

R. S. L.

1945

Trincado Doperi

2349

M 2349



* 5 3 0 9 8 0 6 2 4 0 *
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

"ESTUDIO COMPARATIVO DE LA HIPOPROTEINEMIA Y LOS DATOS OBTENIDOS POR EL ESTUDIO DEL ESPECTRO SERICO EN LA ZONA ULTRAVIOLETA".

Pablo Trincado Dopereiro

Medico Interno del Hospital Provincial de Madrid

Becario del Instituto de Investigaciones Cientificas



CLINICA MEDICA UNIVERSITARIA

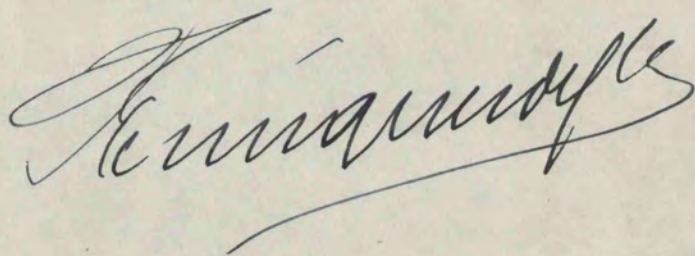
Profesor: Doctor F. Enríquez de Salamanca

M A D R I D

DON FERNANDO ENRIQUEZ DE SALAMANCA, Catedrático de Patología Médica de la Facultad de Medicina de la Universidad Central.

HAGO CONSTAR; que la presente Tesis Doctoral, titulada "Estudio de la proteinemia y del ϵ proteínas y alteraciones de los mismos", ha sido hecha en mi servicio y bajo mi Dirección por mi discípulo Dn. Pablo Trincado Dopereiro.

Madrid- mayo - 1945



A MIS PADRES.

INDICE

=====

INDICE

| | |
|---|---------|
| Prologo..... | pag. 1 |
| Capitulo 1...: Introducción y consideraciones gene- rales..... | pag. 6 |
| a) de proteínas en Cirugia..... | pag. 10 |
| b) cantidad, y calidad de las protei- nas normales y mecanismos de la hipoproteinemias..... | pag. 17 |
| c) generalidades sobre absorcion en zona ultravioleta..... | pag. 21 |
| d) del estudio espectral..... | pag. 22 |
| Capitulo 11...: Tecnicas empleadas y critica de las mismas..... | pag. 28 |
| a) en la determinacion del peso especifico..... | pag. 29 |
| b) en la determinacion espectral. | pag. 36 |

| | |
|--|----------|
| Capitulo III.....:Técnica de una determinacion..... | pag. 47 |
| Capitulo IV.....:Protocolos y datos estadísticos..... | pag. 70 |
| Capitulo V.....:Resultados obtenidos e interpretación..... | pag.80 |
| Capitulo VI.... :Curvas espectrográficas..... | pag. 121 |
| Capitulo VII.....: Conclusiones..... | pag. 126 |
| Capitulo VIII....: Bibliografía..... | pag. 135 |

===== P R O L O G O =====
=====

Siempre oímos que al terminar nuestra tesis doctoral estaríamos invadidos por la emoción del triunfo; a través de nuestros largos años estudiantiles consideramos este momento como la apoteosis de nuestra carrera, la meta de nuestras ambiciones y el lejano horizonte de la vida universitaria.

Hoy, al ordenar los apuntes y notas de este trabajo para darle decoroso formato, nos vemos agitados por imprevisto conjunto de abigarradas sensaciones, abrumados por un tropel de recuerdos preteritos de aquel tiempo feliz de las aulas, y dispuesto nuestro espíritu a la filosofía nostálgica sobre cualquier momento pasado en nuestra Facultad de San Carlos.

Ahora, la tesis, no constituye para nosotros el fin de prodigios desvelos, ni la meta de unas aspiraciones; la vemos como eslabón que en-garza nuestra preparación académica con la realidad del ejercicio profesional, cuya asperanza ha de suavizar nuestra firme

vocación y la fe en Dios, pilar incommovible de la lucha que nos es
para.

Satisfechos del resultado de nuestro trabajo, por considerarlo el
primer jalón de nuestra vida investigadora, estamos decididos a conti-
nuar la ruta del estudio, siguiendo alegres la abrupta senda de una
cima lejana a la que nuestra ambición nos hace osadamente aspirar.

Creemos indicado éste momento para hacer pública la íntima y fer-
vorosa gratitud que siempre guardamos a quienes facilitaron nuestra
labor y fueron guías de nuestra formación profesional contribuyendo
activamente a nuestra preparación académica. Sea el primero en acep-
tar éste agradecimiento nuestro querido maestro el profesor D. Fer-
nando Enriquez de Salamanca, Catedrático de la Facultad de Medicina
de Madrid, con quién estudiamos las disciplinas médicas y cuyas expli-
caciones y lecciones magistrales imprimieron a nuestro inquieto afán
por los problemas aún sin resolver de la patología, el sello de Es-

4

cual creadora que queremos exista en nuestra primera tentativa de caminar por las tierras vírgenes de la medicina contemporánea.

Al lado de tan ilustre maestro., aprendimos las distintas aplicaciones de los métodos y técnicas físicas en la ciencia de la Medicina. Nos orientó siempre y nos facilitó todo lo necesario para efectuar los trabajos que integran esta tesis.

En este capítulo de reconocimiento no podemos olvidar al Dr. POGGIO MESSORANA, profesor de Técnicas Físicas aplicadas a la Medicina, de la cátedra del Conde de Cartagena de las Indias, de la Real Academia de Medicina que nos prestó en todo momento la más decidida y entusiasta colaboración.

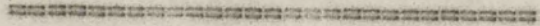
Nuestra gratitud y cariño al Instituto de Investigaciones Científicas y a la cátedra del Conde de Cartagena, gracias a los cuales bajo el consejo y guía del profesor ENRIQUEZ DE SALAMANCA ha sido posible la realización de nuestros anhelos.

Rendimos asimismo nuestra admiración y cariño a todos aquellos enfermos que procedentes de las Salas de Cirugía del Hospital Provincial de Madrid, se han prestado directa o indirectamente a éstos trabajos. Esos enfermos que constituyen un precioso material no solo de formación profesional de especialidades y prestigios clínicos, sino que además sirven al progreso de las ciencias médicas y contribuyen al mejor conocimiento de los cuadros patológicos que redundarán en beneficio de la humanidad doliente.

Por último a vosotros, compañeros y amigos del viejo Hospital Provincial que siempre estuvisteis sincéramente a punto para festejar mis triunfos y consolar mis decepciones, que no regateasteis esfuerzo para ayudarme, no he podido olvidaros hoy y desde aquí os abrazo con el corazón.

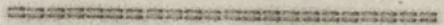
Y ahora solo queda presentar a la benevolencia clásica de nuestros profesores el trabajo de "dos cursos" que comienza a continuación.

CAPITULO 1



INTRODUCCION Y CONSIDERACIONES

GENERALES



Nuestra inclinación ha sido siempre abordar los problemas de la Clínica quirúrgica no solamente desde el punto de vista manual de la técnica quirúrgica en sí, sino que también encontrábamos la necesidad de cuidar nuestra formación científica en la que el hábito quirúrgico se complementa con el afán de lograr el íntimo conocimiento de la total patología de nuestros operados, ya que como decía López Sancho "la cirugía no es una ciencia matemática, sino biológica". Esta inquietud por el conocimiento de la verdad que a todos nos mueve, nos incitó a asistir a los cursos de técnicas físicas aplicadas a la medicina, patrocinadas por la Fundación del Excm^o Sr. Conde de Cartagena de las Indias de la R.A. de Medicina y que se llevan a cabo bajo los auspicios del Profesor Enriquez de Salamanca en la Facultad de Medicina de Madrid, con objeto de conocer otros medios de exploración que los habitualmente empleados y que nos abriesen nuevos horizontes en nuestra especialidad.

Sabido es que la intervención quirúrgica lleva aneja una profunda alteración de la crisis sanguínea y consiguiente modificación de todo el organismo; unas veces pasajera y compatible con la vida y otras progresiva e irreversible que conduce inexorablemente y ante la actitud ~~inerte~~ del cirujano al éxitus letal; es la llamada "enfermedad post-operatoria por LERICHE (1).

Esta enfermedad es condicionada a veces por el deficiente estado de las defensas orgánicas del sujeto; pero otras es consecutiva al trauma. Muy interesante sería poder dilucidar de antemano el estado de las defensas orgánicas, bien por aspectos parciales de la constelación humoral defensiva, llamese como quiera, o bien por la totalidad de los mismos; suerte no lograda hasta el presente, ni que en mucho tiempo alcanzaremos.

A este respecto y movidos como decimos por la complejidad de los sucesos acaecidos en el curso "post-operatorio" aún de aquellas operaciones mejor regladas y magistralmente ejecutadas y sin embargo seguidas de un resultado fatal, porque a última hora surgió una complicación inesperada que se debió prever. Insuficiencia cardiaca, bancarrota del hígado, infección de un foco séptico ignorado etc. etc. y que se engloban con el nombre genérico de "complicaciones" sin haber ahondado más el problema y que parecen ser un velo que cubren nuestra ignorancia o imprevisión; pero lo cierto es que el precepto fundamental de explorar completamente al enfermo, no solo respecto a la enfermedad que le lleva al quirófano, sino desde todos los puntos de vista, no se cumple mas que en pequeños número de casos, tan sólo por seguir la ley de menos trabajo y la confianza excesiva en la técnica operatoria. Se olvida con frecuencia que un tanto por ciento bastante crecido de las "complicaciones" no dependen de la enfermedad que motiva la intervención quirúrgica, sino de los puntos débiles del

organismo a ella sometido.

Este es el motivo por el que nosotros, cirujanos, nos hemos apartado de la senda trazada por los especialistas queriendo hacer una modesta aportación al conocimiento de la proteocasia de los enfermos quirúrgicos crónicos y aún de los agudos en los que pudiéramos sospechar estuviese afectada su cuproproteinemia, para lo cual emprendimos el presente trabajo con las técnicas e hipótesis de trabajo, resultados y protocolos que en los capítulos siguientes desarrollaremos.

Todas las intervencions quirúrgicas a carrear una alteración del equilibrio humoral del organismo en las cuales el plasma sanguíneo sufre modificaciones profundas que pueden ser puestas en evidencia por métodos físicos químicos o biológicos. Alteraciones a las cuales hoy se les concede gran importancia (TOMMASO 2).

Desde hace muchos años se presta atención ingente a este suceso humoral tan frecuente en el curso post-operatorio asi como en muchisimas enfermedades cual es el descenso de las proteínas hemáticas.

Recientemente y singularmente por los autores americanos THOMPSON, BARDIN y FRANK(3) se demuestra que la euproteinemia es de gran importancia para la perfecta y normal cicatrización de las heridas. Igualmente han demostrado MECRAY, BARDEN y R'AVDIN (4) que la evacuación del estómago y los trastornos pos-operatorios son influidos desfavorablemente por la hipoproteinemia existente confirmada por BARDEN, RAVDIN y FRACIER (5) que lograron corregirla por abundante transfusion de sangre total o plasma.

Asimismo tiene importancia en los sindromes tóxicos y hepáticos pos-operatorios que aparecen en los sujetos con hipoproteinemia GOLOSCHMID, IVERS y RAVDIN (6).

Ahora bien la valoración cuantitativa de las proteínas séricas, aun siendo importantes, no es más que un índice grosero de la discrasia existente. Nosotros aspirábamos y el porvenir se encargará de confirmarlo o de re-

futarlo, a estudiar más íntimamente la disproteïnemia existente ya que es obvio insistir en que no es lo mismo una disproteïnemia cuantitativamente disminuida y cualitativamente alterada que una disproteïnemia cualitativamente ^oproporcionada, ya que como se comprende, la alteración humoral es de distinto matiz; simple expoliación en uno y discrasia con hondas raíces en otro; en presencia de este último nos es lícito sospechar el acaecimiento de cualquier contingencia desagradable y por lo tanto, ya con un estudio previo, sentamos una indicación profiláctica o un juicio pronóstico.

Concepto de proteínas: es evidente que las proteínas séricas no son conocidas por completo ni en sus funciones ni en la importancia que puedan tener. A medida que se perfeccionan las técnicas físicas hay más duda respecto a si son una unidad o si efectivamente existen las fracciones admitidas por casi todos los autores. Más no por ello su fisiologismo tiene menos valor ya que son tan grandes las alteraciones que en el organismo se producen cuando aquellas se perturban que BENNHOLD las eleva a la categoría "de auténticos órganos".

Numerosos han sido los procedimientos físicos, químicos y bioquímicos utilizados para el conocimiento de la estructura sérica, desde los fraccionamientos y separación de partes con individualidad propia ya iniciada en 1.851 por PANUM que separa en el suero sanguíneo una parte precipitable por el ácido acético a la cual llama caseína del suero y que más tarde SCCHMI-

DT (6) en 1.882 le llama "globulina" o sustancia fibrino-plástica y en 1886 KUHNE (7) distingue dos fracciones una precipitable por el anhídrido carbónico la llamada "paraglobina" y otra por el ácido acético la "alcali-albuminato" ^{Pi}ulteriormente designada como seroglobulina por WELL y HEYNIUS (7) y que desde entonces se manejan en la literatura dos conceptos: seroglobulina, y seroalbúmina. Ahora bien hubo reacciones por parte de HAMMARSTE, SPIEGEL (8) y otros en 1.930.

SURENSEN (9) no admite tal diferenciación y sienta la teoría del unitarismo.

Pero recientemente en nuestros días (1.944) VON SODEN y DIRR (10) o ponen a la concepción dualista de las proteínas séricas (concepción que llaman integral) según la cual las proteínas tienen toda la gama de las dispersiones coloidales, desde la partícula más tenue a la micela más grosera pasando por una serie de pasajes graduales que no permiten un fraccionamiento en grupos definidos.

KYLIN dice que tal unitarismo está en pugna con los resultados obtenidos por la precipitación con sulfato amónico. Se han aplicado pues y siguiendo estas concepciones al estudio de la constitución proteínica del suero y obtenido resultados de interés práctico por la interpretación de los resultados hallados: así se habla de una inversión del cociente $\frac{\text{albúmina}}{\text{globulina}}$ etc. etc

Más recientemente y aplicando las técnicas físicas se obtuvieron conclusiones de gran interés por el estudio espectral sérico con la luz ultravioleta, espectros de difracción a los rayos X, estudios de electroforesis, fotografías según el método de TISELIUS (11) separación fraccionada por el método en U de MICHAELIS (12) por las cuales separan las albúminas de las globulinas y dentro de estas últimas tres fracciones α , β , γ

Asimismo se han estudiado desde el punto de vista experimental y sin aplicar todavía a la práctica del peso molecular por ultracentrifugación y estudios de las composiciones químicas por ultrafiltración. Ya de aplicación en la práctica nos encontramos con el estudio de distintas reacciones de serocoagulación y serofloculación (reacción de TAKATA-ARA) (13) (reacción de WELLMAN (14) de UCKO (15) etc, etc.

Recientemente WUHRMANN (16) y WUNDERLAY (17) que efectúan la separación fraccionada por agregación del electrolito y construyen las curvas de solubilidad de las proteínas séricas; igualmente aplican las técnicas físicas al estudio de las mismas ampliando la reacción de WELLMAN (18) por el estudio y curvas nefelométricas de los tubos no coagulados por el calor en presencia del cloruro cálcico.

Mucho más recientemente, en 1.944 comunica POLONOWSKI y JAILE (19) el aislamiento y dosificación de la fracción proteica precipitable por el sulfato de amonio en la zona de la seroalbúminas que denominan "haptoglobina" y que arrastran en su precipitación la mayoría de los pigmentos que dan al

plasma su coloración. Se trata probablemente de un glucoproteido que contiene hasta el 10 % de azucar y cuya propiedad mas notable es el poder que tiene de formar con la hemoglobina un compuesto esteoquímtrico que se comporta como una peroxidasa verdadera y que por combinación con la hemoglobina produce un sistema enzimático muy activo y estable. La dosificación de la haptoglobina se basa en la medida yodométrica del poder peroxidásico que el suero estudiado confiere a una cantidad determinada de hemoglobina de caballo en determinadas condiciones y que normalmente seria entre 0,3 y 1,2 & y este indice refleja muy fielmente el estado clínico del enfermo no alcanzando la normalidad hasta la curación completa.

Como vemos en el campo científico reinaba la inquietud de abordar el conocimiento íntimo de la estructura sérica por técnicas mas finas que el simple fraccionamiento comúnmente llevado a cabo. En este sentido en conocimiento y posesion de técnicas adecuadas que luego describiremos, hemos pretendido estudiar el espectro proteico sérico y a la vez la cantidad de proteina totales existentes en el mismo para obtener de estos datos una vision lo mas acertada del estado cuali y cuantitativas de los mismos. Para ellos efectuamos una serie de valoraciones de la proteinemia total en los siguientes grupos de enfermos.

| | |
|---------------------|----|
| Normales..... | 16 |
| Apendicitis..... | 12 |
| Osteomielitis... | 18 |
| Iny. supuradas... | 5 |
| Cancer de estomago. | 9 |
| Quemaduras..... | 5 |
| Abcesos..... | 10 |
| Hernias..... | 3 |
| Fimicos..... | 6 |
| Operados..... | 10 |
| Panadizos..... | 3 |
| Varios..... | 10 |

EN TOTAL.....107

Y por otro lado tambien efectuamos el estudio espectral de los mismos, elaborando conjuntamente los resultados obtenidos para hallar el coeficiente de absorción referido a proteínas; coeficiente que será el exponente de la alteración ~~la~~ cualitativa, ya que ^{el} simple estudio de la curva espectral del suero es en si poco expresivo lo mismo que el estudio aislado de la proteinemia, debiendo pues efectuarse un estudio comparativo.

No quiere esto decir, ni nosotros pretendemos insinuar, que seamos los primeros en aplicarlo a la PATOLOGIA clínica; pero si creemos ser de los primeros como cirujanos y en la cirugía, el aplicar estas técnicas y obtener unas conclusiones que creemos de importancia científica y práctica, como ulteriormente expondremos junto con los resultados obtenidos por otros autores.

La cantidad de proteína existente en el plasma varía de 6,5 a 8,5 gramos por 100 cm. cúbicos (SANSON WRIGHT) (124). Es posible distinguir en el plasma tres proteínas. Fibrinógeno del cual habría 10,3 gs. Seroalbúminas que existen en cantidad de 4,5 gs. y Seroglobulinas en cantidad de 1,7 gs. Las albúminas forman aproximadamente el 65 por 100 de las proteínas plasmáticas, las globulinas el 30 por 100 y el Fibrinógeno el 5 por 100.

Son diferentes en cuanto al peso molecular siendo el del fibrinógeno de más 100.000; el de las globulinas de unos 100.000 y el de las albúminas de 40.000. La albúmina, que tiene la menor molécula, es la más difusible y cuando la permeabilidad de los glomérulos renales aumenta por procesos patológicos pasa a la orina, mientras que la fracción globulínica es retenida en el plasma.

La sangre desprovista de sus células es el plasma, el plasma desprovisto de fibrinógeno es el suero.

Cada parte tiene una función en el organismo, función no muy bien conocida en toda su extensión.

El fibrinógeno se forma en el hígado; las albúminas y globulinas su origen es discutido.

La relación en el plasma de albúminas y globulinas se llama cociente albúmino-globulina y es 1,7 a/1,00 G.

Lo que se pierde más en la hipoproteïnemia es la albúmina: por ello hay autores que la llaman hipoalbuminemia.

Veamos por qué camino se puede llegar a las hipoproteïnemias.

El estudio de ellas cada día despierta más interés, ya que, aparte de su función diferente; en el mantenimiento de la presión oncótica de la sangre y por ende su influencia en el recambio del agua con los tejidos, moderadamente se les atribuye multitud de funciones tales como desintoxicante al servir de vehículo a tóxicos diversos BENNHOLD (125) formadora de anticuerpos HADDEN y WHIRPLE (126) y por tanto eje de los Fenómenos inmunitarios, estimuladora de los fibroblastos y como tal

tiene una proteïnemia normal, mucha importancia como veremos en la curación de las heridas. Esto explica las hipoproteïnemias halladas por IRVIN y otros (127) en las eventraciones post operatorias esenciales, es decir para las que no se puede invocar ninguna patogenia infecciosa ni mecánica, cosa que concuerda perfectamente con las observaciones de GARRAL, CLARKE (128) según las cuales una dieta rica en carne acelera la cicatrización de las heridas. RAVDEN (129) como veremos ha puesto sobre el tapete modernamente los problemas que en cirugía plantea la hipoproteïnemia.

A una hipoproteïnemia podemos llegar

- a) Por ingestión insuficiente cual es el caso del hambre y regímenes dietéticos defectuosos. (déficit de aporte).
- b) Por mala reabsorción intestinal (enteritis, neoplasia, etc.,)
- c) Por síntesis alterada como es el caso de las cirrosis hepáticas
- d) Por pérdidas exageradas en supuraciones grandes, albuminurias etc.

La medida de las proteínas en clínica es difícil, como anteriormente hemos dicho, utilizándose los procedimientos: Refractométricos; colorimétricos; peso específico; determinación del nitrógeno por el método de KJELDAHL, gravimétricos, determinación del nitrógeno por nesslerización, electroforesis, ultracentrifugación, etc, etc. Estos dos últimos son los más exactos aunque difíciles de aplicar a la práctica corriente.

Para poder interpretar nuestros resultados tenemos que advertir dos cosas.

- 1ª.- Que si hay deshidratación la cifra de proteínas será normal e incluso aumentada siendo necesario para valorarla saber el valor hematocrito.
- 2ª.- Que en total pueden estar bien las proteínas y sin embargo estar la albúmina baja y las globulinas altas, por ello hay que conocer el valor del cociente A/G.

Aunque de antiguo se investigaron distintas substancias de valor aplicado a medicina por técnicas espectroscópicas, bien por lossencillos aparatos de vision directa de BUNSEN o de BOWNING (20) o el microespectroscopio de ABBE despues (21) hasta los mas modernos espectroscopios de sangre de SCHUMM (22) el espectroscopio de red del mismo autor (23) y el magnifico espectroscopio de KUNIG y de MARTENS (24) no fué posible estudiar directamente el suero en el espectrografo, porque el espectro de absorción en la zona visible que era hasta entonces el utilizado, era poco demostrativo ya que la absorción aumenta muy intensamente desde el rojo al ultravioleta, lugar en donde alcanza valores muy altos para el coeficiente de extinción.

Despues de esto, muchos fueron los autores que han trabajado en el espectro del suero normal y patológico, entre los que descuellan ~~WILSON~~^{JUDD-LEWIS} (25) DEHRE CENRI, LESCOMPTE, DU NOVY, etc, y finalmente HELMEYER (26) que es quizá el que ha realizado un estudio mas sistematizado y ordenado que le ha permitido en muchos casos llegar a conclusiones concretas.

El suero no puede en general estudiarse directamente en el espectrografo porque su absorción es tan intensa que seria necesario utilizar cubetas de muy pequeño espesor por lo cual generalmente se le diluye en agua o en suero fisiológico.

FUCH, KAUNITZ y LERCH (27) operaron con suero al 1 - 3 % diluido en suero

fisiológico y vieron se cumplía la ley de BEER (28) que mas tarde confirmaron SUHRMANN y KOLLATH (29).

GRAUBNER afirma que las disoluciones de suero en sueros fisiológicos siguen la ley de BEER, pero que no la siguen si se diluye en agua destilada.

A veces se emplea una mezcla de una parte de suero con dos de alcohol de 96 ° y centrifugando la mezcla; si aparece enturbiado, se le añaden una o dos gotas de éter. Puede tambien emplearse una disolución de una parte de suero, otra de alcohol y otra de éter ^{de} petróleo o éter etílico. Finalmente puede emplearse el extracto que resulta tratando unapartede suero por la mezcla formada por ocho partes de alcohol y dos de acetona.

Para obtener el suero, como veremos, se hace la toma de sangre, estando el paciente en ayunas y la sangre se recoge directamente en un tubo de centrifuga, donde se le deja estar algun tiempo para que se separe el suero y despues se centrifuga.

En el suero humano normal la zona espectral mas apropiada para el estudio de las proteínas, es la de 278 a 280 $\mu\mu$ en la cual tienen el máximo de absorción; siendo este pues el mas sensible reactivo espectrofotométrico y la del mínimo entre 252 y 254 $\mu\mu$.

El coeficiente de extinción oscila bastante de un individuo a otro.

GRAUBNER (30) lo fija para el máximo 280 $\mu\mu$ con 79 como valor medio.

FUGHS, KAUNITZ, y LERCH (31) admiten variaciones desde 50 a 80 y otros in-

investigadores establecen valores que oscilan entre 65 y 85, en el mínimo de las 250 $\mu\mu$ la concordancia es mayor pues GRABNER establece el valor 32 y FUCHS, KADNITZZ y LERCH admiten variaciones comprendidas entre 26 y 36.

Se admiten hoy día que las proteínas séricas y sus productos de desintegración son los que originan ésta absorción y LEWIS (32) ha estudiado la precipitación fraccionaria del suero con sulfato amónico y los espectros de las γ -globulinas, seroglobulinas y albuminas precipitadas después de redisueltas y todas ellas presentan un máximo y un mínimo en la misma zona espectral bastante próximos entre sí.

No solo las proteínas intervienen en este máximo porque FLORENCE y DILBRON han estudiado espectralmente sueros \times privados de proteína por ultrafiltración (33) con membranas de colodión y comprobada esa eliminación por el reactivo de TANRET y obtuvieron la curva de extinciones que mostró un curso análogo al del suero primitivo aunque desplazados a mayores longitudes de onda el máximo y el mínimo

Esta absorción se atribuye a los aminoácidos y^a que todos ellos presen-

tan un máximo y un mínimo en la misma zona de tal modo que algunos investigadores mezclando en proporciones convenientes tirosina, triptofán, fenilalanina, cisteína, leucina, glicocola y ácido glutámico, han llegado a reproducir el máximo de 278 $\mu\mu$. Como se ve, es bastante compleja la clase y número de compuestos que intervienen en la absorción de esta zona: pero los únicos que tienen importancia clínica, o al menos a este respecto han sido estudiadas, las proteínas, ya que no todas absorben con la misma longitud de onda ni en la misma proporción, desplazando el máximo a derecha o a izquierda según que domine en el líquido biológico que se estudia la fracción proteica de más capacidad absorbente aumentando por ello su coeficiente de extinción que espectralmente se determina, o bien si domina la fracción que menos absorbe este coeficiente estará disminuido. Es muy interesante hacer notar aquí que a pesar de existir todas estas diferencias de absorción que reflejan las distintas composiciones proteicas, estos líquidos contienen cuantitativamente el mismo porcentaje de proteína determinado por cualquier método.

Los sueros patológicos conservan en general el aspecto de la curva del suero normal (pero a veces hay desplazamientos de puntos característicos): otras hacen aparecer nuevos máximos o destacar los existentes que a veces alteran sensiblemente los valores de ~~extinción~~ *extinción* en una zona más o menos amplia del espectro. Cuando se investigue un suero patológico desconocido hay que fijarse en los más pequeños detalles ya que de ellos dependen las modificaciones de las curvas y causa unas variaciones de cantidad de un componente normal o la aparición de un componente anómalo.

Los investigadores que han estudiado espectralmente el suero patológico unos, como HEINEXER, han trabajado en la zona visible, y otros como JUDD LEWIS, SUEHMANN, GRCH (34) etc. en la ultravioleta sin que al comparar los resultados obtenidos podamos decir qué zona debe ser la preferida. Los sueros de anemias perniciosas, ictericias hemolíticas y catarrales se caracterizan según HEINEXER por destacarse el arco de la bilirrubina y la curva ligeramente ascendente entre las longitudes de onda 440 y 420 $\mu\mu$, en estos sueros es descendente, por haberse elevado sobre lo normal el máximo de la

bilirrubina en las 440 $\mu\mu$, ya que en igualdad de concentración en los densímetros colorantes el contenido en bilirrubina es más alto. Esto lo prueba también el aumento del coeficiente de extinción que entre las longitudes de onda de 500 y 440 toma valores de $\log \epsilon$ comprendidos entre 0,1 y 0,5 mientras que en los normales van desde 0,2 a 0,1. Los valores de \log aritmo ϵ en el mínimo de 460 $\mu\mu$ oscila en las anemias perniciosas entre 1,2 y -0,4 mientras que en el normal no suele pasar de los valores comprendidos entre -0,1 y -0,2.

El problema de la giproteïnemia cualitativa y cuantitativamente considerado ha inquietado en otros aspectos de la medicina a muchos investigadores: nosotros en posesión de técnicas físicas con las cuales se abren nuevos horizontes a la exploración clínica, hemos querido aplicarlo a nuestra casuística de enfermos intervenidos en el Hospital General y cuyos resultados es el presente trabajo que ofrendamos como una modesta aportación a la resolución de tan interesante extremo.

Hemos utilizados en muchas investigaciones dos tipos de enfermos; de

una parte los crónicos, en los que lógicamente había que sospechar una profunda alteración de su fisiología y la de los agudos en los que había que esperar una alteración de dichas cifras normales porque puestas ante el suceso operatorio podían reaccionar patológicamente bien por la existencia de una lesión latente de un sistema proteocránico ya por el resultado de la explotación de proteínas propias por el acto operatorio existente en todos los casos y que en algunos de ellos fuera más marcado o tuviera una mayor expresión por la miopragia de los citados órganos proteocránicos, extremos todos que de ser conocidos por el cirujano condicionan medidas terapéuticas adecuadas.

Exponemos a continuación los resultados obtenidos con un comentario previo de la técnica utilizada y su crítica.

20

C A P I T U L O I I .

TECNICAS EMPLEADAS Y CRITICA DE LAS MISMAS.

=====

TECNICAS EMPLEADAS.- CRITICA DE LAS MISMAS. Como en la introducción general se expone, se ha llevado a cabo dos tipos de determinaciones. De una parte la valoración cuantitativa de las proteínas séricas y de otra su estudio espectral.

Para determinar las proteínas totales se han descrito numerosos procedimientos: químicos, físicos, colorimétricos, gravimétricos, etc. los unos directos y los otros indirectos. De todos ellos hemos utilizado la determinación de las proteínas séricas a partir del peso específico del suero determinado por el procedimiento pignométrico utilizando el mismo micropignómetro de Moreno Martín (esquema nº 1), cuyas ventajas fueron discutidas por AZNAR (35).

El peso específico de un suero, resulta de dividir el peso del suero en gramos por su volúmen, en cm³. $\text{Peso específico} = \frac{P}{V}$.

Determinar ese peso específico, es representar un valor complejo que expresa los distintos componentes del mismo, y estará en relación directa de su composición química cuantitativa. El suero encierra el

90 por 100 aproximadamente de agua y el 10 por 100 de materias sólidas. Las materias orgánicas representan el 9 por 100 y están formadas por albuminoides, colessterina, leticina, urea, azúcares, grasas y jabones.

Entre las sustancias minerales, se encuentra el cloro, potasio, calcio, fósforo, azufre, magnesio y en pequeñas cantidades, arsénico yodo y manganeso (ROGER Y BINET) (36). El peso específico será la expresión del contenido de albúminas del mismo, ya que los otros componentes afectan poco a las condiciones fisiológicas del mismo, aunque en situaciones patológicas pudieran tener una ligera influencia: así disminución del cloro, calcio y sodio en las nefritis; aumento de colessterina en los diabéticos; de bilirrubina en los hepáticos, etc, etc. Entre el peso específico de un suero y su contenido de albúmina hay cierto paralelismo y los investigadores dan fórmulas que difieren muy poco para determinar del suero el tanto por ciento de las albúminas. La seguida por nosotros es la de WEECH, REEVES Y GOETSCH (37) que fué dada para determinar las proteínas del suero a partir de su peso espe-

cífico en el perro y que fué comprobada por SCUDDER (38) en la sangre humana, le hace aplicable un tanto a la misma. Proteínas del suero = (peso específico -1,0073)x(347,9).

A fin de facilitar esta operación aritmética utilizamos las siguientes tablas

Transformación del peso específico del suero sanguíneo en proteínas totales %, según WRECH.

| P.e. | Prot. | P.e. | Prot. |
|--------|-------|--------|-------|
| 1.0145 | 2.50 | 1.0164 | 3.17 |
| 1.0146 | 2.54 | 1.0165 | 3.20 |
| 1.0147 | 2.57 | 1.0166 | 3.23 |
| 1.0148 | 2.61 | 1.0167 | 3.27 |
| 1.0149 | 2.65 | 1.0168 | 3.31 |
| 1.0150 | 2.69 | 1.0169 | 3.34 |
| 1.0151 | 2.73 | 1.0170 | 3.37 |
| 1.0152 | 2.76 | 1.0171 | 3.41 |
| 1.0153 | 2.80 | 1.0172 | 3.44 |
| 1.0154 | 2.84 | 1.0173 | 3.48 |
| 1.0155 | 2.87 | 1.0174 | 3.51 |
| 1.0156 | 2.90 | 1.0175 | 3.54 |
| 1.0157 | 2.94 | 1.0176 | 3.58 |
| 1.0158 | 2.97 | 1.0177 | 3.61 |
| 1.0159 | 3.00 | 1.0178 | 3.64 |
| 1.0160 | 3.04 | 1.0179 | 3.68 |
| 1.0161 | 3.07 | 1.0180 | 3.72 |
| 1.0162 | 3.10 | 1.0181 | 3.75 |
| 1.0163 | 3.14 | 1.0182 | 3.78 |

| P.e. | Prot. | P.e. | Prot. |
|--------|-------|--------|-------|
| 1.0183 | 3,82 | 1.0207 | 4,65 |
| 1.0184 | 3,86 | 1.0208 | 4,69 |
| 1.0185 | 3,90 | 1.0209 | 4,73 |
| 1.0186 | 3,93 | 1.0210 | 4,77 |
| 1.0187 | 3,97 | 1.0211 | 4,80 |
| 1.0188 | 4,00 | 1.0212 | 4,83 |
| 1.0189 | 4,03 | 1.0213 | 4,87 |
| 1.0190 | 4,07 | 1.0214 | 4,91 |
| 1.0191 | 4,11 | 1.0215 | 4,93 |
| 1.0192 | 4,14 | 1.0216 | 4,96 |
| 1.0193 | 4,17 | 1.0217 | 5,00 |
| 1.0194 | 4,20 | 1.0218 | 5,04 |
| 1.0195 | 4,23 | 1.0219 | 5,07 |
| 1.0196 | 4,27 | 1.0220 | 5,11 |
| 1.0197 | 4,31 | 1.0221 | 5,14 |
| 1.0198 | 4,34 | 1.0222 | 5,17 |
| 1.0199 | 4,38 | 1.0223 | 5,21 |
| 1.0200 | 4,41 | 1.0224 | 5,25 |
| 1.0201 | 4,45 | 1.0225 | 5,28 |
| 1.0202 | 4,48 | 1.0226 | 5,31 |
| 1.0203 | 4,52 | 1.0227 | 5,34 |
| 1.0204 | 4,55 | 1.0228 | 5,38 |
| 1.0205 | 4,59 | 1.0229 | 5,40 |
| 1.0206 | 4,62 | 1.0230 | 5,40 |

| P.e. | Prot. | P.e. | Prot. |
|--------|-------|--------|-------|
| 1.0231 | 5,50 | 1.0254 | 6,29 |
| 1.0232 | 5,53 | 1.0255 | 6,33 |
| 1.0233 | 5,56 | 1.0256 | 6,37 |
| 1.0234 | 5,60 | 1.0257 | 6,40 |
| 1.0235 | 5,63 | 1.0258 | 6,43 |
| 1.0236 | 5,67 | 1.0259 | 6,47 |
| 1.0237 | 5,71 | 1.0260 | 6,50 |
| 1.0238 | 5,74 | 1.0261 | 6,54 |
| 1.0239 | 5,77 | 1.0262 | 6,57 |
| 1.0240 | 5,80 | 1.0263 | 6,61 |
| 1.0241 | 5,84 | 1.0264 | 6,64 |
| 1.0242 | 5,87 | 1.0265 | 6,67 |
| 1.0243 | 5,91 | 1.0266 | 6,71 |
| 1.0244 | 5,94 | 1.0267 | 6,74 |
| 1.0245 | 5,97 | 1.0268 | 6,78 |
| 1.0246 | 6,01 | 1.0269 | 6,81 |
| 1.0247 | 6,05 | 1.0270 | 6,85 |
| 1.0248 | 6,08 | 1.0271 | 6,88 |
| 1.0249 | 6,12 | 1.0272 | 6,92 |
| 1.0250 | 6,15 | 1.0273 | 6,95 |
| 1.0251 | 6,19 | 1.0274 | 6,99 |
| 1.0252 | 6,22 | 1.0275 | 7,05 |
| 1.0253 | 6,26 | 1.0276 | 7,08 |

| P.e. | Prot. | P...e | Prot. |
|--------|-------|--------|-------|
| 1.0277 | 7.10 | 1.0301 | 7.93 |
| 1.0278 | 7.15 | 1.0302 | 7.96 |
| 1.0279 | 7.18 | 1.0303 | 8.00 |
| 1.0280 | 7.20 | 1.0304 | 8.03 |
| 1.0281 | 7.23 | 1.0305 | 8.07 |
| 1.0282 | 7.26 | 1.0306 | 8.10 |
| 1.0283 | 7.30 | 1.0307 | 8.14 |
| 1.0284 | 7.34 | 1.0308 | 8.17 |
| 1.0285 | 7.37 | 1.0309 | 8.21 |
| 1.0286 | 7.41 | 1.0310 | 8.24 |
| 1.0287 | 7.44 | 1.0311 | 8.27 |
| 1.0288 | 7.47 | 1.0312 | 8.30 |
| 1.0289 | 7.50 | 1.0313 | 8.34 |
| 1.0290 | 7.54 | 1.0314 | 8.38 |
| 1.0291 | 7.59 | 1.0315 | 8.41 |
| 1.0292 | 7.61 | 1.0316 | 8.45 |
| 1.0293 | 7.65 | 1.0317 | 8.49 |
| 1.0294 | 7.69 | 1.0318 | 8.52 |
| 1.0295 | 7.62 | 1.0319 | 8.55 |
| 1.0296 | 7.75 | 1.0320 | 8.59 |
| 1.0297 | 7.79 | 1.0321 | 8.62 |
| 1.0298 | 7.82 | 1.0322 | 8.66 |
| 1.0299 | 7.86 | 1.0323 | 8.69 |
| 1.0300 | 7.89 | 1.0324 | 8.72 |

FUNDAMENTOS DE LA TECNICA ESPECTRAL

En el siglo XVIII descubrió NEWTON el fenómeno de la dispersión de la luz blanca al atravesar un prisma de cristal, descomponiéndose en la gama de colores espectrales, descubrimiento que dió nacimiento a la espectrografía, la que ampliando poco a poco su radio de acción, ha encontrado cada día nuevos campos de aplicación. FRAUNHOFER (39) la aplica a la astronomía, descubre los rayos que llevan su nombre y más tarde se consigue averiguar la composición química de algunos astros por espectros. La espectrografía, con sus dos modalidades de absorción y emisión, la vemos hoy aplicada en actividades industriales y comerciales, siendo insustituible para la valoración de vitaminas por la exactitud y rapidez de su método.

La física halla en ella el mejor medio de estudiar la estructura íntima del átomo; la Química se apoya en el análisis espectral para iden-

tificar y dosificar cantidades mínimas de elementos cuyo descubrimiento no sería factible por teorías exclusivamente químicas y hace posible el hallazgo de cuerpos extraños en compuestos químicamente puros. En Biología cada día se dilatan más los horizontes de su aplicación y actualmente son de empleo corrientes las técnicas de laboratorio para investigar cualitativa y cuantitativamente los diferentes productos orgánicos o elementos organizados de toxinas, la dosificación de la hemoglobina, el estudio de la bilis, orina, tejidos orgánicos, etc., etc. Es indudable que estas múltiples aplicaciones de la espectrografía han aparecido conforme los espectrocopios han ido perfeccionándose desde los de visión directa de BUNSEN o de BROWNING hasta los más modernos como KIRCHHOFF, SCHUM y ZEISS (40).

No es nuestra misión desarrollar un tema de espectrografía; por este motivo sólo hacemos reseñar los aparatos, procedimiento que podíamos seguir y decidir de esta exposición el por qué de la técnica empleado en este pequeño trabajo de investigaciones biológicas.

Para nuestro trabajo de técnica espectral proteico, hemos empleado el espectroscopio de ZEISS (dibujo esquemático de la lámina) con óptica de cuarzo designado espectrógrafo para químicos, con el que se obtiene un espectro que abarca desde 2.000 Å hasta los 5.800 Å, con extensión de 22 cm. Este aparato tiene la ventaja de disponer de un juego intercambiable de red de difracción y óptica de vidrio para el estudio de la zona visible con un foco luminoso intenso: un vidrio prismático para el estudio de la zona visible de las líneas débiles y una óptica de cuarzo para la zona ultravioleta que permite el estudio de cualquiera de las dos zonas de interés analítico, por lo que se ha dado a este aparato el nombre de "espectrógrafo para químicos"; la cámara fotográfica de que va equipado permite impresionar placas del tamaño 9 x 12 o bien 13 x 18.

En los aparatos destinados a la observación de la zona visible, su óptica es de vidrio porque presenta en esta zona una dispersión mayor y por lo tanto separa más los rayos de luz emergentes de distinto color o longitud de onda, pero en cambio, para la zona ultravioleta no

pueden utilizarse, ya que la óptica de vidrio absorbe estas radiaciones y no es transparente para ellas. A partir de los 4.000 Å que es la longitud de onda en que por término medio suele hacerse más intensa la opacidad del vidrio, el cuarzo da una magnífica dispersión y esta zona ultravioleta es la que hemos utilizado para realizar nuestros trabajos con sueros obtenidos de enfermos crónicos o agudos, investigando y valorando las modificaciones cualitativas y cuantitativamente de las proteínas.

La absorción espectral se funda, según EINSTEIN,⁽¹⁵⁾ en que si un rayo luminoso se vé precisado a atravesar ciertas sustancias se observará que en la luz que sale no están todas las radiaciones que entraron, sino que faltan algunas que han sido absorbidas por las sustancias interpuestas. La cuantía de absorción y la delimitación de las zonas absorbidas se establece descomponiendo espectralmente la luz que ha atravesado la solución absorbente y sobre la banda policroma que constituye el espectro se verá una zona oscura, que es la absorbida, formando la banda de absorción. Las sustancias coloreadas absorben en una u otra zona

visible y las incoloras en la infrarroja o la ultravioleta.

La absorción es selectiva en calidad y cantidad: depende exclusivamente de la molécula absorbente, por lo que debe operarse con soluciones transparentes, y este es el fundamento del análisis espectral por absorción, técnica por nosotros empleada, por no alterar la materia analizada y proporcionar espectrogramas característicos para cada sustancia, identificando las moléculas que la constituyen, con lo cual tenemos el análisis cuantitativo.

El empleo de los espectros de absorción como medio de análisis supone el valorar el coeficiente de absorción en una zona amplia para trazar en ella la curva correspondiente que da por resultado un análisis cualitativo; o determinar la longitud de onda por máximos y mínimos de absorción que es trabajo de índole cuantitativo. En ambos casos hay que determinar los coeficientes de extinción en los puntos de máxima sensibilidad para una o varias longitudes de onda.

De las técnicas espectrográficas empleadas, nosotros hemos dado pre-

ferencia a la fotográfica por ser más rigurosa, dejar testimonio del trabajo y poderse estudiar con detenimiento fuera del Laboratorio.

HENRI (41) fué el primero que estableció una técnica para calcular valores de coeficientes de extinción, pero ésta tiene el inconveniente de que los espectrogramas que sirven de comparación son obtenidos en tiempos sucesivos, pero no simultáneos y puede ocurrir que la intensidad del foco luminoso aumente o disminuya y por lo tanto ~~influya~~ influya en el es pectrograma y conduzca a errores. Nosotros hemos seguido la técnica que hoy en día goza de preferencia, obteniendo los dos espectrogramas de una disolución y un disolvente del mismo espesor, pero simultáneamente. Para ello, del foco luminoso se separan dos haces prácticamente iguales: uno de los cuales pasa por la disolución y el otro por el disolvente. El que pasa por la disolución es absorbido selectivamente en las distintas longitudes de onda por la sustancia que se estudia y el otro sólo, por el disolvente y estas diferencias, nos servirán para trazar los valores de extinción y longitud de la onda, expresándola gráficamente mediante cur-

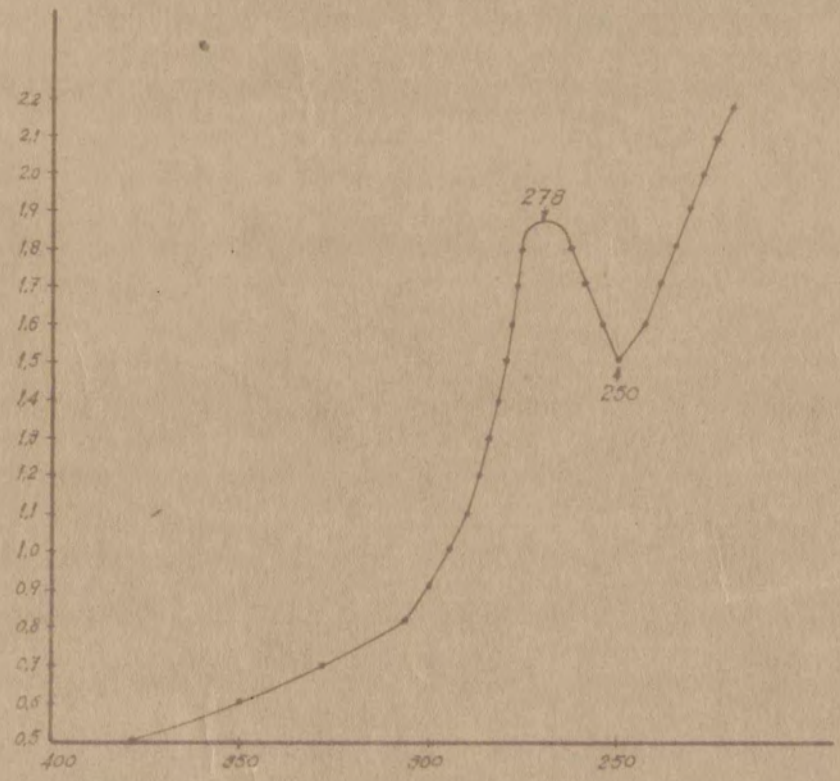
vas que tendrán por abscisas las longitudes de onda y por ordenadas las extinciones.

En el espectrógrafo de ZEISS el haz luminoso que atraviesa el disolvente pasa también por un diafragma o sector que puede graduarse y reducir la intensidad del rayo luminoso en proporciones conocidas, para así obtener parejas de espectrogramas con valores distintos en el diafragma. En aquellas longitudes de onda en que la pareja de espectrogramas de la disolución y el disolvente presentan el mismo ennegrecimiento, es que la disolución absorbió la misma cantidad de luz que el diafragma o sector no dejó pasar y como una vez graduado el sector conocemos en cuanto extingue, conoceremos también en cuanto absorbe la sustancia esa que se estudia.

Optando con distintas y sucesivas aberturas del sector o diafragma, se tendrán distintos valores de la extinción y cada pareja de espectrogramas determina la longitud de onda a que corresponden estos valores.

En la actualidad el sector o diafragma se emplea con abertura constante si para obtener los dos espectrogramas se emplean cubetas de re-

Curva de absorción del suero normal
en la zona ultravioleta.



fica que es la llamada curva de extinciones, llevando en unos ejes coordinados las longitudes de onda en abscisas y los coeficientes de extinción en ordenadas. (Véase la gráfica adjunta). Para dejar cumplidamente expuesta esta ligera exposición de la técnica espectral, nos falta tan sólo indicar una de las propiedades fundamentales de los coeficientes de extinción que es la base de su aplicación al análisis. Nos referimos a la proporcionalidad que existe entre coeficiente de extinción y concentración, de tal manera que determinando el coeficiente de extinción de una solución de concentración conocida y determinando este mismo coeficiente para una solución de concentración desconocida, puede calcularse mediante una sencilla proporción la concentración del absorbente en el líquido problema.

La técnica espectral es particularmente útil para la determinación de pigmentos, trabajando en la zona visible y para el estudio de sustancias incoloras, trabajando en la zona ultravioleta y aun en la de infrarroja; particularmente la ultravioleta se ha mostrado muy útil

en la espectrografía clínica para el estudio de las proteínas, porque en la longitud de onda $278 \text{ m}\mu$, presentan estos compuestos un máximo de absorción muy característico, aunque no específico de la proteínas, ya que también lo producen sus constituyentes fundamentales, es decir, los aminoácidos. Por esto, el estudio del coeficiente de extinción en las $278 \text{ m}\mu$ en cuyo origen intervienen las proteínas y aminoácidos, nos indican la síntesis y desintegración del metabolismo proteínico, muy particularmente si se le compara con la valoración de proteínas hecha por otra técnica. El estudio y relación de ello es el objeto de este trabajo.

41

CAPITULO III

TECNICA DE UNA DETERMINACION

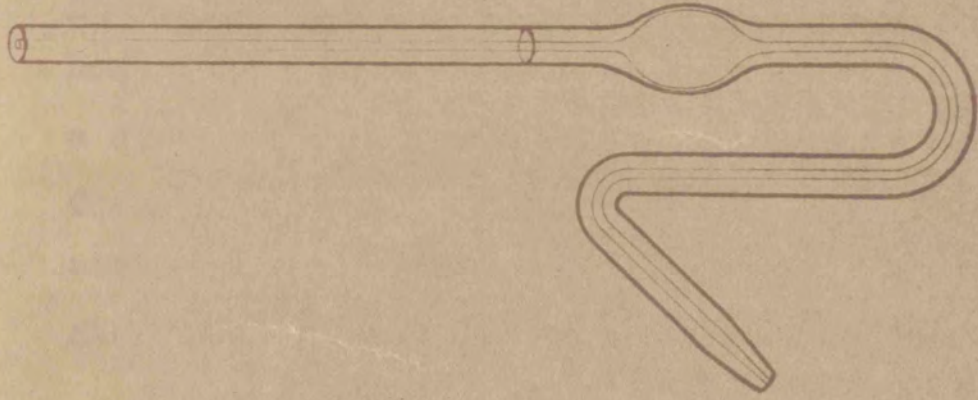
TECNICA DE UNA DETERMINACION

De los distintos procedimientos que existen para determinar el peso

específico: procedimientos que se pueden dividir en estos grupos.

- a) De las balanzas hidrostáticas
- b) Aerométrico
- c) De la gota
- d) De las mezclas
- e) Pícnómetros

Hemos utilizado este último y para no requerir gran cantidad de suero, hemos utilizado el micropícnómetro de MORENO MARTIN cuya capacidad es aproximadamente de un c. c. con una forma especial como se puede apreciar en la figura (130). No es que exista solamente este tipo, hay otros como el del SPRENGEL, que consiste en un tubo en U, cuyas ramas terminan en tubos más estrechos doblados perpendicularmente, uno corto y de diámetro capilar, y el otro más ancho. También se puede utilizar el de GIRAL (131) que tiene una capacidad de 0,2 c.c.: ahora bien, utilizando estas medidas tan pequeñas, las cifras que resultan no pueden ser muy exactas.



PICNOMETRO
de Moreno Martín

Nuestro trabajo se ha efectuado como decimos con el picnómetro de MORENO MARTIN, que está confeccionado soplando una pequeña ampolla capilar, de un diámetro de 0,5 mm. que después es doblada según indica la figura. Una rama está estirada en punta afilada y la otra lleva la ampolla, por encima de la cual está la señal de enrase. Su capacidad hasta esta señal y a 20° c. debe ser la de un gramo de agua destilada a esta temperatura. El enrase es determinado varias veces con agua, calculando el error de que va afectando la pesada. Cuando el enrase haya sido un mm. por encima o por debajo de la señal, este es de 0,2 miligramos aproximadamente.

El aparato es de gran precisión ya que asegura la tercera cifra decimal. Lo más delicado en el manejo del picnómetro es conseguir un enrase exacto para lograr el cual se ha ideado incluso soluciones que no requirieron los diversos artificios de aspiración. OLIVA y GONZALEZ NUÑEZ (132) resolvieron la cuestión sustituyendo el único enrase por una

serie de ellos. El picnómetro de MORENO MARTIN no necesita aspiración para engrasarse.

La marcha a seguir es:

1ª La obtención del suero. Se extrae sangre por punción venosa, en condiciones basales, evitando la ectasia de la misma .

2ª -Llenado del picnómetro.-Se deposita el suero en una capsulita de porcelana, se deja a la temperatura ambiente y se comprueba la temperatura del mismo (los cálculos se efectúan sobre la cifra de 20° C; si no se consigue esta, se efectuará luego la corrección del valor obtenido, para referirlo a esta temperatura). Estando el picnómetro bien limpio y seco, se introduce en ella el picô del mismo. El suero asciende un poco por capilaridad, e inclinándolo convenientemente puede lograrse que el suero salve la curva (si no se lograra, hagase un poco de aspiración), y descienda por la otra rana,, sifonando hasta llenar la ampolla y alcanzar el engrase. No es conveniente sobrepasar este, pues quedaría mojado el capilar por encima del trazo, dando una pesada errónea

y con este fin se dejará llenar estando con la inclinación adecuada dentro de su plano, para que el suero no alcance la señal y se quede cerca de ella. Pasados quince segundos terminese de enrasar sin mas que variar la postura del picnómetro.

Así es muy fácil esta manipulación y no hay riesgo de pasarse.

Tápese con el dedo la rama recta como si fuera una pipeta; se limpia su punta con un paño e inclínese del lado de la ampolla para que al darla unos golpecitos, estando sus dos extremos abiertos, el suero ascienda y sobrepase el enrásese abandonando la punta; así evita que salga suero por la misma. No queda sino pasarlo a la caja de la balanza, esperar unos minutos, y

3º -Pesarlo (repetir la pesada tres veces y obtener la media).

4º -Pesarlo lleno de agua destilada a 20º C.

5º -Pesarlo vacío, una vez limpio y seco, como mas abajo se indica.

Deduciendo de ambos valores el peso del picnómetro seco, se tiene directamente el peso específico del suero, si aquél tenía el volumen

exacto de un c.c.

La operación abrevia mucho si se pone una tara igual al peso del picnómetro más un gramo, pues no se manejarán más que los centigramos y el reiter.

Si el soplador de vidrio no ha tenido la paciencia de soplar varias ampollas en varilla capilar hasta lograr una capacidad de 1 c.c. (que a veces lo consiguen), bastará marcar un enrasc en el sitio donde ascienda el agua destilada, manteniendo vertical el picnómetro; saber el peso del agua que lo afora a 20° C., y emplear ese número en toda determinación como divisor del peso del suero de igual volumen.

No es necesario cada vez hacer una determinación del peso del picnómetro vacío y lleno de agua; estos valores nos valen para todas las veces; es conveniente de vez en cuando comprobarlos.

La pesada sólo lleva escasos minutos para cada determinación.

La corrección de la temperatura se efectúa restando 0,0001 por cada 2° sobre 20° C, y añadiendo 0,0001 por cada 2° bajo 20° C.

6ª Limpieza del pignómetro.- Siendo condición previa para hacer una determinación que esté limpio y seco, se le debe dejar dispuesto de una vez para otra.

Inmediatamente después de pesado, se vierte sobre la capsulita que contiene el resto de la muestra, pudiéndose utilizar para otros fines. Si se dispone de una trompa de aspiración, la limpieza está terminada en cinco minutos. Enclavándose a ella el pignómetro por su rama recta se le dan dos o tres lavados con agua, luego con amoníaco (puro al 50 por ciento), otros dos tres con alcohol y, finalmente, con éter, dejándole después un rato para que la corriente de aire lo seque.

En algún caso puede ocurrir que los lavados con agua no lo dejen completamente limpio, y entonces se recurrirá a llenarlo de sosa al 30 por 100 o mezcla crónica, lavándolo y secándolo después como queda dicho.

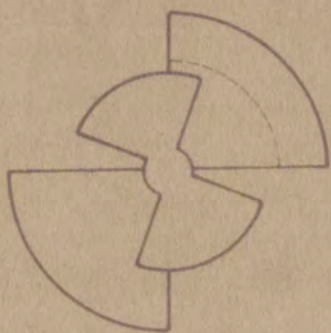
La otra parte de nuestro trabajo ha consistido en hallar la placa espectrográfica para después poder interpretar esta adecuadamente.

Hemos utilizado el gran espectrografo ZEISS cuyo manejo y técnicas de obtener los espectrogramas fué la siguiente.

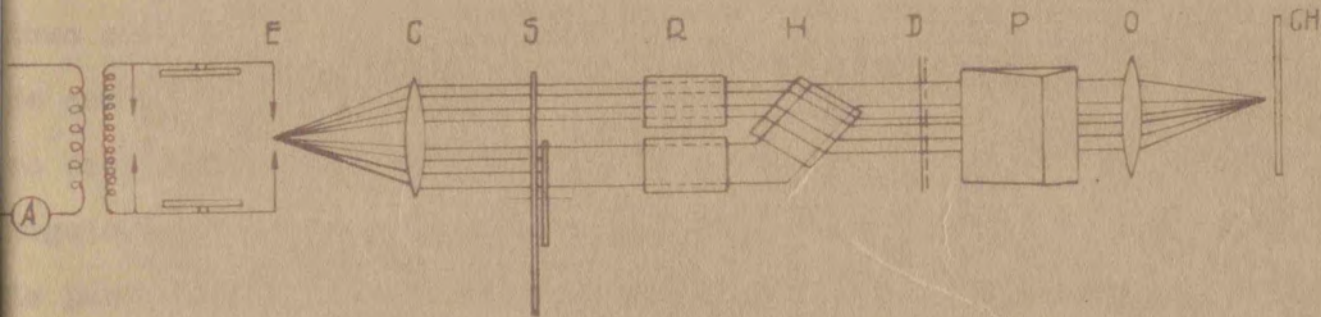
El suero obtenido con todas precauciones, luego de una centrifugación de la sangre, suero limpio y trasparente sin que existan ni restos de hemólisis, fué diluido al 3% en una solución de suero fisiológico.

Se comienza por comprobar el perfecto ajuste del foco luminoso, lente condensadora y prisma se Hübner. La rendija se regulara colocando el tambor mediante el cual se mide y cambia su abertura en la división 3 o 4, lo cual corresponde a una anchura de 3 o 4 centésimas de milimetro.

Como lo que queremos es obtener la curva de extinción del suero sanguíneo en la zona ultravioleta y la absorción de dicho suero en esa zona es tan intensa, solo en las cubetas mas pequeñas se obtendrían resultados utilizables y precisamente por esto es por lo que lo diluimos.



*Sector giratorio
de Judd Lewis*



Gran espectrógrafo de Zeiss

51

Se carga lá placa en el chasis con todas las precauciones: claro está, para que esta no se vele, se coloca el chasis en el sitio que le corresponde en el espectrógrafo, se hace girar un tornillo que tiene para desplazarlo verticalmente, hasta que quede en la división 0 de la escala correspondiente. Se destapa el chasis y se impresiona la escala de las longitudes de onda. Se aparta la escala y sin mover el chasis de su posición, se impresiona un espectro del foco luminoso, sin poner cubetas ni sector.

Se corre el chasis a la división 1, se llena la cubeta mayor con la solución de suero y se coloca en su sitio.

Como cubeta de compensación se puede utilizar cualquiera y no hay necesidad de cambiarla durante todo el trabajo, puesto que el disolvente es el agua que no presenta absorción en la zona que vamos a estudiar.

Regulamos la abertura del sector al 30 por 100 y se le coloca en su sitio, se le pone en movimiento y se impresiona un espectrograma.

A continuación se cambia la cubeta con la dilución de suero por la cubeta siguiente, se corre el chasis a la división 2 y se obtiene un nuevo espectrograma de este modo se continúa cambiando cada cubeta por la que le sigue y obtenien-

Obteniendo un espectrograma con cada una de ellas, y para determinar se vuelve a obtener un espectrograma del foco luminoso, sin cubeta ni sector, y después se vuelve a copiar la escala de longitudes de onda. Se pone la tapa al chasis, se retira del espectógrafo y se le lleva a la cámara oscura, donde se revela, fija y lava la placa, dejándola secar en sitio no caluroso.

Los espectros del foco luminoso sin cubeta con que se comienza y termina la placa, tiene por objeto ^{ver} si el aparato está bien ajustado antes y después del trabajo, lo que se reconocera en que las dos mitades en que está dividido el espectrograma por una línea horizontal son igualmente intensas.

Si una de las mitades fuera más intensa que la otra, el aparato está mal ajustado y la placa no tiene valor.

El estudio de la placa puede hacerse mediante un proyector de espectros, un microscopio comparador, una lupa o a simple vista. El trabajo que hay que hacer se reduce a buscar en cada pareja de espectrogramas las líneas

que en uno y otro presenta igual ennegrecimiento de tal modo, que no pueda distinguirse separación entre ellas y se la observe en perfecta continuidad .

Se lee la escala de longitud de onda cual es la que corresponde a esas líneas y se anota junto al espesor de cubeta con que se obtuvo el correspondiente espectrograma. Se puede calcular mediante la fórmula de LAMBERT, así se puede formar una tabla en la que figuran los valores el coeficiente para longitudes de onda en que se ha encontrado igualdad de ennegrecimiento.

C=A P I T U L O I V

P R O T O C O L O Y D A T O S E S T A D I S T I C O S

NORMALES

| N° | Densidad a 15° | Proteínas % | Σ . | Σ . suero | Σ . proteínas | Nombre |
|-------|-------------------|----------------|------------|------------------|----------------------|--------|
| 1 | 1,0295 | 7,72 | 1,80 | 61,15 | 7,92 | J.O. |
| 2 | 1,0283 | 7,30 | 1,65 | 54,45 | 7,46 | Z.R. |
| 3 | 1,0280 | 7,20 | 1,80 | 61,15 | 8,49 | P.A. |
| 4 | 1,0300 | 7,90 | 2,07 | 69,30 | 8,77 | A.M. |
| 5 | 1,0289 | 7,50 | 2,07 | 69,30 | 9,25 | E.S. |
| 6 | 1,0282 | 7,26 | 1,65 | 54,45 | 7,50 | E.S. |
| 7 | 1,0306 | 8,10 | 2,07 | 69,30 | 8,54 | C.G. |
| 8 | 1,0305 | 8,07 | 1,69 | 56,50 | 7,04 | E.L. |
| 9 | 1,0302 | 7,96 | 2,06 | 68,80 | 8,64 | L.M. |
| 10 | 1,0273 | 6,95 | 1,62 | 54,20 | 7,79 | J.F. |
| 11 | 1,0287 | 7,44 | 1,84 | 61,30 | 8,23 | F.P. |
| 12 | 1,0287 | 7,44 | 1,62 | 54,20 | 7,28 | F.G. |
| 13 | 1,0315 | 8,41 | 1,84 | 61,30 | 7,28 | A.I. |
| 14 | 1,0239 | 5,77 | 1,30 | 43,50 | 7,53 | P.T. |
| 15 | 1,0282 | 7,27 | 1,66 | 55,30 | 7,60 | E.P. |
| 16 | 1,0287 | 7,44 | 2,07 | 69,00 | 9,27 | J.E. |
| MEDIA | 1,0288 | 7,47 | 1,80 | 60,20 | 8,03 | |

3 DATOS ESTADÍSTICOS DEL PROTEÍNAS

NORMALES

| | | |
|------------|---|-------|
| M1 | = | 8.03 |
| M2 | = | 65.07 |
| D1 | = | 0.615 |
| σ | = | 0.768 |
| Ka1 | = | 0.917 |
| K σ | = | 0.920 |

Variaciones

| | | |
|-------------------|---|-------|
| 8.03 + 3 σ | = | 10.30 |
| 8.03 - 3 σ | = | 5.73 |

APENDICITIS

| N° | Densidad a 15° | Proteínas % | Σ . | E. Nuevo | Σ . proteínas | Nombre |
|----|-------------------|----------------|------------|----------|----------------------|--------|
| 1 | 1,0276 | 7,06 | 1,66 | 55,30 | 7,83 | V.C. |
| 2 | 1,0257 | 6,40 | 1,66 | 55,33 | 8,64 | G.D. |
| 3 | 1,0219 | 5,07 | 1,66 | 55,33 | 10,91 | A.P. |
| 4 | 1,0300 | 7,89 | 2,60 | 86,66 | 10,97 | D.C. |
| 5 | 1,0271 | 6,88 | 1,66 | 55,33 | 8,04 | R.A. |
| 6 | 1,0247 | 6,05 | 1,66 | 55,33 | 9,14 | D.J. |
| 7 | 1,0216 | 4,96 | 2,60 | 86,60 | 17,46 | H.R. |
| 8 | 1,0230 | 5,46 | 2,60 | 86,60 | 15,75 | B.A. |
| 9 | 1,0280 | 7,20 | 1,96 | 65,50 | 9,10 | R.M. |
| 10 | 1,0258 | 6,43 | 1,60 | 55,30 | 8,30 | P.M. |
| 11 | 1,0267 | 6,74 | 1,27 | 42,30 | 6,27 | A.P. |
| 12 | 1,0240 | 5,80 | 2,20 | 75,60 | 12,70 | I.R. |
| | | | | | 10'42 | |

DATOS ESTADISTICOS DEL PROTEINAS
 APENDICITIS AGUDA

$$M1 = 10'42$$

$$M2 = 118'97$$

$$D1 = 2'53$$

$$\sigma = 3'22$$

$$Kd1 = 0'223$$

$$K\sigma = 0'220$$

- : Variaciones

++-----

$$10'42 + 3 \sigma = 20'08$$

$$10'42 - 3 \sigma = 0'76$$

CANCER DE ESTOMAGO

TABLA 111

| IP | Densidad a 15° | Proteínas % | Σ | Σ . Sueros | Σ . Prot. | Nombres |
|-------|----------------|-------------|----------|----------------------|---------------------|---------|
| 1 | 10212 | 4,83 | 2,95 | 99,70 | 20,30 | A.G. |
| 2 | 10215 | 4,93 | 2,38 | 79,45 | 16,10 | F.I. |
| 3 | 10186 | 3,93 | 1,84 | 61,35 | 15,60 | H.R. |
| 4 | 10235 | 5,65 | 3,70 | 103,10 | 18,30 | A.R. |
| 5 | 10209 | 4,70 | 2,60 | 86,55 | 18,43 | F.P. |
| 6 | 10253 | 6,26 | 2,32 | 77,30 | 12,30 | J.R. |
| 7 | 10272 | 6,92 | 2,39 | 79,58 | 11,50 | Q.P. |
| 8 | 10190 | 4,07 | 1,73 | 57,85 | 14,20 | R.P. |
| 9 | 10203 | 4,52 | 2,10 | 70,10 | 15,50 | B.S. |
| Media | 10219 | 5,09 | 2,44 | 79,45 | 15,81 | |

DATOS ESTADISTICOS DE Σ PROTEINAS
CANER DE ESTOMAGO

| | | |
|------------|---|--------|
| M1 | = | 15'81 |
| M2 | = | 250'04 |
| D1 | = | 2'20 |
| σ | = | 0'285 |
| Kd1 | = | 0'256 |
| K σ | = | 0'248 |

Variaciones

| | | | | | |
|-------|---|---|----------|---|-------|
| 15'81 | + | 3 | σ | = | 16'66 |
| 15'81 | - | 3 | σ | = | 14'96 |

| Nº | Densidad a 15 | Proteínas % | Σ | Σ Suero | Σ Proteínas | Nombres |
|-------|------------------|----------------|----------|-------------------|-----------------------|---------|
| 1 | 1,0276 | 7,06 | 2,60 | 86,60 | 12,20 | P.T. |
| 2 | 1,0268 | 6,78 | 3,28 | 109,30 | 16,12 | C.H. |
| 3 | 1,0293 | 7,65 | 4,13 | 139,30 | 18,02 | M.S. |
| 4 | 1,0311 | 8,27 | 2,07 | 69,00 | 11,21 | F.L. |
| 5 | 1,0250 | 6,15 | 2,60 | 86,60 | 10,47 | T.U. |
| 6 | 1,0252 | 6,22 | 2,07 | 69,00 | 11,09 | G.I. |
| 7 | 1,0251 | 6,18 | 2,60 | 86,60 | 14,00 | N.K. |
| 8 | 1,0243 | 5,91 | 2,07 | 69,00 | 11,54 | B.G. |
| 9 | 1,0242 | 5,87 | 1,30 | 43,50 | 7,41 | H.J. |
| 10 | 1,0197 | 4,31 | 2,07 | 69,00 | 16,00 | K.F. |
| 11 | 1,0285 | 7,37 | 2,07 | 69,00 | 9,36 | V.Y. |
| 12 | 1,0216 | 7,96 | 2,60 | 86,66 | 17,47 | D.H. |
| 13 | 1,0295 | 7,71 | 2,60 | 86,60 | 11,23 | C.G. |
| 14 | 1,0271 | 6,88 | 5,30 | 170,60 | 25,67 | F.T. |
| 15 | 1,0243 | 5,91 | 1,67 | 55,33 | 9,36 | T.J. |
| 16 | 1,0269 | 6,81 | 5,30 | 176,50 | 25,93 | G.N. |
| 17 | 1,0270 | 6,85 | 4,13 | 137,60 | 20,09 | E.A. |
| 18 | 1,0256 | 6,39 | 2,33 | 77,66 | 12,15 | C.S. |
| Media | 1,0260 | 6,73 | 2,82 | 93,77 | 14,40 | |

DATOS ESTADISTICOS DE Σ DE PROTEINAS

OSTEOMIELITIS

| | | |
|--------------|-------|-------|
| M_1 | | 14'40 |
| M_2 | | 234'4 |
| d_1 | | 4'16 |
| σ | | 5'2 |
| K_{d_1} | | 0'135 |
| K_{σ} | | 0'136 |

Variaciones

$$14'40 + 3 \sigma \approx 30'00$$

$$14'40 - 3 \sigma = - 0'2$$

QUIMADURAS

EXTENSAS

| N | Des. a 1 ^a | Prot | Σ | Σ .s. | Σ .p. | Nombres |
|-------|-----------------------|------|----------|--------------|--------------|---------|
| 1 | 10226 | 5'30 | 2'81 | 93'80 | 17'70 | A. I. |
| 2 | 10165 | 3'20 | 2'44 | 81'40 | 25'40 | C. J. |
| 3 | 10203 | 4'50 | 2'64 | 88'15 | 19'60 | L.P. |
| 4 | 10224 | 5'25 | 3'22 | 107'50 | 20'50 | R. D. |
| 5 | 10208 | 4'70 | 2'77 | 92'50 | 19'67 | A. L. |
| Media | 10205 | 4'59 | 2'77 | 92'67 | 20'57 | |

DATOS ESTADÍSTICOS DE Σ PROTEINAS
QUEMADURAS EXTENSAS

| | | |
|------------|---|--------|
| M1 | = | 20`57 |
| M2 | = | 429`23 |
| D1 | = | 1`93 |
| σ | = | 2`47 |
| Kd1 | = | 0`292 |
| K σ | = | 0`286 |

Variaciones

| | | | | | |
|-------|---|---|----------|---|-------|
| 20`57 | + | 3 | σ | = | 27`98 |
| 20`57 | - | 3 | σ | = | 13`16 |

71

INYECCIONES SUPERADAS

| IP | Densidad a 15° | Proteinas | Σ | Σ Sueros | Σ Proteinas | Nombres |
|-------|----------------|-----------|----------|--------------------|-----------------------|---------|
| 1 | 1,0274 | 6,99 | 2,07 | 69,00 | 9,87 | W.D. |
| 2 | 1,0212 | 4,38 | 1,04 | 34,60 | 7,89 | G.O. |
| 3 | 1,0214 | 4,91 | 1,30 | 43,50 | 3,86 | F.C. |
| 4 | 1,0275 | 7,05 | 1,65 | 45,30 | 7,86 | L.G. |
| 5 | 1,0281 | 7,82 | 1,86 | 61,00 | 8,97 | S.T. |
| Media | 1,0251 | 6,11 | 1,58 | 50,68 | 8,61 | |

DATOS ESTADISTICOS DE Σ PROTEINAS
 INYECCIONES SUPURADAS

| | | | | | |
|------------|---|-------|--|--|--|
| M1 | = | 8`61 | | | |
| M2 | = | 74`74 | | | |
| DD | = | 0`424 | | | |
| σ | = | 0`787 | | | |
| Kd1 | = | 1`32 | | | |
| K σ | = | 0`898 | | | |

Variaciones

$$\begin{array}{rcl}
 861 & + & 3 \sigma = 10`97 \\
 8`61 & - & 3 \sigma = 6`25
 \end{array}$$

H E R N I A S

| N | Densiad | Prot % | Σ | Σ_s | Prot Σ |
|-------|---------|--------|----------|------------|---------------|
| 1 | 10290 | 7.54 | 2.07 | 69.0 | 9.15 |
| 2 | 10234 | 5.60 | 2.33 | 77.6 | 13.85 |
| 3 | 10239 | 5.77 | 1.306 | 43.6 | 7.53 |
| Media | 10254 | 6.30 | 1.902 | 63.40 | 10.17 |

ABCESOS Y FLEMONES

| N° | Diagnostico | Densidad a 15° | Proteinas % | Σ | $\Sigma . s .$ | $\Sigma p .$ |
|----|------------------|-------------------|----------------|----------|----------------|--------------|
| 1 | Abceso r. glutea | 1,0510 | 8,41 | 1,04 | 34,60 | 4,11 |
| 2 | Mastitis | 1,0283 | 7,30 | 2,07 | 69,00 | 9,45 |
| 3 | Ab. isquiorrecti | 1,0281 | 7,23 | 2,60 | 86,60 | 11,97 |
| 4 | Ab. R. glutea | 1,0218 | 5,04 | 3,28 | 109,30 | 21,68 |
| 5 | Mastitis | 1,0276 | 7,06 | 2,60 | 86,60 | 12,20 |
| 6 | Ab. de muslo | 1,0281 | 7,23 | 2,60 | 86,60 | 11,97 |
| 7 | Flemon de mano | 1,0281 | 7,23 | 3,28 | 109,30 | 15,11 |
| 8 | Flemon fusco | 1,0234 | 5,60 | 1,65 | 55,30 | 9,87 |
| 9 | Flemon de mano | 1,0279 | 7,16 | 2,60 | 86,60 | 12,10 |
| 10 | Fle. suelo boca | 1,0296 | 7,75 | 1,04 | 34,66 | 4,47 |

V A R I O S

| Nº | Diagnostico | Densidad a 15° | Proteinas | Σ | Σ.s. | Σ.prot. |
|----|------------------|-------------------|-----------|-------|--------|---------|
| 1 | Empiema | 1,0277 | 7,10 | 2,07 | 69,30 | 9,82 |
| 2 | Gangrena humeda | 1,0233 | 5,56 | 2,07 | 69,00 | 12,41 |
| 3 | Endocarditis | 1,0287 | 7,44 | 3,28 | 109,30 | 14,69 |
| 4 | Abceso de pulmon | 1,0285 | 7,37 | 4,13 | 137,60 | 18,67 |
| 5 | Abceso de higado | 1,0257 | 6,40 | 3,28 | 109,30 | 17,07 |
| 6 | Abceso de higado | 1,0296 | 7,75 | 1,30 | 43,50 | 15,61 |
| 7 | Ezona | 1,0282 | 5,87 | 1,30 | 43,50 | 11,50 |
| 8 | Forunculosis | 1,0296 | 7,75 | 14,81 | 49,86 | 6,36 |
| 9 | Mal de Pott | 1,0271 | 5,88 | 2,07 | 69,00 | 10,02 |
| 10 | Sifilis | 1,0244 | 5,95 | 1,30 | 43,50 | 7,53 |

AFECIONES QUIRURGICAS DE TIPO TUBERCULOSO

| | P.especifico. | Prot.% | Σ | $\Sigma.s$ | $\Sigma.pr.$ |
|---------------|---------------|-----------|-----------|------------|--------------|
| T. osea..... | 10268..... | 6'67..... | 2'93..... | 97'71..... | 14'65 |
| Pleuresia... | 10243..... | 5'91..... | 2'60..... | 86'60..... | 14'58 |
| Pleuresia... | 10259..... | 2'60..... | 2, 60... | 86'89..... | 13'43 |
| T.osea..... | 10250..... | 6'15..... | 1'66..... | 55'33..... | 8'99 |
| T. osea..... | 10270..... | 6'85..... | 1'78..... | 59'30..... | 8'65 |
| Pleuresia.... | 10223..... | 5'21..... | 2'80..... | 93'30..... | 17'54 |

ENFERMOS ANTES DE LA OPERACION Y DESPUES DE INTERVENIDOS

| Num. | Afeccion. | Tipo de op. | P.espef. por % | Proteinas | Σ . | Σ .s. | Σ .p. |
|------|------------------|------------------------|-------------------|------------|------------|--------------|--------------|
| 1. | Cancer de mama. | Amputacion de la mama. | a..10267 | ...6'74... | 1'66.. | 55'33.. | 8'20 |
| | | | d..10254 | ...6'29... | 2'07.. | 69'00.. | 10'96 |
| 2. | Ulcus gastrico | Reseccion de estomago. | a..10280 | ...7'23... | 1'36.. | 45'32.. | 6'26 |
| | | | d..10231 | ...5'50... | 1'75.. | 58'25.. | 10'59 |
| 3. | Hidronefrosis. | Nefrectomia. | a..10296 | ...7'75... | 1'48.. | 49'36.. | 6'36 |
| | | | d..10216 | ...4'96... | 1'86.. | 62'00.. | 12'50 |
| 4. | Apendicitis. | Apendicectomia. | a..10255 | ...6'33... | 1'66.. | 55'30.. | 8'73 |
| | | | d..10245 | ...5'97... | 1'75.. | 58'43.. | 9'87 |
| 5. | Cancer gastrico. | Reseccion de estomago. | a..10190 | ...4'07... | 2'29.. | 79'55.. | 19'54 |
| | | | d..10160 | ...3'04... | 2'84.. | 86'41.. | 28'44 |

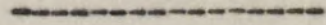
- 6. Cancer de mama. Amputacion de la mama. a..10255..6°33..1°95..65°20..10°30
d..10266..5°31..2°44..81°33..15°32

- 7. Ulcus gastrico. Reseccion de estomago. a..10273..6°95..1°55..51°60...7°42
d..10222..5°20..1°73..57°75..11°10

- 8. Cancer de mama. Amputacion de la mama. a..10225..5°27..1°80..60°20..11°42
d..10197..4°32..2°39..79°55..18°45

- 9. Hernia Cura radical. a..10296..7°75..1°45..48°20...6°21
d..10251..6°20..1°79..59°60...9°61

- 10. Hernia. Cura radical. a..10299..7°85..1°50..50°10...6°38
d..10258..6°40..1°72..57°25...8°94



INTERPRETACION DE LOS DATOS ESTADISTICOS.

M_1 :Media de los valores

M_2 :Media de los cuadrados

D_1:Valor medio de las diferencias

σ: $\sqrt{M_2 - M_1^2}$

K_{d_1} : $\frac{0.5642 (C)}{D_1}$

K_j: $\frac{0.707 (C_1)}{D_1}$

CAPITULO V

RESULTADOS OBTENIDOS
E
INTERPRETACION

Nuestro trabajo, ha consistido, como se puede apreciar por los protocolos, en determinar el porcentaje de proteínas séricas a partir del peso específico del suero sanguíneo y hemos utilizado este procedimiento por que lo consideramos el más rápido y lo suficientemente exacto, así como también hemos estudiado la cualidad de las mismas por medio del espectro proteínico sérico.

Encabezan nuestros protocolos, como es norma en todo trabajo de investigación, una serie de sujetos supuestos normales, habiendo elegido individuos que viven en iguales circunstancias biológicas y sociales que los enfermos por nosotros explorados; igualmente hacemos constar ^{que} que extracciones se efectuaron en idénticas condiciones, se buscó aproximadamente igual edad de los sujetos dentro de lo posible, fueron iguales las técnicas empleadas así como los aparatos y el ejecutor de las mismas.

Hemos seleccionado de nuestra causística que pertenece toda ella

a enfermos intervenidos por nosotros del Hospital Provincial de Madrid, en varios grupos; de acuerdo con su diagnóstico ~~de~~ firme y grado de afectación orgánica, para descubrir los cuales no hemos regateado ningún medio de exploración. Igualmente nos hemos ocupado en lo posible ^{que} cada caso estuviese libre de otras taras patológicas independiente de la enfermedad en la cual nos preocupaba investigar las proteínas cuali y cuantitativamente.

Por otro lado hemos determinado en grupos de pacientes intervenidos quirúrgicamente en los cuales se efectuaron determinaciones de la proteinemia consecutiva en el tiempo, y como más tarde comentaremos extensamente se practicaron desificaciones antes de la operación, inmediatamente después y en diferentes lapsos de tiempo con objeto de estudiar la hipoproteinemia post operatoria, observando su curso y recuperación.

Como consignamos las extracciones de sangre se efectuaron en

condiciones basales ya que BOHME (42) encontró que el peso específico aumenta con el ejercicio y disminuye con el reposo.

Es preciso asimismo para poder interpretar los resultados no olvidar que normalmente y dentro del mayor fisiologismo, el peso específico del suero experimenta alguna variación: se ha demostrado por FARKAS (42) BOYLE (43) y otros autores diferencias en el sueño o en la vigilia, después de las comidas, tras de duchas o baños fríos, VEIL (44) consecutivas a la narcosis HAINET (45).

La cifra media obtenida por nosotros para el porcentaje de proteínas a partir del peso específico del suero es de 1,0288, con una media de proteínas deducidas de este peso específico de 7,47 con un sigma de 0.068 lo que da como valores extremos el de 10'30 y el de 5'73 cifra muy semejante a la obtenida por otros autores. AZNAR (46) ~~da~~ obtiene una cifra de 1,0308 que corresponden a 8,17 de proteína.

STARLING (47) ~~da~~ da una cifra de 1,0230 a la que corresponden 5,46 de proteínas. STRASER (48) da la cifra del peso específico de

1,0320 a la que corresponden 8,59 de proteínas.

La cifra obtenida por nosotros del exilona de proteínas por medio del estudio espectrográfico del mismo es la de 8,02 que comparada con la que dan ENRIQUEZ DE SALAMANCA, POGIO y AZNAR (49) que es de 7,56 difieren con la nuestra en 0,46 y con la de FUCHS, KAUFNITZ y LERCH (50) los cuales en su trabajo dan como máximo tope de la normalidad la cifra de 10 y en todos los hepáticos a los cuales se refieren casi por completo en su trabajo encuentran valores superiores.

Por nuestro estudio vemos que en la serie de normales que nuestras cifras son las de 1,0288 para el peso específico como media y 7,47 de proteínas también como media con una desviación máxima de 8,41 y mínima de 5,77 y a estas cifras será a las cuales nos referiremos en nuestro trabajo al hablar de la normalidad y es que como decimos son cifras obtenidas por nosotros utilizando los mismos medios que en el resto del trabajo.

Realmente estos estudios son escasos en la literatura, que no-

nosotros sepamos no existen más que dos, los hechos por FUCHS, KAUTNITZ Y LERCH (50) en hepáticos y los de nuestra Escuela, ENRIQUEZ DE SALAMANCA, FOGIO Y AZNAR (49) en tuberculosos.

Nosotros hemos investigado en 18 sujetos afectados de cuadros más o menos extensos de osteomielitis y cuyo diagnóstico era seguro confirmado por el estudio radiográfico hematológico, etc., y hallamos estas cifras. La media del peso específico es la de 1,0260 que corresponde a un contenido total de proteínas de 6,73 gramos por ciento y éxilon proteínas de 14,40 con un éxilon de suero de 93,77.

Cotejando estas cifras con las asignadas por nosotros a la normalidad hallamos las diferencias que conjuntamente exponemos en el adjunto cuadro.

COMPARACION DE VALORES ENTRE NORMALES Y OSTEOMIELITIS

| | Normales | osteomieliticos |
|----------------------|------------|-----------------|
| Peso especifico..... | 10288..... | 10260 |
| Proteinas %..... | 7'47 | 6'73 |
| 6 | 1'80 | 2'82 |
| suero..... | 60'20..... | 93'77 |
| proteinas..... | 8'03 | 14'40 |

No hay duda que en las supuraciones crónicas se da toda una serie de factores que favorecen la hipoproteïnemia e incluso la modificación cuantitativa de los componentes séricos sanguíneos, por un lado la toxicidad general y la sideración de los órganos hematopoyéticos, proteínicos y citológicos sanguíneos, y por otra parte por que en la infección crónica, la inmunidad se concentra y gravita sobre la formación de anticuerpos específicos, que son los que han de sostener la lucha con los agentes microbianos, lo cual conduce a un agotamiento del sistema proteocrásico-sanguíneo, que junto con los factores tóxicos generales de la intoxicación crónica conducen a la hipoproteïnemia y por ende a la disminución del peso específico del suero ya que como es lógico ambos van paralelos.

La cifra del óxilon referido a proteínas ~~es~~ como hemos indicado también se aparta de la normalidad y así vemos que de 8,02 cifra que damos en los normales, se eleva a 14,40, quedando pues plenamente dentro de la zona patológica.

Tambien hemos investigado el ~~exilio~~ del suero que logicamente habia de apartarse de la normalidad, y en efecto, de 60,20 cifra que damos normal encontramos en estos enfermos la de 93,77. Creemos que somos los primeros que hacen ~~estas~~ investigaciones de esta clase en estos enfermos.

Ello nos indica que junto al factor cuantitativo de la hipoprotei-
nemia existen una alteración intima de la estructura proteica, alte-
ración tanto más marcada cuanto mayor es el coeficiente de absorción.

Todos nuestros casos que coincidían con un índice alto de este,
eran enfermos crónicos y con mal estado general y bien patente de lo
que decimos son las dos radiografías que se acompañan en las que ve-
mos que el enfermo a la cual pertenece la radiografía número 1, es
el enfermo marcada con el número 14 de la tabla de osteomielitis de
nuestros protocolos, enfermo muy afectado en todos sus sentidos. Por
el contrario, la radiografía número 2 pertenece al enfermo número 9
en el cual solamente existía una osteomielitis pequeña y que afectaba



RADIOGRAFIA n° 1

90



RADIOGRAFIA n° 2

poco al estado general, era lo que llamamos abceso de BRODIG.

Como podemos apreciar el éxilon de proteínas es alto, lo cual lo interpretamos pensando que desde luego hay una disminución de proteínas, las proteínas se pierden, pero los aminoácidos persisten y abundan y por esto creemos que el coeficiente de extinción referido a proteínas es alto.

La disproteinemia pues, la podemos interpretar en un doble sentido; de una parte, que la continua expoliación de sustancias proteicas por la supuración provoca el agotamiento de las reservas orgánicas existentes. Ya que según WHIPPLE existen tres tipos de reservas tisulares.

1.-La reserva proteínica labil, que es prontamente novilizada y aprovechada para la regeneración seroproteínica capaz de producir en 24 horas unos 1.500 cms. cúbicos de plasma con un contenido proteínico normal.

2.-La reserva proteínica dispensable, que puede ser utilizada

aunque menos rápidamente que la anterior.

3º.—La reserva proteínica fija o indispensable, que es la que no puede desprenderse de las células, fracción que no es utilizable para la formación de sero proteínas.

Como vemos en nuestros protocolos, hemos efectuado el estudio en 5 enfermos afectos de quemaduras extensas y por lo tanto graves.

Es desde luego en estos enfermos donde la hipoalbuminemia es más característica. DAVIDSON y MATTEW (55) vieron a veces escaso cambio de la albuminemia, más no hay que olvidar que en estos enfermos hay grandes pérdidas de agua y por ello un espesamiento de la sangre que puede enmascarar la hipoproteïnemia. WEINER (56) LUCIDO (57) etc.

Que los quemados pierden más que agua ya se sabía en el siglo pasado y así TAPPINER en 1.881 (58) decía "la concentración de la sangre en las quemaduras tiene lugar, no por la simple pérdida de agua, sino por la pérdida del líquido cuya composición arrastra a los cuerpos sólidos del plasma de la sangre".

En el cuadro de la página anterior vemos que existen unas ~~dife-~~ diferencias sensibles tanto en la cantidad como en la calidad de las proteínas expresada esta por el ~~óxido~~^{de} proteínas que se aparta desde 8,02 valor que hemos asignado a los normales hasta 14,40 que encontramos en las osteomielitis, así como también hallamos una notable diferencia en el ~~óxido~~ suero de 60,20 cifra que obtenemos en los normales, a 93,77 que hallamos en estos enfermos.

Dicho resultado coincide en todo, con la sospecha que teníamos al iniciar el trabajo de que existiría una profunda alteración cuantitativa-hipoproteinemia- y cualitativa-disproteinemia- de estos enfermos

Esta hipoproteinemia de los enfermos supurativos y febriles se debe de una parte a que pierden considerables cantidades de albúmina por la secreción purulenta de sus lesiones, la que como se comprende será tanto mayor, cuanto más intensa sea la lesión, unido esto a que el síndrome febril se acompaña de un aumento del metabolismo, junto con las alteraciones que se producen en el foco lesionado; alteraciones

comunes a toda inflamación, llamadas por SCHADE (51) incendio metabólico y que conducen a la producción de un discoloroidalismo en el sentido de dicho autor; únese a todo ello la anorexia existente en dicho enfermos infectados crónicos que conduce por otro camino a la hipoproteinemia. Ha demostrado DUESSEBER (52) y calculado que la secreción purulenta en un caso originaba una pérdida de albúmina de 157 gramos en 10 días, igualmente pudo apreciar en 65 heridos con lesiones de larga duración, lesiones de partes blandas o huesos, conduce siempre a una hipoproteinemia nunca inferior a la de 5 gramos por 100, cifra por debajo de la cual solo existen las hipoproteinemias de los enfermos con edemas de hambre, enfermos tan maravillosamente estudiados en nuestros días por JIMÉNEZ REAZ y su Escuela (53) y ENRIQUEZ DE SALAMANCA y la suya (54).

Como vemos en nuestros casos existía una disminución en el peso específico desde 1,0288 a 1,0260 cifras a las cuales corresponde unas proteínas de 7,47 y 6,73 respectivamente.

Hay una pérdida aguda de plasma como se puede apreciar por el estudio de la hemoconcentración. Esta hemoconcentración es el punto inicial del "círculo de la muerte" que constituye el shock secundario ^o EGUILGARAY (59).

CLARK y ROSSITER (60) han comunicado alteraciones en estos enfermos, debidas por un lado a la pérdida de proteínas por el exudado de superficie, pero también existían en el período de escara y de granulación. Esta pérdida de proteínas se incrementaba cuando coexistían infecciones cóccicas en la primera semana o infecciones mixtas cóccicas y bacilares. A ello se une la fiebre continuada y la supuración crónica que da lugar a una pérdida de proteínas tisulares y anemia. La pérdida de proteínas se ha calculado por estos autores en un 60% en los primeros 10 días, aunque si bien es cierto que no continúa como se comprende a esta velocidad; sino que va disminuyendo gradualmente; como consecuencia de esto se produce una hipoproteïnemia a

expensas principalmente de la fracción albuminoidea que tiende a descender, elevándose la fracción globulínica si coexisten la infección. KAGAN, TAYLOR (61) y sus colaboradores han comunicado los resultados obtenidos con una amplia causística de enfermos encontrando en un 50 % una marcada hipoproteïnemia, cuyo grado parece estar en relación con la gravedad del proceso. Nosotros estamos completamente de acuerdo con estos autores y nuestras investigaciones nos conducen a idénticos resultados.

No solamente la expoliación de proteínas es debida en estos sujetos a la simple pérdida de las mismas por las lesiones supurantes, sino que como se ha demostrado aun simplemente en los mismos fracturados, existe un marcado aumento en la actividad metabólica producido por la pérdida de nitrógeno, azufre, fósforo y potasio, junto a estas pérdidas y en los sujetos con hipertermia, existe un aumento en el consumo de oxígeno y una creatinuria manifiesta.

Parece ser que la atrofia por desuso no puede explicar completamente estas alteraciones ya que tambien se observa en zonas distantes de las lesiones. CUMBERTSON (62). CUMBERTSON, MC GERR y ROBERTSON, (63) explicandose esto por una acción refleja como han demostrado los mencionados autores en 1.939.

Se ha demostrado en el hombre que el máximo de este catabolismo traumático se alcanza al final de la primera semana, para ir declinando lentamente aunque si bien un balance negativo de nitrógeno puede persistir durante varias semanas.

Estas investigaciones han tenido honda repercusión en los autores norteamericanos ALBRICHT Y BROWNE (63) han confirmado muchos de estos hallazgos en las conferencias dadas por estos autores en la MACY FOUNDATION durante 1942 a 1943.

Para explicar este periodo de actividad metabólica, los autores, basandose en la indudable influencia que ejercen ciertas glándulas de secreción interna sobre la cicatrización de las heridas (glándula pituitaria,

ria anterior por CUTHBERTSON (64) SHAW y YOUNG (65), glándula tiroides por BARGJAX. CUTHBERTSON e IBAGS (66),) admiten la teoría de que la corteza adrenal produce una hormona, hormona "N" anabólica del nitrógeno o de las proteínas y una hormona "S" antianabólica o del azúcar. Estas hormonas se hallan normalmente equilibradas, pero luego de producirse un traumatismo existen una fase inicial que dura de 24 a 48 horas en las cuales hay un aumento tanto de la hormona "N" como de la "S", seguida de otra fase que dura días, semanas o meses, en las que disminuye la excreción de la hormona "N" y aumenta la de la "S". Más con el transcurso del tiempo si el organismo sobrevive las dos hormonas se equilibran y por último, puede haber una fase compensadora en que aumenta la producción de la hormona "N" a expensas de la "S". La testosterona parece desempeñar según las últimas investigaciones el papel de la hormona "N".

Avanzando más en estas teorías se ha llegado a decir que el catabolismo traumático aumentado comprendía la liberación de algunos aminoácidos.

cidos clave esencial para la reparación y oxidación de los demás con fines de producción de energía. Una observación interesante en el metabolismo nitrogenado de los enfermos supurados ~~son~~ las de CLAYN Y ROSSITER (67) y LYONS (68) que tratan a esos enfermos con penicilina y observan que puede ser restablecido el balance positivo de nitrógeno.

Junto a este factor de catabolismo nitrogenado traumático existe otro exógeno condicionado por la anorexia padecida por estos enfermos que limitan extraordinariamente la ingestión de proteicos y por tanto no pueden almacenar las reservas de proteínas lábil procedente de esa fuente. Esto se ha demostrado por MUWRO y CUTBERTSON (69) que alimentaron con dieta libre a ratas fracturadas y vieron no se producen esas pérdidas. Parece ser que estas dependen de la carencia de aminoácidos necesarios al organismo por no poderlo sintetizar (metionina, cistina) o bien aun cuando los pueda sintetizar nos los ingiere en suficiente cantidad para efectuarlo. En evitación de todo esto y como una pequeña

disgregación diremos que se están intentando los efectos terapéuticos para su utilización experimental y clínica por SIMAN y WEIWER (70) de introducción intravenosa de hidrolizado ácido de caseína fortificado por triptófano y suplementado con metionina y cistina añadidas. También se han intentado la alimentación de hidrolizados de proteínas. MULLER (71) hace muy poco tiempo es el primero que utilizó la inyección intravenosa de proteínas hidrolizadas, demostrando todo el valor nutritivo de los aminoácidos que las integran, tan grande como cuando se ingieren por vía oral. Es proceder que ya se utiliza en la clínica en pacientes con obstrucción intestinal, obstrucción neoplásica del tubo digestivo, nefritis, etc, etc., y sobre todo en la hipoproteínea post operatoria. CLARK (72). Así mismo ha sido utilizada en las hemorragias graves, edemas de hambre en los cuales tan grave es la hipoproteínea y además en las quemaduras, siendo ya legión las clínicas americanas que la utilizan y pregonan sus buenos efectos. SIMAN (73) MULLER y LISCHER (74) MADDEN (75) etc. etc.

Vamos pues como sin extremar las consideraciones, nuestra interpretación es válida tanto para la hipoproteïnemia total como para la disproteinemia pues estas serian debidas a que en estos enfermos que pudieramos considerar como carenciales secundarios y que las proteínas de lo mismo se elaboran siguiendo caminos anabólicos desviados, sin la concurrencia de factores aminados ordinarios de la fisiología. HERRIQUETA DE SALAMANCA Y FERNANDEZ CRUZ (76).

Como podemos apreciar por nuestro protocolo hemos investigado en cinco enfermos afectados de quemaduras extensas las proteínas y los encontramos con una hipoproteïnemia muy baja y con un éxilon de proteínas y de suero altos cuyas cifras se pueden apreciar en los datos estadísticos. Esta hipoproteïnemia esta en razón directa con la gravedad de dichas quemaduras, cosa que ya habian demostrado TAYLOR (77) y que afirmamos nosotros.

Hace solamente poco tiempo, desde 1943 que se dispone de cifras so-

bre la pérdida de proteínas en el exudado de las quemaduras y que ha sido valorado por ROSSITER(78) GO FUL, (79), WRIGHT (80) BARGHAM y BREED (81) en 1944, han observado que la pérdida de nitrógeno en el exudado de una quemadura se producía a razón de 0,42 miligramos por cm. cuadrado en 24 horas y en otra quemadura cuya superficie se había dejado al descubierto por avulsión, las cifras llegaron a 2,26 mg de nitrógeno por cm. cúbico en las 24 horas. Dichos autores han calculado que para un sujeto de 70 Kgs y 1,70 cms. de estatura una quemadura que complique la mitad de la superficie del cuerpo equivaldría de 23,75 gramos de proteínas por cada 24 horas (400 cms. cúbicos de plasma o 114 gramos de carne magra) si la pérdida se produce a la velocidad observada en el primer caso, mientras que si tiene lugar a la misma que en el segundo, equivaldría a 124 gramos de proteína en 24 horas (200 cms. cúbicos de plasma o 600 gramos de carne). La pérdida continuada de plasma en forma de exudado, conduce a la oligoemia y esta puede producir el shock

Hemos determinado las proteínas séricas y demás estudios en doce enfermos afectados de apendicitis aguda en distintos grados de evolución de sus lesiones; su diagnóstico en todos los casos fué confirmado por la intervención quirúrgica. Se partió del peso específico del suero y como puede apreciarse en los protocolos fué tan diferentes el valor encontrado que no quisimos relacionarlos con datos estadísticos.

En general se encuentra una hipoproteïnemia mayor en los enfermos en los cuales la afección revestía mayor gravedad y así vemos que el enfermo número tres de nuestro cuadro afecto de un proceso peritoneal marcado las proteínas alcanzaban las cifras de 5,07, igualmente ocurría con el enfermo número 8. Y en general en los casos en que el diagnóstico fué precoz las proteínas no descendieron mucho, al contrario que en los enfermos cuya apéndice se encontraba perforado y por ello con una grave afectación del peritoneo.

Al mismo tiempo, se estudiaron los espectogramas séricos encontrando valores del coeficiente de absorción de proteínas que entraban

por completo en los límites asignados a la anomalía aunque no tan separado como en los enfermos del grupo anterior.

Interpretamos nuestra causística creyendo que hay una baja de proteínas pero no lo hay o es muy relativo el aumento de amidoideo por ello el éxilon de proteínas es casi normal.

Se ha demostrado por casi todos los autores que la apendicitis aguda es una afección que presenta una rápida hipoalbuminemia, que entra dentro de las llamadas formas subagudas de hipoproteïnemia por EGUIGARAY (82) .

Una explicación verosímil de esta rápida hipoalbuminemia de las apendicitis sería la de que aparte del aumento de la actividad metabólica en los sujetos infectados e hipertérmicos, sería también debida a un conflicto de espacio, es decir que no es que solo esté aumentada la pérdida de nitrógeno por los excretas, sino que gran parte de las proteínas de la sangre circulante y de la reser-

vas móvil son movilizadas, transportadas y acantonadas en el saco infla-
 matorio. En las flegmasias agudas apendiculares como en todos los proce-
 sos inflamatorios de tipo quirúrgico se produce un aumento "in situ" de la
 actividad metabólica que se ha llamado (inflamación traumática), por
 BYWATERS (83) en las lesiones por aplastamiento, que se caracteriza co-
 mo toda inflamación por hiperemia, exudación y emigración leucocitaria.
 En este periodo de autolisis y heterolisis por medio de los enzimas ti-
 sulares y leucocitarios se eliminan los restos de tejido. Junto a esto,
 en los procesos apendiculares se produce una reacción peritoneal que
 condiciona un desepitelizamiento o deslustramiento favorables al escape
 de líquido y por tanto de plasma.

Todos los cirujanos saben que ^{en} la gran mayoría de las apendicitis agu-
 das existen en el fondo del saco de Douglas exudado seroso, este es mayor,
 claro está, en aquellos casos en que hay plastrones y adherencias con
 fuerte reacción peritoneal, acompañada de edema e hiperemia de las asas

intestinales.

Se aprecia pues como según nuestra interpretación a pesar de la existencia de un balance negativo de nitrógeno en realidad lo que existe es una transposición de proteína en el interior del organismo.

Según vemos en nuestra causiática se aprecia una baja en las proteínas. Más creemos nosotros que no hay aumento relativo de aminoácidos y quizá esto explique que el éxilom de proteínas sea normal en todos ellos.

Hemos determinado las proteínas y los coeficientes de absorción en hernias y los valores son normales. Lo mismo se hizo en hernias estranguladas, interpretando las hipoproteinemias cuantitativas ya que la cualitativa no existe porque el coeficiente de absorción era prácticamente como en los normales, lo interpretamos decimos aduciendo que la pérdida de plasma en el asa estrangulada así como la

pérdida en la luz intestinal y en la cavidad abdominal condicionan esta hipoalbuminemia por una simple disminución de proteínas en la sangre circulante; confinadas en los mencionados sitios sin encontrarse aumento en la pérdida de nitrógeno.

Hemos determinado con las mismas técnicas las proteínas y los coeficientes de absorción en una serie de enfermos afectados de cáncer gástrico encontrando una hipoproteinemia como se puede apreciar en nuestros protocolos. En estos enfermos, en contra de DALLA ROSA (84) que halló hiperproteïnemia, casi todos los autores encuentran hipoalbuminosis y así los demuestran las afirmaciones de LOEPER y de TORMET (85), las de CALHER (86) y las de AZNAR (87) por nuestra escuela. Por su parte LOEPER y TORMET (88) afirman que en los casos en los que DALLA ROSA encontró hiperproteïnemia, se trataría de albúminas propias de los tumores, que alcanzarían el torrente circulatorio. Nuestras determinaciones van en contra de las de DALLA ROSA

y refuerzan las cifras encontradas por otros autores.

La hipoproteïnemia en el cãncer gãstrico es interpretada como consecuencia de varios factores, por un lado son enfermos que los podemos considerar afectos de una insuficiencia alimenticia crónica y global, generalmente estãn sometidos a dietas pobres en proteínas, por otro lado son individuos afectos de una grave anorexia, aparte del mayor consumo energético y mala asimilación de las proteínas, unido todo ello a la sideración de los 'organos proteocrásicos producida por los tóxicos propios de dichos procesos.

CODOUNIS (89) y GOSSET (90) han publicado recientemente una estadística en la cual confirman las aseveraciones mencionadas anteriormente.

Hemos investigado las proteínas en enfermos afectos de panadizos, en los cuales por ser escasa la afectación de su organismo no se refleja en las alteraciones de su euproteinemia, expresada tanto en la cifra ~~cuantitativa~~ como cuantitativa.

En posesión de las anteriores técnicas descritas hemos aplicado al estudio cronológicamente seriado, cuali y cuantitativo de las proteínas séricas en enfermos intervenidos quirúrgicamente por nosotros. En ellos se hizo la determinación pre y post operatoria de las proteínas en algunos casos hasta la normalización de sus valores.

Los resultados obtenidos se hallan en nuestros protocolos y luego concataremos.

En todos los trabajos antiguos se lee que después de las operaciones existe un constante aumento de los valores refractométricos, o sea un aumento de proteínas en sangre y una desviación de los coloides plasmáticos hacia la fase de dispersión escasa, por aumento de la fracción globulina y fibrinógeno (BOBBIO (91)). Mas ello no es cierto siempre, como se verá en nuestro cuadro de protocolo.

En las grandes intervenciones, instalado el shock, hay una disminución de las moléculas albuminoides (albúminas y fibrinógenos) y un *gran* incremento de aminoácidos y polipéptidos como ya demostraron

DONATI (92) LAMBERT (93) SIMON (94) LAMARE (95) y que en nuestro país ha sido estudiada muy recientemente por ESTEJEA (96).

Hay que tener presente al valorarla que no es absoluta sino relativa ya que también se pierde agua en la intervención quirúrgica como han demostrado los magníficos estudios hechos sobre el metabolismo del agua en los operados, en los que se demuestra que hay una notable disminución de la masa hídrica de la sangre. Por lo tanto la sangre se espesa. La disminución del agua se mantiene por un período de tiempo variable según el tipo de anestesia, estado general del operado, gravedad de la operación, etc. etc., En general los tejidos también pierden agua, menos ^{en} el foco traumatizado en el cual existe una gran aptencia por dicho líquido. HARRIS (97) BLALOCK (98) y CONRADT (99). Todo esto hay que tenerlo presente al valorar la hipoproteïnemia en las intervenciones quirúrgicas.

Cualquier intervención quirúrgica, como todo traumatismo en general ~~condiciona~~ ^{causa} una alteración en el metabolismo de las proteínas

111

que se ha llamado "catabolismo traumático", catabolismo que alcanza en el hombre su máximo al final de la primera semana para ir declinando lentamente, aunque a veces persiste el balance negativo de nitrógeno y por tanto la hipoproteïnemia.

Hipoproteïnemia que unas veces es originada por el trauma en sí, y otras era ya padecida por el enfermo con anterioridad, pero que se agravó por la extirpación quirúrgica, máxime si el mecanismo de la formación de proteínas se encuentra alterado por la complicada reacción del organismo a la infección, ya que la hipoproteïnemia prolongada por sí no produce perjuicio al mecanismo de producción de proteínas.

Es evidente que cuanto mayor sea la hipoproteïnemia antes de las operaciones mayor será lógicamente después de practicada esta y queremos hacer resaltar el interés que va adquiriendo en las clínicas modernas el conocimiento de las cifras de proteínas en los enfermos quirúrgicos, cifras que comentaremos después y que entran a complicar gran cantidad de cuadros post operatorios ignorados hasta hoy.

Conocido es que entre las proteínas del suero y las proteínas de los tejidos existe un constante trasiego, una parte de las proteínas orgánicas forma reserva contra la adversidad en el sentido de que puede ser gastada sin lesión evidente para el organismo. Ha sido denominada "El baluarte contra la infección" CUTBERTSON (100).

Se atisba la conveniencia del conocimiento previo cuali y cuantitativo de las proteínas séricas de nuestros enfermos ya que, como se desprende de lo dicho y comprende fácilmente una hipoproteïnemia cuantitativa tendrá mejores condiciones para llegar a la normalidad que una disproteïnemia cuali y cuantitativa, condicionada por una complicación infectiva, en la que podemos ver la expresión de un agotamiento de sus reservas proteïnicas y por ello se encontrará en peores condiciones. Claro es que mucho mejor será el pronóstico y por tanto de interés terapéutico es la de aquellos pacientes que en el momento de la intervención posean una euproteïnemia puesta en evidencia por nuestros medios de exploración y en los que solamente padecerán, si se produce la hipoproteïnemia postoperatoria.

113

Si volvemos a considerar los protocolos de nuestros enfermos operados observamos que en un 40 % aproximadamente fueron a la mesa de operaciones con una hipoproteïnemia marcada (estos sujetos se les tomaba sangre con objeto de apreciar mejor las alteraciones, en el preciso momento de operarlos, inmediatamente antes de la anestesia) y si hubiese entrado este procedimiento del estudio de las proteínas en la rutina de las investigaciones que se efectúan en el estudio preoperatorio del enfermo es casi seguro que no hubiesen ~~de~~ sido operados.

La hipoproteïnemia de las intervenciones quirúrgicas comienza ya desde el momento en que se empieza con la anestesia: la anestesia etérea la más utilizada por nosotros como anestesia general produce un descenso en el nivel de aminoácidos y en la concentración nitrogenada, (EGUIAGARAY) (101). Incrementada esta hipoproteïnemia en aquellos sujetos exhaustos de proteína, bien por supuraciones crónicas o dietéticas mal conducidas, pues como MILLER y WHIPPLE demostraron en 1.942

(102) en el perro exhausto de proteínas , que la metionina, si se administra poco antes de la anestesia con cloroformo , proporciona una protección completa contra lesiones hepáticas, y que este amino-ácido o cisteína más colina protege de modo significativo incluso si se administra a las tres o cuatro horas de la anestesia con cloroformo. Después de las cuatro horas ya no sirve de protección. La misma colina no protegió administrada antes. Los hígados de estos animales exhaustos de proteínas se hallaban deficientes en N y S, éste último especialmente la administración de metionina o cistina cubrió rápidamente este déficit.

GOLDCHMIDT (103), VARS y RAVDIN (104) demostraron que el balance de proteínas repercute sobre la vulnerabilidad del hígado para el cloroformo. La mayor vulnerabilidad del hígado en los organismos con déficit proteico es frente a todos los demás narcóticos halogenados. Se comprende por tanto la importancia de la hipoproteíнемia postoperatoria en las injurias que pueden producir sobre el hígado todas las anestésias genera-

les. Sería muy interesante y nosotros pensamos hacerlo en trabajos posteriores a efectuar durante el transcurso de anestesia prolongadas etéreas y clorofórmicas de larga duración, determinaciones cuali y cuantitativas de la proteinemia, en pacientes sometidos a hipnosis prolongadas. En nuestros enfermos no podemos valorar esto ya que al poco tiempo de la anestesia empieza el traumatismo operatorio, la hemorragia, etc., etc. que enmascaran los resultados.

BIMAN BROWN y WOLFF (105) demuestran que las dietas pobres en proteínas conducen al derrumbamiento del espectro proteico de la sangre, más marcado sobre la fracción albuminoidea y paralelamente afectación a la capacidad funcional del hígado. El hígado se comportaría frente a las proteínas de un modo similar que frente al glucógeno, y cada día se concede más importancia a las hepatitis provocadas o favorecidas por el déficit de proteínas. GIMENEZ DIAZ, RODA etc. (106).

Nosotros hemos determinado la proteinemia en el curso de los días

siguientes a la intervención quirúrgica viendo la hipoproteïnemia, su curso y su recuperación hasta la normalidad como se puede apreciar en la gráfica.

Esta hipoproteïnemia postoperatoria es una manifestación constante, que se observa despues de toda intervención quirúrgica, y que ya fué comprobada por CASTEN y BODENHEIMER (107), siendo un agente causal de inducir efectos variables, con una expresión clínica proteiforme que no debe en modo alguno desconocer el cirujano, manifestándose :

a) Desde el punto de vista local, por trastornos en el proceso de reparación de las heridas . Retardos de cicatrización y dehiscencia. De tal manera que sin negar importancia a los factores ya conocidos de vitamina C en suero TEU (108), GRANDE (109), VELAZQUEZ (110). Al factor tiroideo NATELE (111) RODA y JIMENEZ DIAZ (112), Factores locales etc., etc.. THOMPSON (113) ya demuestra la baja de proteínas en algunas intervenciones, en las que precisamente es mas frecuente la dehiscencia.

b) En los trastornos de la motilidad gastrointestinal., y preferentemente de la evacuación gástrica sobre todo en los operados de estómago. MCCRAY, BARDEN y RAVDIN (114), informan primeramente acerca de las influencia de los edemas nutritivos ("nutritional edema") en la evacuación del estómago antes y despues de las operaciones gástricas; y BARDEN, RAVDIN y FRAZIER (115) demuestran que los retardos de la evacuación vinculados a los edemas hipoproteinémicos se corrigen por transfusión de sangre total o de plasma.

c) En los trastornos de carácter general, síndromes tóxicos o hepatitis que desencadenan o intensifican el déficit proteico. ESTELIA (116) .

Recientemente se empiezan además a valorar las hipoproteinemias ligeras en el mecanismo de diferentes complicaciones quirúrgicas y así WALTERS (117) aprecia un aumento de las complicaciones broncopulmonares en los pacientes desnutridos. STUDLEY (118) informa que la morta-

lidad del úlcus guarda relación con la pérdida de peso del enfermo. Nosotros vimos mayor mortalidad por pulmonías en los enfermos del Hospital Provincial en los años 1.940 y 1.941. ABOIT y METTOR (119) encuentra menor mortalidad en los enfermos que eran transfundidos antes de operarse.

Igualmente se ha demostrado por WHIPPLE y MADEN (120) que la infección habitual de las heridas del perro en hipoproteïnemia provocada por plasmoforesis y la corrección de las mismas por transfusión de plasma.

Es evidente que la hipoproteïnemia es mayor como puede apreciarse en nuestros protocolos en determinadas afecciones, tumores malignos y afecciones localizadas en estómago, duodeno y vías biliares y sobre todo es muy marcada en enfermos carenciales o sometidos a dietas incorrectas. Nosotros hemos observado en el Hospital Provincial de Madrid que los enfermos intervenidos en un estado de hipoproteïnemia marcada como sucedía en los mendigos traídos de la Prisión de Yescas

tenian un tanto por cierto de mortalidad elevada.

En gastroenterologia se ve que la hipoproteinemia conduce a dos cosas a paralisis intestinal y a edema, lo cual condiciona un cuadro de distension abdominal, un verdadero ileo paralitico.

Nosotros los cirujanos estamos muy acostumbrados a ver despues de diferentes intervenciones, un cuadro toxico o colapsoides, con distension abdominal, lengua seca etc etc. Son esos cuadros que se acostumbraba a diagnosticar de uremias, diagnostico que tantas veces vimos en los enfermos de las salas de cirugia, sin embargo ya chocaba que al efectuar una valoracion de su urea en sangre esta era completamente normal. Pues bien hoy en dia que la valoracion de las proteinas ha entrado en la practica corriente, vemos que muchos de ellos son hipoproteinemias marcadas que ceden a una terapeutuca correcta y bien dirigida. Serian ellas lo mismo que las que aparecen en el schok o en las quemaduras, hipoproteinemias agudas, WEINER (133). MC. CLURE (134). Mas al lado de estas hipoproteinemias agudas tenemos otras subagudas o cronicas que en clinica se manifiestan por tres sintomas fundamentales cuyo orden de aparicion es:

Oliguria-Aumento de peso(edemas latentes)-Edemas.

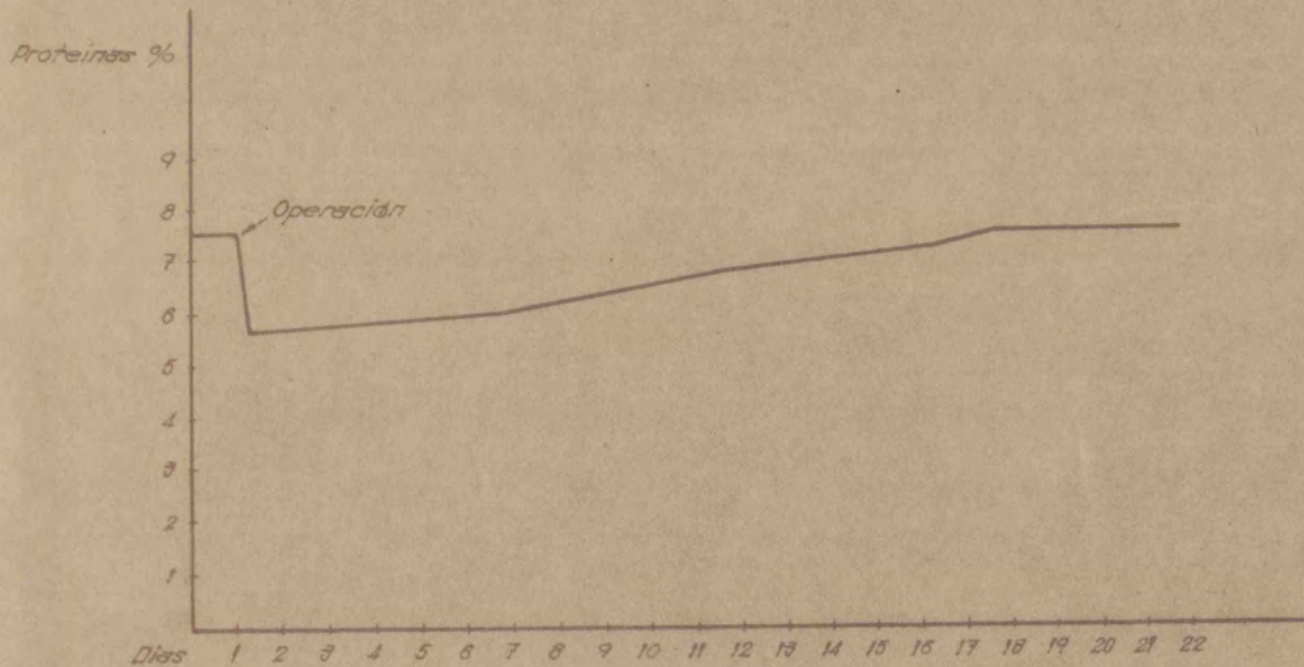
El aumento de peso que revela la retencion de agua en los tejidos y que se manifiesta antes que los edemas superficiales.

La oliguria (LEVISON .135) no se modificara por la abundante inyección de soluciones cristaloides como se comprendera por su patogenia, estas no hacen mas que ser perjudiciales, aumentan los edemas. Ceden por el contrario con el correcto tratamiento de la hipoproteïnemia.

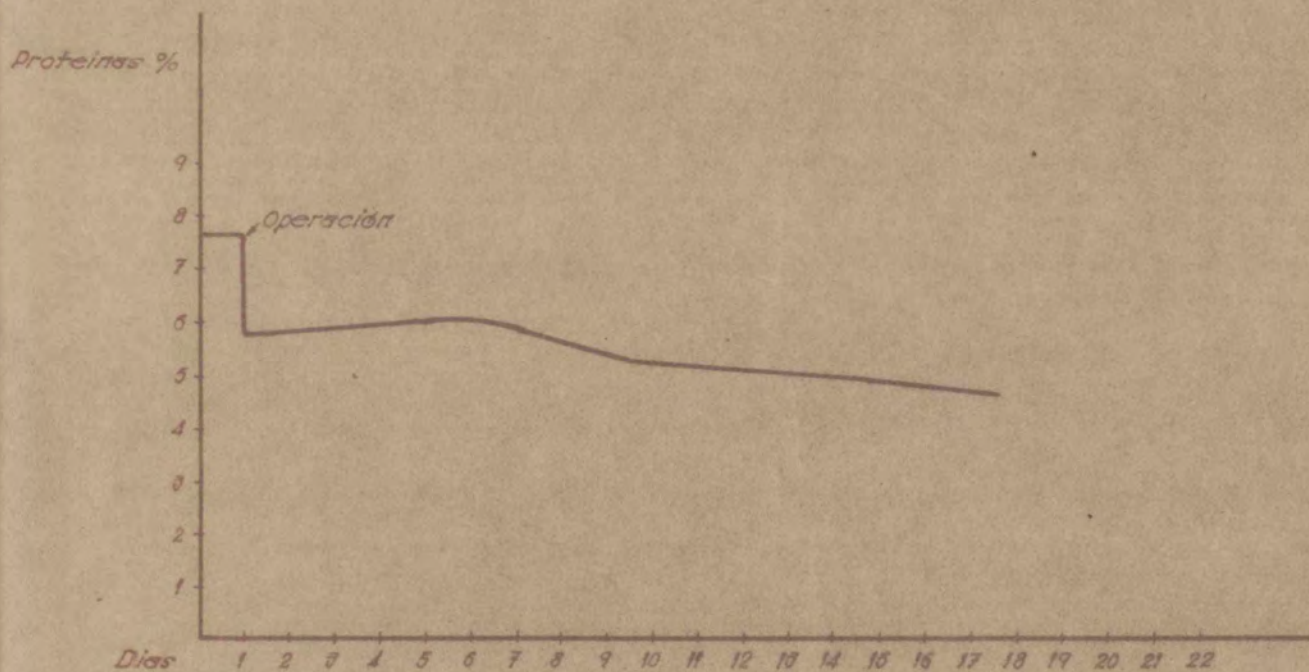
J. DIAZ afirma que los enfermos que tienen una proteïnemia menor de 5 son enfermos que tienen edemas, nos referimos a edemas visibles claro esta. Nosotros no hemos podido confirmar este aserto y los enfermos que hemos estudiado aunque tuviesen 5 de proteínas no tenían edemas,

- CURVAS ESPECTROGRAFICAS -

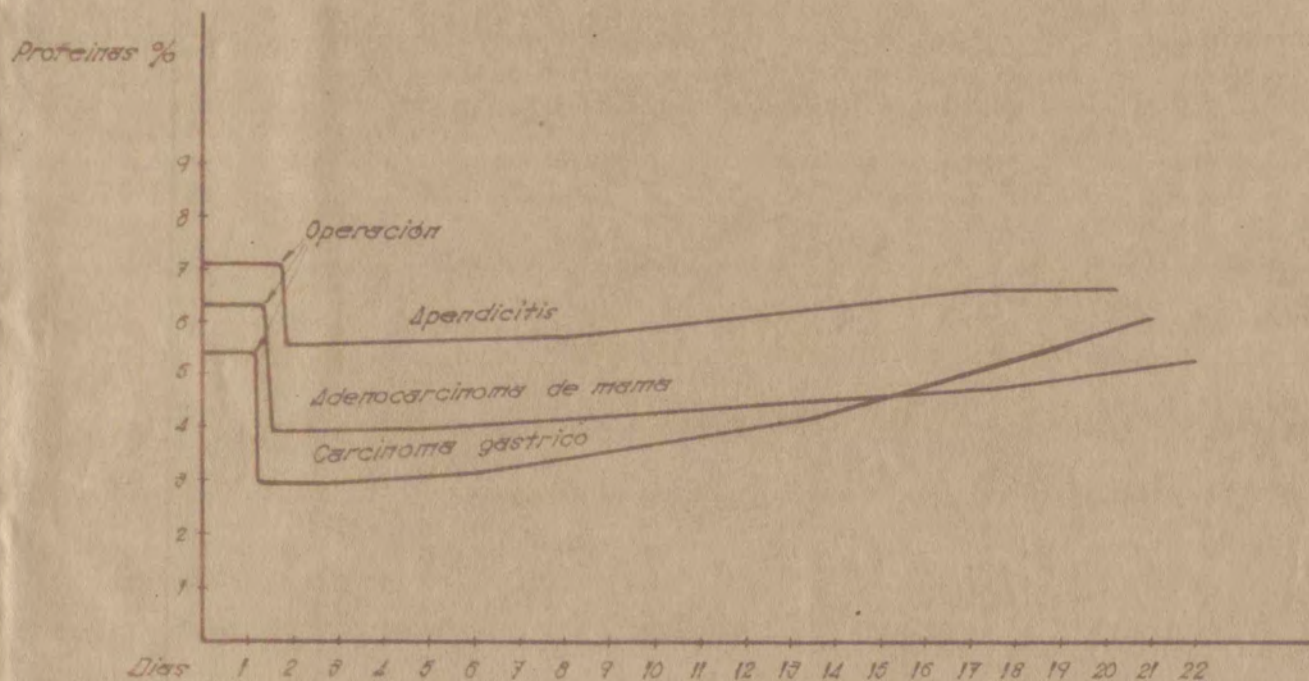
Curva de recuperación de proteínas en un curso postoperatorio normal.



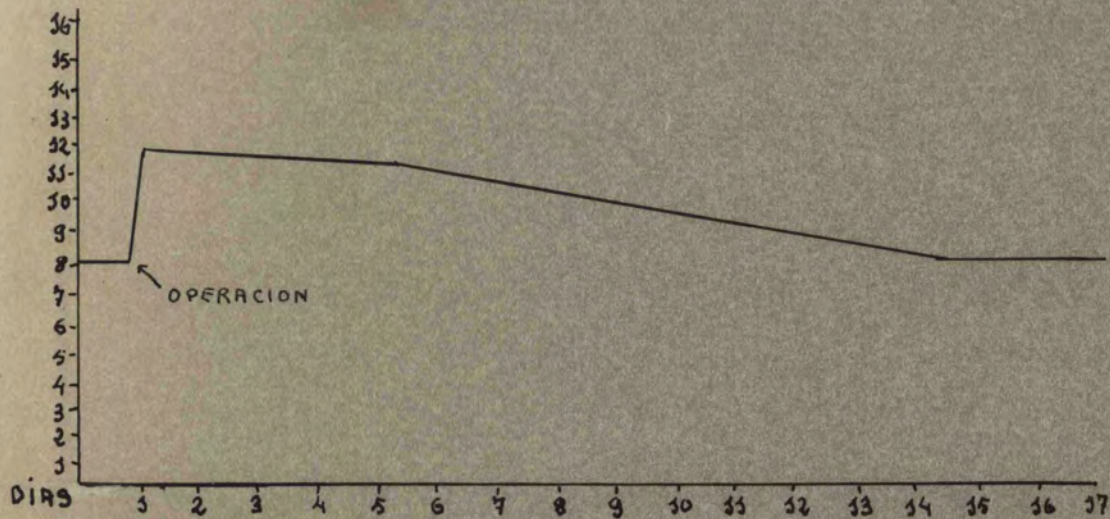
Curso de las proteínas en un individuo con curso posoperatorio patológico (eventración).

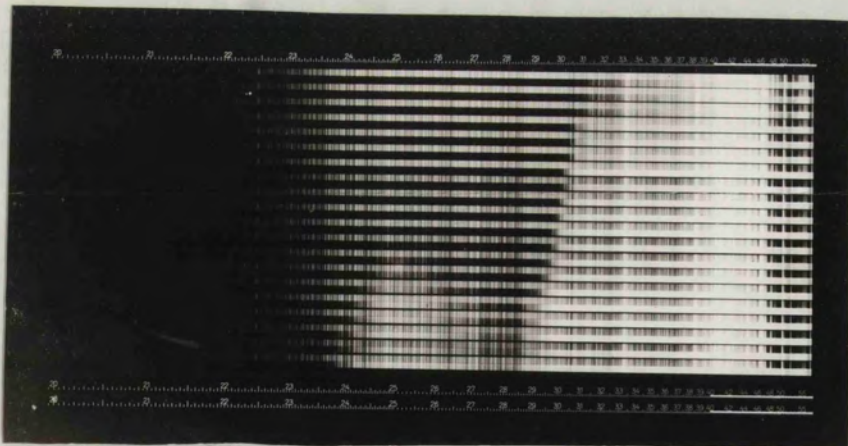


Curva de recuperación de proteínas según el tipo de intervención.



E de proteínas en las intervenciones quirúrgicas

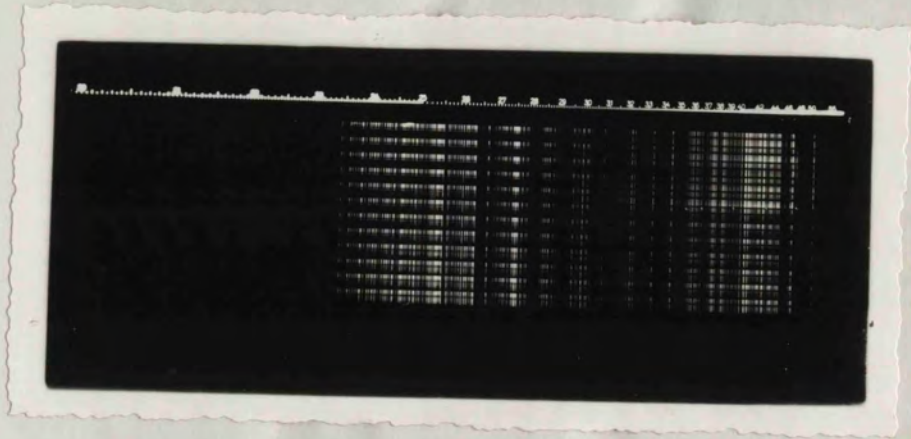
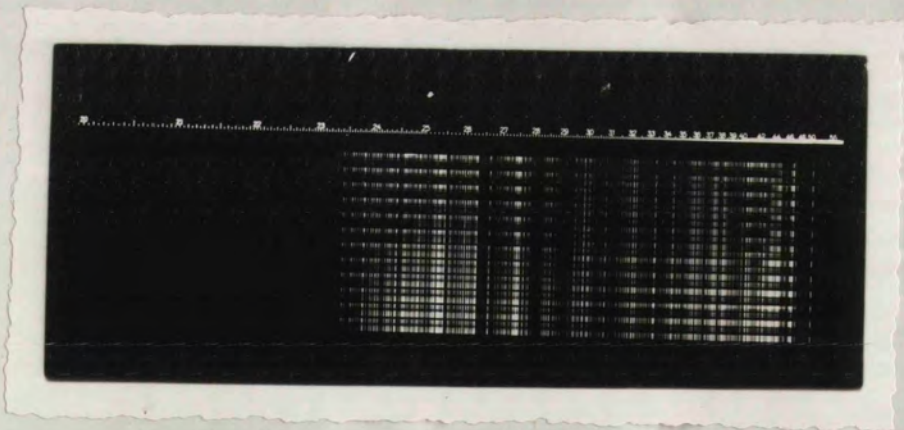




Espectrogramas de suero
normal

Espectrogramas de sueros patológicos





C A P I T U L O V I I

=====

C O N C L U S I O N E S

=====

CONCLUSIONES

De las consideraciones anteriores y del trabajo expuesto se deducen las conclusiones siguientes:

1.- Se han practicado 107 determinaciones, en sujetos seleccionados de diferentes grupos, en algunos de ellos hemos estudiado los valores de el exilon de proteínas y de las proteínas totales en diferentes días a continuación de la intervención quirúrgica, loz cual supone mas de 150 placas y determinaciones de proteínas. El diagnostico de los enfermos era cierto, el peso específico se determinó por el procedimiento del picnómetro de Moreno y Martin y a partir de él se ha deducido el procentaje de proteínas. A la vez se efectuó el estudio espectral del suero en todos los enfermos con el gran espectrografo para químicos, verificandose el estudio en la zona ultravioleta.

2.- En 16 sujetos supuestos normales para servir de base en nuestros contrastes, determinamos el porcentaje de proteínas a partir del peso específico, el coeficiente de extinción referido al suero y el coeficiente de extinción referido a proteínas. Nos encontramos con unas cifras medias de : P. específico : 10288

al que corresponde un porcentaje de proteínas de 7°47.

un σ de..... 1°30.

un Σ suero de 60,20

y un Σ proteínas de..... 8°03

Consideramos pues estas cifras como la normalidad

3.- Hemos estudiado 18 osteomielitis encontrandonos con una media de valores siguientes: Peso específico.....10260

al que correspondenProteínas por %... 6°73

un Σ suero 93°77

un Σ proteínas 14°40.

Se han comparado estos valores con el estudio radiografico, edad y antigüedad de la lesión, viendo como en los sujetos muy afectados varia el tanto por ciento de proteínas, pero sobre todo lo que mas valor tiene es el Σ de proteínas, tanto que este lo podemos considerar como un dato pronostico para conocer el estado de intoxicacion del organismo, como se puede apreciar muy bien en las radiografias que acompañan. Interpretamos la separacion de la normalidad por dos ordenes de factores: por un lado por la expoliacion consecutiva a la supuracion cronica, incrementada por la actividad metabólica aumentada "in situ" (catabolismo traumatico) y por la fiebre.

De otra parte esta disproteinemia la hacemos responsable a la carencia secundaria de aminoácidos primordiales que padecen estos sujetos, por la anorexia. Debiendo tambien haber o por el aumento del catabolismo un aumento de aminoácidos, o bien por una síntesis imperfecta de las proteínas, como lo prueba el Σ proteínas

tan alto que no coincide con la hipoproteïnemia que presentan, efectivamente en la zona de absorcion donde trabajamos tambien se absorven los aminoacidos.

4.- Hemos estudiado 12 sujetos afectos de apendicitis aguda encontrandonos con un ξ de proteinas de 10'42. No hemos obtenido la media de los demas valores porque como se puede observar en los protocolos la afeccion revestia en los enfermos diferente intensidad, desde simples ataques apendiculares a perforaciones con peritonitis. En general no hallamos en las simples apendicitis alteraciones cualitativas apenas, pero si hipoproteïnemias condicionadas a nuestro entender, aparte, del balance negativo de nitrogeno que existe en estos enfermos, por la movilizacion, transporte y fijacion de las proteinas circundantes y ademas por la perdida de proteinas misma existentes en peritoneo. Los enfermos que dieron un ξ de proteinas alto coincidian con el diagnostico de peritonitis apendicular.

5.- Hemos estudiado 9 sujetos afectados de carcinoma gástrico encontrándonos con unos valores de peso específico 10219, al que corresponde unas proteínas de 5°09, con un ξ suero de 79°45 y un ξ proteínas de 15°81. Son como vemos sujetos afectados de una gran hipoproteíemia con unos ξ muy altos, la explicación de estos resultados queda aclarada en el texto.

6.- Hemos determinado en 6 enfermos afectados de quemaduras extensas encontrándonos con unos valores medios de peso específico 10205, proteínas 4°59, ξ suero 92°67 y ξ proteínas 20°57. Comparando esas cifras con las asignadas a la normalidad vemos que son los sujetos en los que se encuentra más alterados.

7.- Hemos estudiado 5 enfermos con inyecciones supuradas, 3 panadizos 3 hernias, y en general encontramos pocas variaciones como corresponde a afecciones que alteran poco el estado general.

8.-Hemos estudiado 10 enfermos afectados de abscesos y flemones diversos encontrandonos que la hipoproteinemia y sobre todo el Σ de proteínas guarda un valor proporcional con la gravedad del caso. Asi el enfermo numero 4 y el 7 y el 9 fueron enfermos de pronostico gravisimo.

9.-Hemos estudiado 10 enfermos con diagnosticos varios, encontrandonos el Σ de proteínas proporcionado tambien a la gravedad que presentaba el enfermo.

10.-Hemos estudiado 10 enfermos intervenidos quirurgicamente, haciendoles determinaciones, antes de la operacion en todos ellos y determinaciones en unos casos al terminar esta y en dias sucesivos. En general vemos que despues de toda intervencion hay una baja de proteínas pero lo que mal alteracion sufre es el Σ de proteínas que juzgamos de gran interes. La baja de proteínas esta en relacion con e

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

tipo de intervencion y la afeccion que el enfermo padecia anteriormente. Es sobre todo notoria en las intervenciones abdominales y en las que se efectuan sobre tumores malignos como se puede apreciar en nuestros protocolos.

La recuperacion de los trastornos mencionados, varia tambien con los factores citados anteriormente, siendo aqui de gran interes el estudio del Σ de proteinas que no va paralelo con el porcentaje de proteinas.

Cotejando nuestros protocolos se puede ver que la euproteinemia interviene en la cicatrizacion de las heridas y que en todo enfermo de cicatrizacion irregular se debe de hacer un estudio de las proteinas y del Σ de proteinas.

Comparando los valores de las proteinas y del Σ de proteinas antes y despues de la operacion se ve lo siguiente.

- a) Una hipoproteinemia
- b) Un aumento del Σ suero
- c) Un aumento considerable del Σ proteinas como consecuencia de las variaciones anteriores. Hay una destruccion de las proteinas, consecuencia un aumento en sangre de los productos de desintegracion, lo primero ocasiona una disminucion del tanto por ciento de proteinas

lo segundo un aumento del suero.

Por todo ello-creemos nosotros que

- A) El estudio de las proteinas solamente apenas si tiene valor, ya que es valoración solamente cuantitativa, pero nada nos dice respecto a la calidad de estas, o sea a la mayor o menor alteración cualitativa.
- B) Que el estudio del ξ suero aislado, tampoco tiene apenas valor ya que solo indica variaciones relativas. Tan solo puede afirmarse en la mayoría de los casos que si pasa de 70, es un suero patológico
- C) Que el estudio del ξ proteínas, es lo que verdaderamente tiene valor, ya que pone de manifiesto el grado de afectación de los centros que en el organismo rigen el metabolismo proteínico-

En consecuencia de ello es que el ξ proteínas estará poco alterado cuando apenas este afectado el organismo y variará muchísimo, esto es será muy alto si la afectación del organismo es grande-

11-Se deducen consecuencias prácticas de orden terapéutico, profiláctico y sobre todo pronóstico que se desarrollan en el texto, hasta tal punto que el ξ proteínas estará alterado proporcionalmente a la gravedad del caso, siendo según nuestra experiencia de un pronóstico

gravisimo cuando sebrepasaba el 20.

12-Nosotros proponemos la determinacion de la proteinemia antes de las operaciones asi como del exilon de proteinas, sobre todo en aquellos sujetos que o bien por su estado general o bien por la afeccion que padezcan nos supongamos pueda interesarnos.

Asi como tambien proponemos ambos metodos para poder sentar un pronostico mas acertado que con ningun otro metodo usado hasta el presente.

Siguiendo las reglas dadas en este trabajo ambas determinaciones son faciles y de bastante rapidez una vez que en ellas se adquirió suficiente practica.

Kalofructoquin

CAPITULO VI

=====

BIBLIOGRAFIA

=====

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

=====

- 1.-LERICHE.-Gaz. des Hop.:107.-pag. 551.-1934
- 2.-TOMASO.-Clinica del preoperatorio.-Buenos Aires.-1938
- 3.-THOMPSON,RAVDIN y FRANK.-Arch. of. Surg.-36.-pag. 500-508.-1938
- 4.-MECRAY, BARDEN y RAVDIN.-Surgery.-1.-pag. 53.-1937
- 5.-BARDEN,RAVDIN y FRAZIER.-Americ.Jour.of Roentg.-38.-pag. 196.-
1937
- 6.-GOLOSCHMID, IVARS y RAVDIN.-Jour.of Clin. Invest.-18.-pag.277.-
1939
- 8.-SCHMIDT.-citado por Villar.-Fisiopatologia y origen de las pro-
teinas del plasma.-Barcelona.-1944
- 7.-KUHNE.-citado por Villar
- 7.-WEIL y HEYNIUS.-Dtsche.Arc. Klin.Med.-63.-pag. 54.-1928

- 8.-HAMMARSTE, SPIEGEL.- Lehrbuch d. physiol. Chem.- 1922
- 9.-SØRENSEN.-Comp.rend.de Carlsberg.-1.-pag. 18.-1930
- 10.-VON SODEN y DIRR.-Kund.R.Logel Z. exper. Medic.-1939.-Cidao por
F. Wuhrmann.
- 11.-TISELIUS.-Kollid Z.-85.-pag. 129.-1938
- 12.-MICHAELIS.- Dtsch. med. Wgch.-23.-1914.
- 13.-TAKATA-ARA.- Helvetica Medica Acta.-Universidad de Zurich.-1943
- 14.-WELLMAN.-Med.Klin.-pag. 236.-1930
- 15.-UCKO.-Klin.Zoch.- pag. 468.-1935
- 16.-WUHRMANN y WUNDERLY.-Helv.Med.Acta Supl.-pag. 10.-1943
- 17.-WUHRMANN y WUNDERLY.- Z.Klinic.Med.-184.-pag.445.-1941
- 18.-WELTMANN.-Med.Klin.-pag.236.-1930
- 19.-POLONOWSKI y JAILE.- Citado por Wuhrmann y Wunderly.-año 1943
Arch.Mediz. de Universita. Zurich.

- 20.-BUNSEM.- Citado por Foggio.-Espectrofotometria.-Madrid.-1945
- 21.-ABEE.- citado por Foggio.-Espectrofotometria.-Madrid.-1945
- 22.-SCHUMM.-citado por Foggio.-Espectrofotometria.-Madrid.-1945
- 23.-SCHUMM.-Citado por Foggio.Espectrofotometria.-Madrid.-1945
- 24.-KÜNIG y MARTENS/+An.Phisik.-12.-pag.1004.-1903
- 25.-JUDD LEWIS.-Proc.Roy.Soc.B.-89.-pag.325.-1916
- 26.-HEIMMYER.-Med.Spektrophotometrie.-Jena.-1933
- 27.-FUCH, KAUNITZ y LERCH.-Z.Klin.Medizin.-128.-pag.332 .-1935
- 28.-BEER.-Ley de...-Spektral photometrie.Geiger-Scheels:Handb.der
Phisik.-Tomo 19.-Berlin.-1918
- 29.-SUHRMANN y KOLLATH.-Biochem.Zeitsch.-184.-pag.216.-1917
- 30.-GRAUBNER.-Zeitsch.f.ges.Exp.Med.-81.-pag.1.-1932
- 31.-FUCHS, KAMMEYS y LERCH.-Z.Klin.Med.-128.-pag.332.-1935
- 32.-LEWIS.-J.Chem.Soc.-115.-Pages.312.-1919
- 33.-FLORENCE y DILBRON.-C.R.-206-214.-1938

- 34.-J.LEWIS, SUHRMANN y GROH.-Proc.Roy.Soc.B.-89.-pag.327.-1916
- 35.-AZNAR.-Estudio de las modificaciones del peso especifico del suero y su significacion patogenica en distintos estados patologicos.-Tesis doctoral.-1944
- 36.-ROGER y BINET.- Tarité de Physiologie norm. et pathol.-Tome VII Paris.-1934
- 37.-WEECH, REEVES y GOETSCH.-Jorn.biol.Chem.-113.-pag.167.-1936
- 38.-SCUDDER.-Schock Blood studies as e guide to Therapy Philadelphia Libpincot.-1940
- 39.-FRAUNHOFER.-citado por Silván.-Espectro de absorción en el ultravioleta de los sueros inmunes terapeuticos.-Tesis doctoral
- 40.-KIRCHHOFF, SCUMY ZEISS.-Citado por Silván.-Tesis doctoral
- 41.-HENRI.-Tables annuelles de constantes et donnees numeriques.-1930 .
- Id.-E.W.Ma. y Gabin.-Biol.Chem.-138.-pag471.-1941
- 42.-SCHETBE.-Physicalische Method der anal.Chim.-Leipzig.-1933

- 43.-BOYLE.-Memoire for the Natural Hystory of Humann Blood.-London
1864
- 44.-VEIL.-Dtsche Arc.Klinc.Med.-63.-pag. 54.-1928
- 45.-MAHNET.-Hoppe-Seyler's Atschr. f. physiol.Chem.-110.-pag.1.-
1920
- 46.-AZNAR.-Tesis doctoral.-1944
- 47.-STARLING.-Fisiologia humana.-Barcelona.-1927
- 48.-STRASSER.-Wien Archiv.f.ina.Med.-19.-pag.451.-1930
- 49.-ENRIQUEZ DE SALAMANCA, POGGIO y AZNAR.-Trab. del Inst. de Med.
Exp.-Tomo 11.-1944
- 50.-FUCHS, KAUTNITZ y LERCH.-Z.Klin.Med.-128.-pag.332.-1935
- 51.-SCHADE.-citado por Rodriguez Candela.-La inflamación.
- 52.-DUESSBER.-citado por Guthbertson.-Metabolismo de las proteínas.
B.Med.B.-vol.11.-1944
- 53.-JIMENEZ DIAZ, RODA y otros.-REVISTA CLINICA ESPAÑOLA.-1942, 43 y 44
- 54.-ENRIQUEZ DE SALAMANCA y FERNANDEZ CRUZ.-Medicina.-Octubre 1942

- 55.-DAVIDSON y MATTEW.-Quart.J.exp.Physiol.-19.-pag.33.-1944
- 56.-WEINER.-Proc.Soc.Exp.Biol.and.Med.-34.-pag.484.-1936
- 57.-LUCIDO.-Ann.Surg.-111.-pag.640.-1940
- 58.-TAPPEINER.-citado por Eguiagaray.-Revista Clinica Española
- 59.-EGUIAGARAY.-Hipoproteinemia.-Revista Clinica Española.-num14.-
pag.156.-1944
- 60.-CLARK y ROSSITER.-Report num.9 to sub-committee on Burns of the
med.Research Council's War Wounds Committee.
- 61.-KAGAN y TAYLOR.-Amr.J.Med.Sci.-206.-pag. 309 y Med.New Engl.
J.-229.-pag.855
- 62.-CUTHBERTSON.-Boletin Med.B.-Vol. 11.-1944
- 63.-CUTHBERTSON,MC GIRR y ROBERTSON.-Quart.j.exp.physiol.-29.-pag.13
- 64.- ALBRIGHT y BROWNE.-Arch.Dis.Child.-16.-pag.182.-1941 y
J.Macy Jr.Fundation Report on Conference on Bone and Wound Hea-
ling.-dec.11-12.-pag 50
- 64.-CUTHBERTSON.-J.Endocrinol.-2.-pag.468 y 475

- 65.-SHVAV y YOUNG.-Citado por Curthbertson.-Metabolismo de las
proteinas.-B.Med.B.-vol.11.-1944
- 66.-BARCLAY?CUTHBERTSON e ISAACS.- Quart. J.Ex.Physiol.-32.-pag.
309.
- 67.-CLARK y ROSSITER.-Bull.Jhon Hopkins Hosp.-s0.-pag.117.-1919
- 68.-LYONS.- Journal Amerc. Med. Ass.-123.- Pag 1007.-1943
- 69.-MUWRO y CURTHBERTSON.-Biochem.J.-37
- 70.-ELMAN y WEIWER.-J.Amer.med.Ass.-112.-pag.716 y 213.-1941 y
Ann.Surg.-115.-pag.1160.-1942
- 71.-MULLER.-Bull.Jhons Hopkins Hosp.-72.-pag.110.-1943
- 72.-CLARK.-Proc.Soc.Exp.Biol.Med.-49.-pag.329.-1943
- 73.-ELMAN.-Ann.Surg.-115.-pag.1160.-1942
- 74.-MULLER y LISCHER.-Bull Jhons Hopkins Hosp.-72.-pag.110.-1943
y Arch.Surg.-46.-pag.277.-1944
- 75.-MADDEN.-Jour.of. Exp.Med.-67.-pag.576.-1940 y 77.-pag.277.-1943

- 76.-ENRIQUEZ DE SALAMANCA Y FERNANDEZ CRUZ.-Medicina.-Octubre 1941
- 77.-TAYLOR.-New Engl.J.Med.-229.-pag.855
- 78.-ROSSITER.-Bull.Ward.Med.-4.-pag.181
- 79.-CO TUI.-Ann.Surg.-119.-pag.815
- 80.-WRIGHT.-citado por Cuberthson
- 81.-BARHAM y BREED.-citados por Cuberthson.
- 82.-EGUIAGARAY.-Rev.Clinica Esp.-14.-pag.156.-1944
- 83.-BYWATERS.-J.Amer.Med.Ass.-124.-pag.1103
- 84.-DALLA ROSA.-Arch. di pathol. e clin.med.-2.-pag 514.-1923
- 85.-TORMET.-C.R. de Seeance de la Soc.Biol.Paris.-82-24.-pag. 1032
.-1920
- 86.-GALEHR.-Wien Arch.f.inn.Med.-2.-pag.314.-1923
- 87.-AZNAR.-Tesis doctoral.-1944
- 88.-LOEPER Y TORMET.-C.R. des Seances de la Soc. de Biol. de Paris.-
33-26.-pag. 1139.-1920
- 89.-GODOUNIS.-La proteidenie et la pression osmotique des protides.-

- 101.--EGUIAGARAY.--Rev. Clin. Española.-14.--pag. 156.-1944
- 102.--MILLER y WHIPPLE.--J. exp. med.-76.--pag. 421
- 103.--GOLDCHMIDT.--Jour. of clin. Invest.-18.--pag. 277.-1939
- 104.--VARS y RAVDIN.--Jour. of cli. Invest.-18.--pag. 633.-1939
- 105.--ELMAN, BROWN y WOLFF.--The Jour. of Exp. Med.-75.--pag. 4.-1942
- 106.--JIMENEZ DIAZ, RODA, etc.--Rev. Clin. Española.-4.--pag. 101.-1942
- 107.--CASTEN y BODENHEIMER.--citado por Estella.--Revista esp. de Cirugía.--enero 1945
- 108.--TEY.--Schw. Med. Wäch.-72.--pag. 1242.-1942
- 109.--GRANDE.--Las vitaminas.--pag. 271.-1942
- 110.--VELAZQUEZ.--Farmacología y Terapéutica de las vitaminas.-1941
- 111.--NATELE.--Il Policlinico.-38.--pag. 1.-1931
- 112.--RODA y JIMENEZ DIAZ.--Rev. Clin. Esp.-4.--pag. 191.-1942
- 113.--THOMPSON.--Arch. Surg.-36.--pag. 500.-1938
- 114.--MECRAY, BARDEN y RAVDIN.--Biochem. j.-37.--pag. 225.-1943
- 115.--BARDEN, RAVDIN y FRAZIER.--Amer. Jour. of Roentg.-38.--pag. 196.-1937.

- 116.-Estella.-Revista Esp. de Cir.-Enero 1945
- 117.-WALTERS.-The Jour. of the Amer Med. Asoc.-122.-pag. 747.-1943
- 118.-STUDDLELEY.-The Jour. of the Amer. Med. As.-122.-pag, 747.-1943
- 119.-ABOTT Y METTOR.-Arch of Surg.-46.-pag. 277.-1943
- 120.-WHIPPLE y MADEN.-Mar.J.Med. Sc.-1942.,196.-pag. 609
- 121.-BÜHME.-Dtchr.Arch.f.Klin.Med.-103.-pag.522.-1911
- 122.-FARKAS.-G.V.Ztschr.exp.Med.-pag.63.-1928
- 123.-EINSTEIN.-citado por Poggio.-Espectrofotometria aplicada a la
Medicina.-1945
- 124.-SAMSON WRIGHT.-Fisiologia.-1939
- 125.-BENHOLD.-Die Eiweisskörper des Blutplasmas.-1938
- 126.-MADDEN y WHIPPLE.-Physiol rev.-20.-pag. 194.-1940
- 127.-IRVING.-Jour. Amr. Med.Assoc.-116.-pag. 669.-1941
- 128.-CLARCK, y CARRELL.-Bull.Jhons. Hopkins Hosp.-30.-pag 117.-1919
y Proc.Inst.Med.Chicago.-8.-pag. 62.-1930
- 129.-RAVDIN.-Jour.Amer. Med,Aas.-114.-pag.107.-1940.

130.-MORENO MARTIN.-Tesis doctoral.-1934

131.-GIRAL.-Quimica Organica.-1926

132.-OLIVA y GONZALEZ NUÑEZ.-As.Soc.Esp.Fisica y Quimica.-31.-pag 61
1933