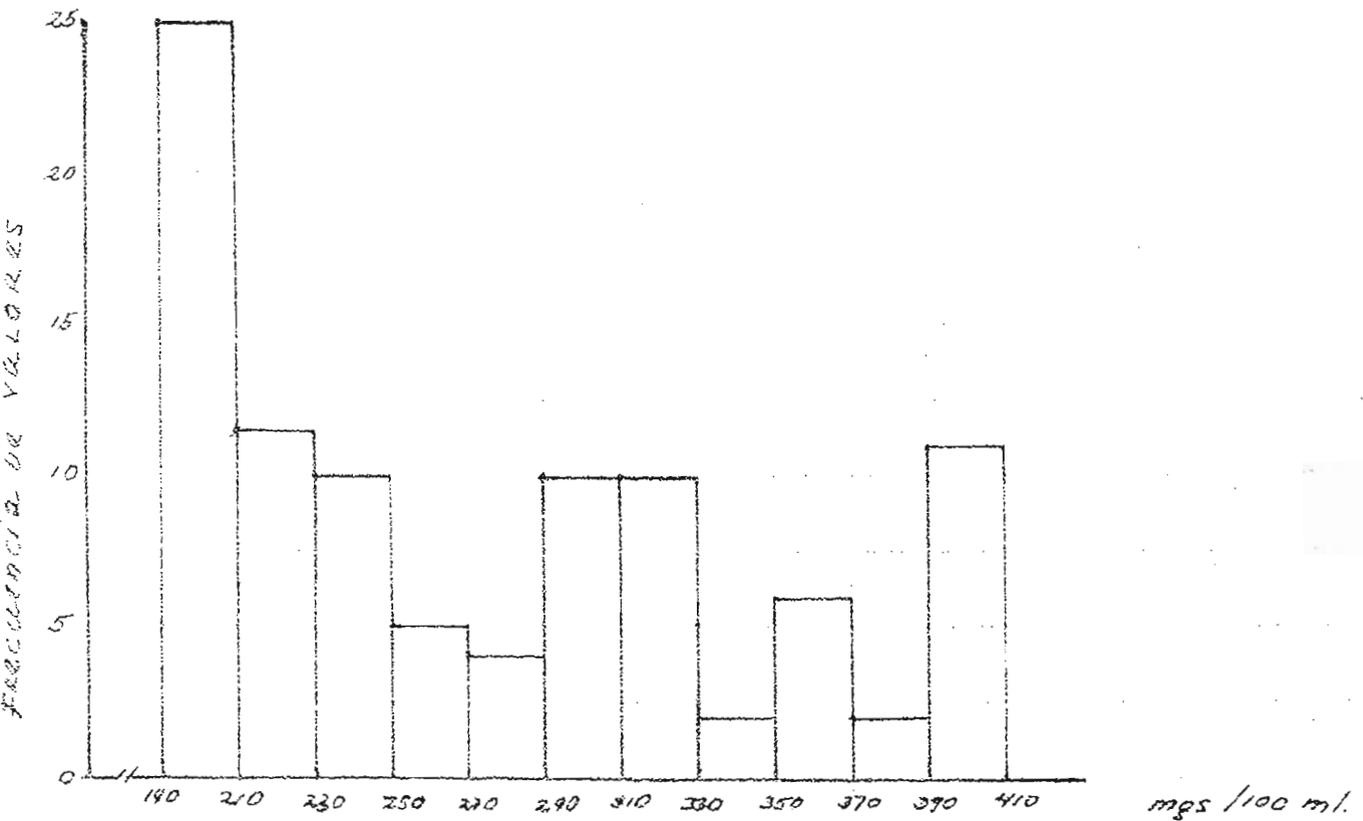
El valor promedio es de 2.8 mg/100 ml de suero. Los valores más frecuentes están comprendidos entre 2.2 y 3.4 mg/100.
 DESVIACIÓN STANDARD = 0.47.

Relación A/G



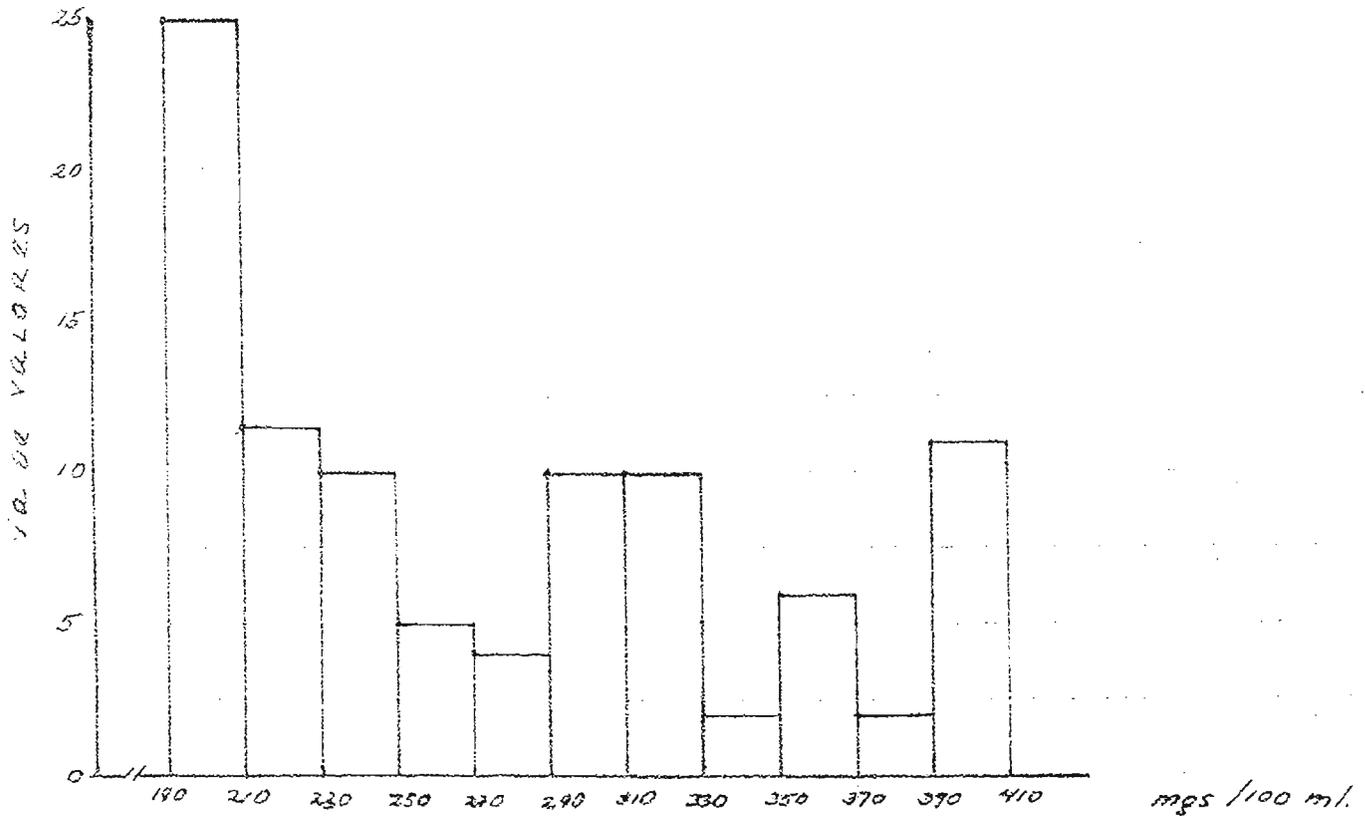
El valor promedio normal obtenido es de 1.5 mg/100. DESVIACIÓN STANDARD = 0.33. Valores más frecuentes comprendidos entre 1.0 y 1.9.

HISTOGRAMA DE VALORES NORMALES DE FIBRINOGENO DEL PLASMA DE PERSONAS ABULTAS SANAS. (Nº DE CASOS = 100).



El valor medio normal obtenido es de 274 mg/100 ml. Se hace notar en la gráfica que el valor más frecuente es el correspondiente a 190 mg/100. La desviación standard (σ) es de 69.

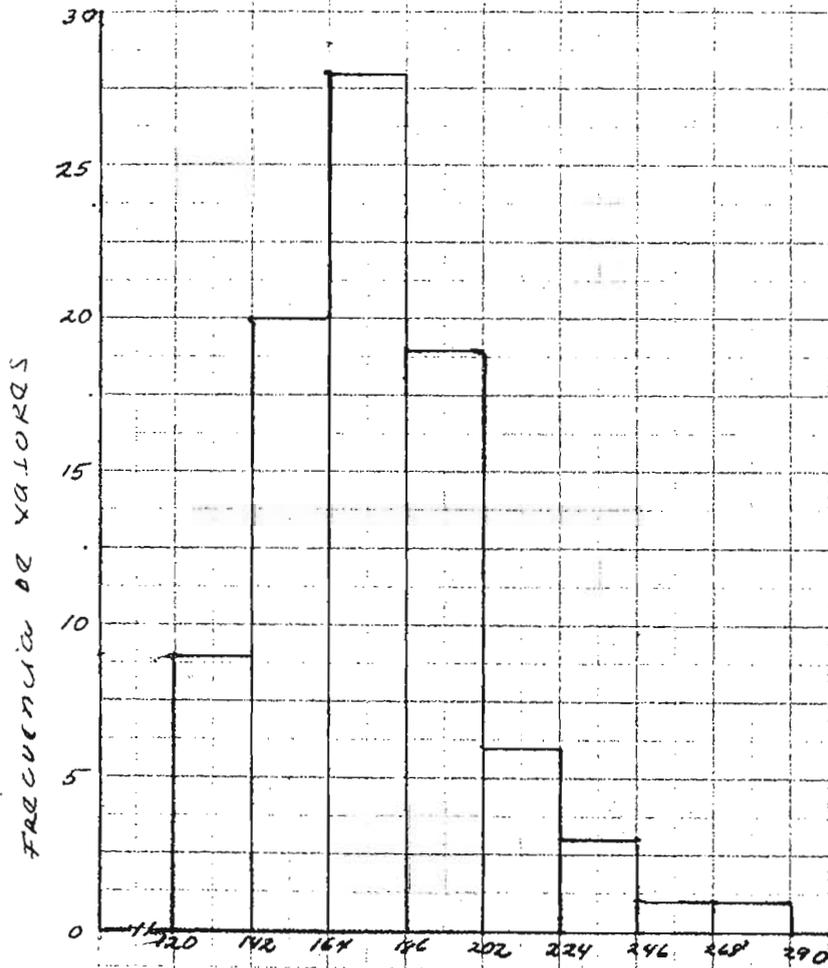
HISTOGRAMA DE VALORES NORMALES DE FIBRINOGENO DEL PLASMA DE PERSONAS ADULTAS SANAS. (Nº DE CASOS = 100).



El valor medio normal obtenido es de 274 mg/100 ml.

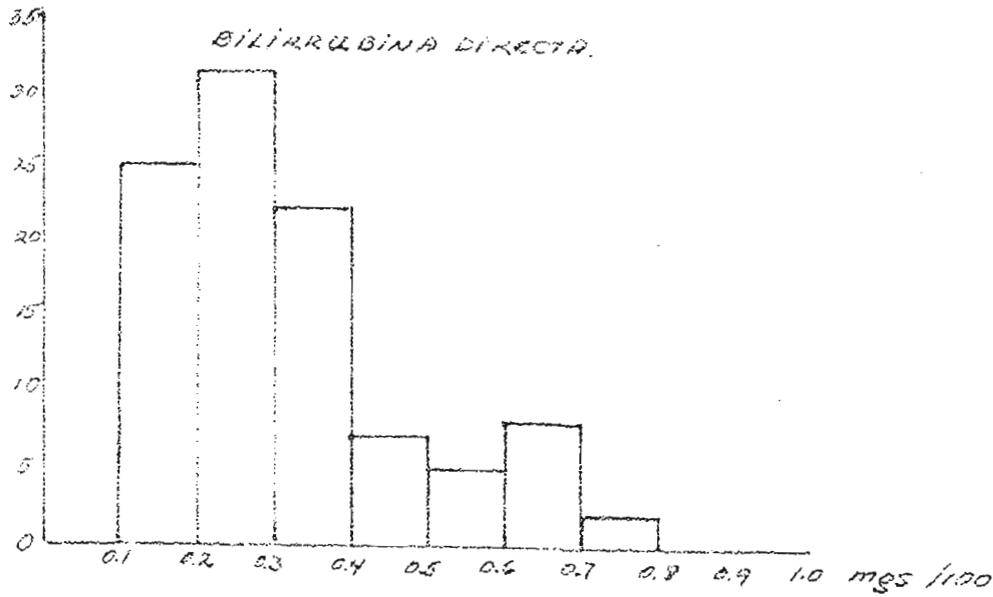
Se hace notar en la gráfica que el valor más frecuente es el correspondiente a 190 mg/100. La desviación standard (σ) es de 69.

HISTOGRAMA DE VALORES NORMALES DE /
 COLESTEROL DETERMINADO EN EL SUELO
 DE ADULTOS SANOS. (NO DE CASOS = 100)

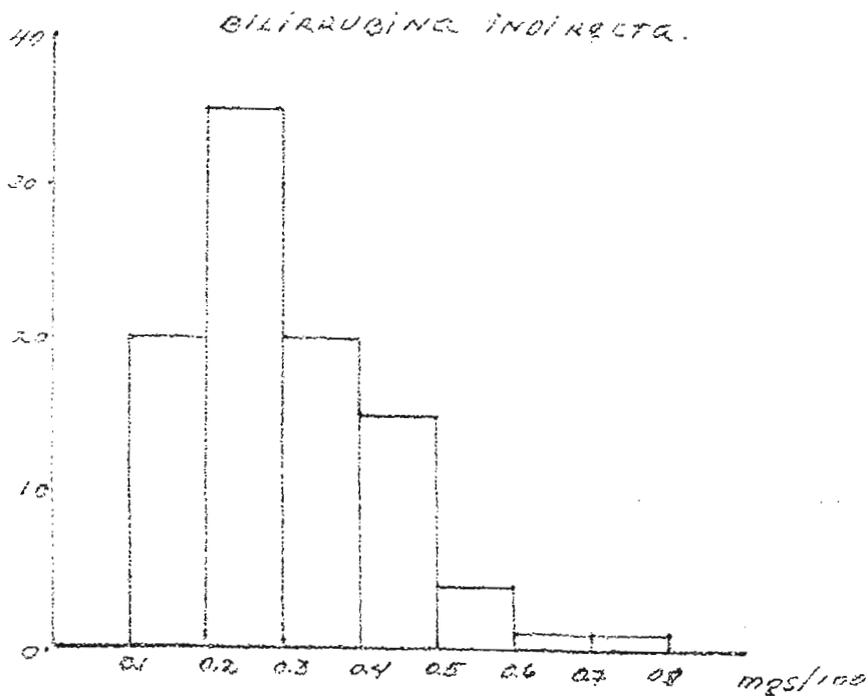


Valor medio normal = 184 mgs/100 ml. de suero. Desviación
 STANDARD = 33.8.

HISTOGRAMAS DE VALORES NORMALES DE BILIRRUBINA DIRECTA
INDIRECTA Y TOTAL DE ADULTOS SANOS. (Nº DE CASOS=100)

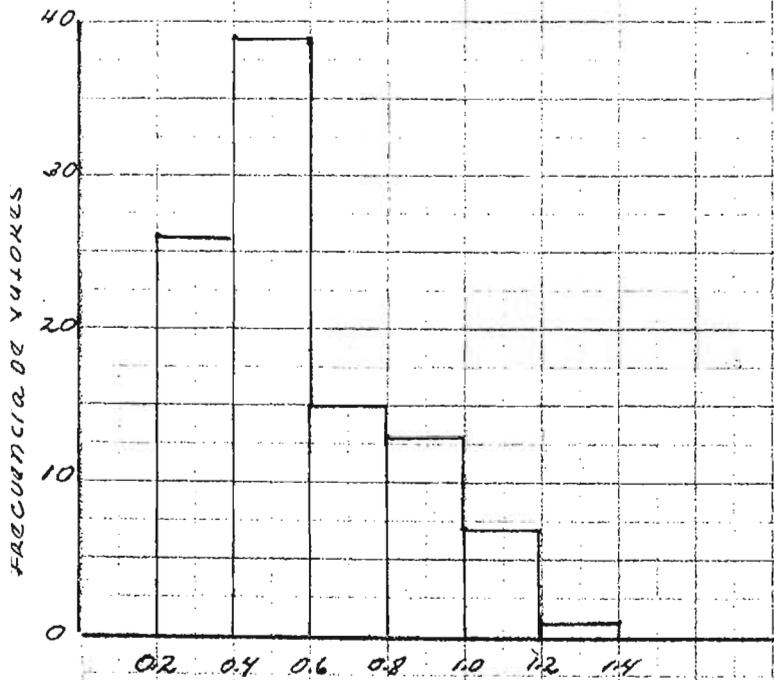


El valor medio normal es de 0.3 mg/100 ml. de suero. La desviación STANDARD (σ) es igual a 0.15.



El valor medio normal es de 0.3 mg/100 ml. de suero. La desviación STANDARD es de 0.13.

BILIRRUBINA TOTAL



EL VALOR MEDIO NORMAL ES DE 0.6 mgs/100 ml. DE SUELO. LOS VALORES NORMALES MÁS FRECUENTES ESTÁN COMPRENDIDOS ENTRE 0.4 Y 0.6 mgs/100 ml. DE SUELO. LA DESVIACIÓN - STANDARD ES DE 0.25.

T A B L A # 3

TABLA DE VALORES NORMALES OBTENIDOS

COMPONENTES	VALORES	PROMEDIOS
Glucosa	58 - 97 Mgs./100 ml	74 mgs/100 ml
NND	20 - 41 mgs/100 ml	32 mgs/100 ml
Acido Urico	1.2 - 7.6 mgs/100 ml	4.0 mgs/100 ml
Creatinina	0.5 - 2.0 mgs/100 ml	1.2 mgs/100 ml
Nitrógeno Ureico	7 - 27 mgs/100 ml	12 mgs/100 ml
Sodio	134 - 150 meq/lto	140 meq/lto
Potasio	3.0 - 5.8 meq/lto	4.1 meq/lto
CO ₂	19 - 31 meq/lto	24 meq/lto
Cloro	92 - 114 meq/lto	104 meq/lto
Calcio	3.6 - 5.2 meq/lto	4.5 meq/lto
Fósforo	1.0 - 4.5 meq/lto	2.1 meq/lto
Prot. Totales	5.0 - 8.8 mgs/100 ml	6.9 mgs/100 ml
Sero-Albúminas	2.3 - 5.8 mgs/100 ml	4.2 mgs/100 ml
Sero-Globulinas	2.0 - 4.5 mgs/100 ml	2.8 mgs/100 ml
Relación A/G	0.9 - 2.5	1.5
Fibrinógeno	210 - 410 mgs/100 ml	274 mgs/100 ml
Colesterol	120 - 288 mgs/100 ml	184 mgs/100 ml
Bilirrubina Directa	0.1 - 0.8 mgs/100 ml	0.3 mgs/100 ml
Bilirrubina Indirecta	0.1 - 0.6 mgs/100 ml	0.3 mgs/100 ml
Bilirrubina Total	0.2 - 1.1 mgs/100 ml	0.6 mgs/100 ml
Fosfatasa Acida	0.1 - 1.1 U.B.	0.3 U.B. *
Fosfatasa Alcalina	0.2 - 5.8 U.B.	3.2 U.B.
Amilasa	58 - 162 Unidades	112 Unidades
TSGO	6 - 43 Unidades	24 Unidades
TSGP	5 - 38 Unidades	21 Unidades

* U.B. = Unidades Bodansky.

IV- D I S C U S I O N

Aunque la mayoría de los niveles normales de los constituyentes químicos de la sangre comunmente analizados, están ya bien establecidos, existen algunas discrepancias entre los datos reportados.

Hay varios factores sobre los cuales basan este problema, entre los cuales tenemos la edad, el sexo y la dieta. Estos pueden influir en las concentraciones de ciertas sustancias en la sangre.

En los individuos normales estas concentraciones varían grandemente de día a día y aún durante un día dado. Los valores normales son determinados estadísticamente y aunque abarcan la mayoría de la población, hay siempre algunos valores fuera del nivel tomado como normal; pero esto no indica necesariamente la presencia de enfermedad.

Algo conveniente y que debería ser usado al hablar de valores normales es la expresión de MEDIA y también la de Desviación Standard. Hago mención de esto puesto que en las gráficas siempre me he referido a ellas. La desviación Standard está a veces representada por

La media es el valor calculado al dividir la suma de los valores obtenidos por el # de determinaciones efectuadas.

La desviación Standard (σ_x) expresa la naturaleza del grupo de valores individuales alrededor de la media. Si es pequeña indica que los valores están muy cercanos a la media, y si es grande significa que existe una amplia variación respecto a la media.

Observando la tabla N^o 4, puedo decir que los valores encontrados no han variado significativamente con respecto a los tomados como referencia, por supuesto con algunas excepciones, como son las que siguen: El Nitrógeno ureico varió entre 5 y 27 mgs.%, con el tomado por el del I.S.S.S. que es 9-19 mgs.% si se ve una gran diferencia; pero comparado con la tabla de valores de (11) se encuentra que lo normal está arriba de 20 mgs.% y esto concuerda más con el dato obtenido en mi determinación.

Con el ácido úrico el límite mayor fue de 7.6 mgs% algunos libros lo toman hasta 7 mgs.%, pero es probable que se encuentre un poco elevado debido a que existen edades arriba de 50 años y que esto sea la consecuencia de dicha elevación.

En lo que respecta al Colesterol, tenemos que el límite es de 120 mgs.%, con respecto al límite inferior tomado como referencia, se observa una diferencia de 30 mgs.%, que sí se puede decir que es significativa.

Esto podría explicarse como consecuencia de la dieta de nuestro medio.

Las Proteínas totales tienen un promedio de 6.9 gm%. De los 100 casos estudiados, un 54% obtuvo un valor menor que 7.0 gm.%; un 27% de 7 a 7.5 gms.% y sólo un 19% de 8.0 a 8.8 gms.%. Así vemos que más de la mitad de la población estudiada tiene un valor menor de 7 gms.%. - En países desarrollados el promedio es de 7.25 gms.%.

Con los demás valores no se ve una diferencia tan apreciable como con los que he enunciado anteriormente.

V- R E S U M E N

La importancia del presente trabajo reside en que se han obtenido valores normales de una población de individuos sanos, y que dicha población es muy nuestra.

Si bien es cierto que como dije en la discusión las diferencias no son muy significativas, por lo menos ya se ha establecido una comparación de ciertos componentes químicos-biológicos de la sangre que antes no existía.

En realidad es necesario seguir determinando valores normales de otros constituyentes y talvez así se puede poseer una tabla de valores que sea mas representativa de la población salvadoreña. En el Capítulo II, que corresponde a material y métodos he presentado las diversas técnicas seguidas en este trabajo y quiero hacer mención que solamente hago referencias de los reactivos, puesto que mi objetivo ha sido el detallar el fundamento y la técnica usada y principalmente el obtener los resultados de los datos químico analíticos de importancia clínica de nuestra población.

En los resultados he incluido las gráficas y tabla de valores normales encontrados.

Con esto espero haber puesto un granito de arena para aquellos interesados en la práctica de la química clínica.

VI-

B I B L I O G R A F I A

- 1 - S. Natelson. *Microtécnicas de Química Clínica*. Ediciones Toray S.A.- 1964.
- 2 - Kolmer-Robinson-Spaulding. *Métodos de Laboratorio Clínico*. Editorial Interamericana S.A.- 5ª Edición.
- 3 - Davinshon-Wells. *Diagnóstico Clínico por el Laboratorio* Editorial Marín S.A.- Barcelona. 1966
- 4 - Opal E. Heppler. *Manual Práctico de Análisis Clínicos*. Editorial Labor S.A.- 1965
- 5 - *Manuel de Métodos Clínicos*. Labtrol. DADE Reagent Inc. Miami, Florida, USA.- 1955 Revisado 1960.
- 6 - *Journ Am. Chem. Soc.* 46: 2026; 1924
- 7 - *La Clínica y el Laboratorio*. A. Barcells Gorina. 5ª Edición 1965
- 8 - Cantarow Shepartz. *Bioquímica*. 3ª Edición 1966.
- 9 - J. Gras. *Proteínas Plasmáticas*. 3ª Edición. Editorial Jims. Barcelona 1; 1; 1967
- 10 - *Técnicas del Laboratorio del ISSS*.
- 11 - Joshep S. Annino. *Clinical Chemistry. Principles and Procedures th Edition*. - 1964
- 12 - *Operation Directions. for the Model 21-Coleman Flame Photometer*. Coleman Instrument Inc. 1963. pág. 26, 29.

- 13 - Schales O. Schales. *SS. J. Biol. Chem.* 140; 879 (1941)
- 14 - *Fisiología Médica.* Gayton 1965
- 15 - *Prontuario Médico. El Manual Moderno. S.A. 1ª Edición en español. Médico.* 1963.
- 16 - *Gradwohl's. Clinical Laboratory Methods and Diagnosis.* Frankel and Reitman. Editors. Sixth Editon. 1963.
- 17 - *Journ. Biol. Chem.* 38, 81; 1919.