

Tesis de Posgrado

Acción del cloroformo sobre la colesterina

Raver de Fernández Poblet, Eva

1916

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias
Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Raver de Fernández Poblet, Eva. (1916). Acción del cloroformo sobre la colesterina. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0117_RaverdeFernandezPoblet.pdf

Cita tipo Chicago:

Raver de Fernández Poblet, Eva. "Acción del cloroformo sobre la colesterina". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1916.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0117_RaverdeFernandezPoblet.pdf

P A D R I N O D E T E S I S

Académico Titular

Doctor ANGE GALLARDO

SEÑORES CONSEJEROS:

SEÑORES PROFESORES:

Al presentar á vuestra ilustrada consideración este trabajo que ha de permitirme ^{terminar} mi carrera, no lo hago sin cierta emoción; porqué para mí representa el primer trabajo de investigación científica, á lo que no estamos habituados en nuestros estudios, espero por consiguiente que lo habeis de juzgar teniendo en cuenta que para efectuarlo, tenemos que marchar solos orientándonos en la obra de los que nos han precedido, sin el sabio consejo, ni la oportuna indicación, que nos marque el rumbo á seguir.

Antes de elegir como tema de mi tesis "La acción del Clorofor-
mo sobre la Colesterina" he meditado mucho sobre la orientación que habría que marcar á mi actividad; y después de algunos años pues no me urge ninguna obligación-mi marcada preferencia por los temas de química biológica me han llevado á tratar de dilucidar el problema de la acción de algunos de los disolventes de los lipoides sobre la eliminación de la coles-
terina.

Al Profesor Dr. Angel Gallardo le agradezco íntimamente, el alto honor que me dispensa auspiciándome en este acto.

Quiero también hacer notar mi reconocimiento al Dr. Domingo Colillas, médico del Hospital Rivadavia, por haberme facilitado junto con el laboratorio del Hospital, todo el material usado en mis experiencias.

Una deuda de gratitud me obliga un cariñoso recuerdo á la memoria de mi sabio profesor Dr. Atanasio Quiroga.

CAPÍTULO I

Historia de la COLESTERINA

Se acostumbra clasificar la colessterina entre los lipoides palabra empleada por Overton en el año 1900-1901 al estudiar la permeabilidad de las membranas de envoltura de las células.

Se reúnen en el grupo lípido un cierto número de cuerpos que bajo el punto de vista químico resulta heterogéneo. Overton tuvo más en cuenta algunos caracteres físicos, para hacer esta agrupación, entre otras cosas el de ser solubles para el mismo grupo de cuerpos, los anestésicos comportándose con estos disolventes casi como las grasas. Entre los lipoides el que químicamente tiene más semejanza con las grasas, es la lecitina.

En realidad los lipoides forman más bien un grupo biológico determinado.

Se dividen los lipoides en fosforados y no fosforados.

L. fosforado - Lecitina

L. no fosforado { Colesterina
Cerebrina (lip. glicósico)

Se encuentran los lípidos, como constituyente primitivo, en todos los elementos celulares, y su importancia se basa, en primer lugar en que forman ellos la parte principal de las membranas celulares (membranas lipóideas) por consiguiente participan necesariamente en todos los procesos nutritivos, secretivos y excretivos de las células, y en la modificación defensiva y asimilativa de las sustancias extrañas al organismo (inmunidad).

Forman también los lípidos en el interior del protoplasma de las células, pequeñas inclusiones llamadas mitocondrios, que juegan un rol importante en los fenómenos de diferenciación y elaboración del protoplasma.

Se encuentran allí por lo general, en ligamentos de absorción con las sustancias albuminoideas, constituyendo granulaciones lipoproteicas que como las lecitalbúminas de Liebermann están dotadas de un gran poder de absorción.

El más importante de todos los lípidos es la Colesterina, y el que ha sido mejor estudiado, gracias a las facilidades de los métodos aportados por Windaus y por Grigaut para su extracción y determinación; por el papel que desempeña en el organismo, ya sea aumentando los medios de defensa, ya sea como factor morboso, cuando se encuentra en exceso, determinando le-

siones por depósito de colesteroína, especialmente en la vesícula biliar, aparato ocular, etc.

Este lípido tiene una acción anti-tóxica, Ransow explica el poder anti-tóxico de la colesteroína por su fuerte acción anti-hemolítica.

COLESTERINA = $C^{27} H^{45} OH$. Peso molecular 386,35 - Fue descubierta en los cálculos biliares por Conradi en el año 1875, acompaña generalmente a la lecitina y se encuentra en una proporción de líquidos y tejidos del organismo; existe en el tejido nervioso (al rededor de 20/1000 en la sustancia blanca) cápsulas suprarrenales (hasta 55/1000) hígado, bilis, glóbulos rojos, suero sanguíneo (1,40 a 1,90 /1000) materias fecales etc. Es más abundante en los tejidos jóvenes y en vías de desarrollo.

Forma parte al estado libre ó bajo forma de éteres del barniz graso que recubre el cuerpo de los mamíferos, pájaros etc. Su papel protector es evidente, superior al de las grasas a base de glicerina. En numerosas producciones patológicas cálculos biliares, esputos, líquido de quistes.

Es un alcohol monovalente de estructura probablemente terpénica.

Es insoluble en el agua, pero da con ella soluciones coloidales, donde es electroanegativa y que son precipitadas por las soluciones salinas.

Soluble en el alcohol, éter, cloroformo, petróleo, bencina etc.

En las sales alcalinas de los ácidos biliares y en los jabones. Esta solubilidad se utiliza en los diversos procedimientos para extraerla de los distintos medios orgánicos.

//

PARTE QUÍMICA

La coleslerina es un cuerpo sólido de color blanco anacera do, inodoro, insípido.

Funde á 145°- 148°, hierve á 360°, pero puede sin descomposi ción ser destilada sobre presión normal.

Cristaliza en solución etérea en agujas anhidras, y en solu ción alcohólica, en tabletas con una molécula de agua.

Es levógira $[\alpha]_D = -36.61 \pm 0.249p.$ en solución cloroformica
Su peso específico es de 1.046

Propiedades químicas.- La coleslerina forma éteres con los ácidos minerales y orgánicos; esa función alcohólica fué descubierta por Berthelot.

Si se disuelve la coleslerina en ácido acético á la ebulli ción, dá una solución incolora que por enfriamiento abandona cristales en forma de largas agujas que se descomponen si se les trata por alcohol y agua en ácido acético y coleslerina.

Si se calienta la coleslerina con los ácidos orgánicos, se transforma en éteres difícilmente descomponibles.

Con las saponinas y sapo-toxinas, con la digitonina etc. for

ma combinaciones insolubles en el alcohol de graduación inferior á 95°C.

Esa propiedad que posee la coësterina de formar con la saponina precipitados insolubles fué aprovechada por Windaus para su método de dosage de la coësterina.

Si se proyecta coësterina en polvo sobre el ácido ~~nitrico~~ nítrico fumante, se transforma en gotitas oleaginosas, que separadas del ácido, se solidifican en agua fría, cristalizan en alcohol hirviendo en forma de agujas, poco solubles en alcohol hirviendo y en éter. Si se calienta bruscamente hace explosión produciendo vapores de $N^2 O^4$. El ácido nítrico de esta reacción contiene además otros cuerpos que precipitan al diluir el ácido con agua, en forma de copos amorfos (R. Preis y Raymann).

La coësterina presenta algunas reacciones características, citaremos las principales:

Reacción de Liebermann Burchard.— Consiste en disolver la coësterina en el cloroformo agregarle algunas gotas de anhídrido acético y de ácido sulfúrico. La coësterina toma una coloración que pasa del rojo al violeta, ~~al~~ al azul y por última al verde oscuro. Grigaut para dosar la coësterina colorimétricamente se basa en esta reacción.

Lifschutz estudió ~~espectroscópicamente~~ ^{espectroscópicamente} los diversos estados de esta reacción. En el primer período de la reacción (coloración roja) se observa á cada extremidad de la zona verde del es-

(1) Beaunis y Adreco. *Elementi de fisiologia humana* pag. 349

pectro una banda de absorción que desaparece al pasar la coloración al azul; entonces se observa una ancha franja que se va estrechando progresivamente hasta quedar una sola franja angosta en el rojo entre ~~Ry~~ B y C, muy persistente cuando la coloración de la reacción á llegado al verde.

Reacción de Salkowski.- Si se disuelve la colessterina en cloroformo y se le agrega igual volúmen de ácido sulfúrico concentrado, la solución toma sucesivamente un color rojo, azul verde y por último se colorea de amarillo.

Si se trata la colessterina por el ácido sulfúrico y un poco de iodo, toma una coloración violácea, que pasa ~~al~~ al azul, verde y por último al rojo.

Si se calienta la colessterina con un volúmen de cloruro férrico y dos volúmenes de ácido clohídrico, se colorea en violeta y luego en azul.

Reacción de Denigés.- Se toma dos centímetros cúbicos de solución clorofórmica de colessterina y con la mitad de su volúmen de ácido sulfúrico de D 1.76 se agita enérgicamente medio minuto, si hay más de 0.30/1000 de colessterina, se observa enseguida la coloración rojo sangre de la reacción de Salkowski y fluorescencia del ácido subyacente á la capa clorofórmica. Se deja escor en la capa que sobrenada de una á tres

gotas de anhídrido acético, se agita ligeramente el tubo y se obtiene una espléndida coloración carmín, si se aumenta la proporción de anhídrido acético tiende al color violáceo.

Al espectroscopio, la coloración de la capa clorofórmica absorbe toda la región verde del espectro.

El espectro se modifica si se diluye con cloroformo el color carmín, queda una ancha franja de absorción que cubre parte del amarillo y la mayor parte del verde, otra raya fina menos perceptible cerca del azul y otra franja obscura que absorbe el principio del azul.

Otra reacción aconsejada por Iscovesca⁽¹⁾ es la de Tschugaief, que consiste en disolver la colesteroína en ácido acético, tratarla con algunos centímetros de acetilo y cloruro de zinc, se calienta durante cinco minutos en baño maría. La colesteroína se colorea de un rojo fluorescente. Esta reacción es sensible al 1/80,000.

Reacción de Hirschsohn.—Si se trata la colesteroína por una solución al 1/10 de ácido tricloroacético, se disuelven los cristales y se produce lentamente una coloración violada, la que se acentúa con el tiempo.

La reacción es más rápida en caliente y la coloración violada pasa al azul en las veinte y cuatro horas.

Podríamos citar otras muchas reacciones características de la colesteroína.

(1) Henry Isaacso. Dosage précis ou clinique de la Cholestérol
du sérum sanguin (Comptes Rendus de la Société de Biologie), séance
24 Février 1912. Pág. 318.

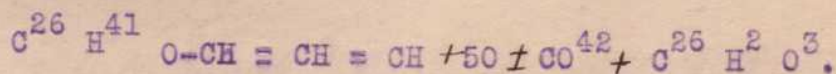
La colessterina dá productos de adición por fijación de cloro y de bromo, Los trabajos recientes de Molinari y Fenaroli suponen la existencia de una segunda doble cadena, la colessterina es capaz de fijar dos átomos de ozono.

La doble unión de cadena etilénica en la colessterina pertenece á una cadena lateral lineal donde ella ocupa la extremidad, como lo demuestran las propiedades del grupo vinilo así constituido. También se ha podido separar un grupo isocamylo en la fórmula de la colessterina.

(1) Diels y Abderhalden y sobre todo Windaus, han continuado el estudio de los derivados de oxidación de la colessterina, y debido á estos trabajos conocemos su constitución.

La colessterina cuya fórmula es $C^{27} H^{46} O$ oxidada á 280° - 300° por el óxido de cobre (Diels y Abderhalden) se transforma en acetona correspondiente: La colesstenona $C^{27} H^{44} O$ que no se diferencia de la colessterina que por la aparición de una función cetona en reemplazo de la función alcohólica.

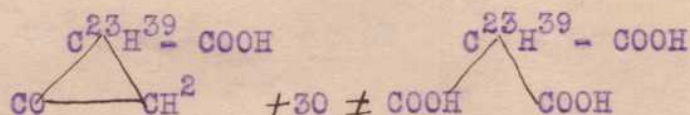
Tratada por el permanganato de potasio, la colessterina dá por oxidación un ácido monobásico $C^{26} H^{42} O^3$ que contiene un átomo de carbono menos que la colessterina (Windaus) poniendo en evidencia la posición terminal de la doble ligadura en una cadena lateral lineal:



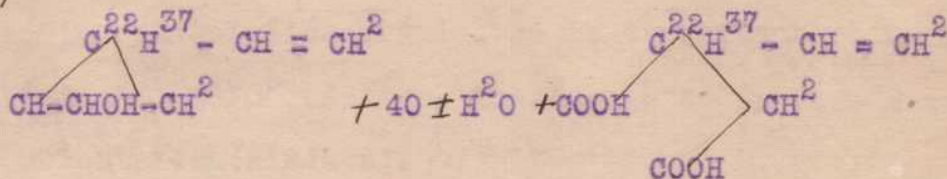
Por oxidación del ácido hipobromito de potasio el ácido mo-

(1) Diels y Abderhalden. - *Über Konstitution des Cholesterins*. I. Comunicación. *Bericht. d. d. Chem. Gesell.*, 1904

no básico anterior se transforma en un ácido tribásico del mismo número de átomos de carbono $C^{26}H^{42}O^6$ (Windaus). La coles-
terina posee luego una cadena cíclica encerrando el átomo de
carbono hidroxilado y donde por oxidación se ha provocado la
abertura.



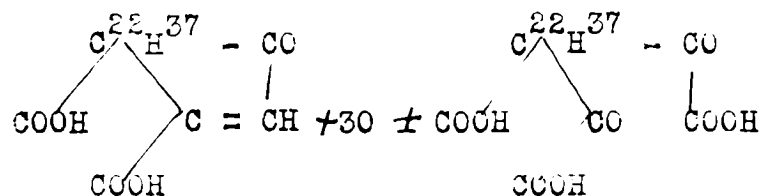
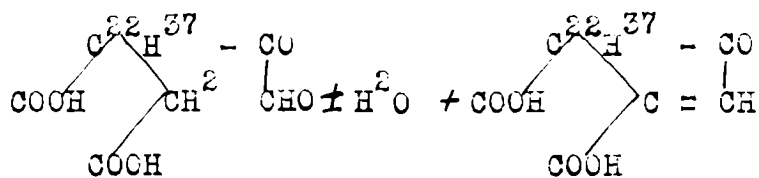
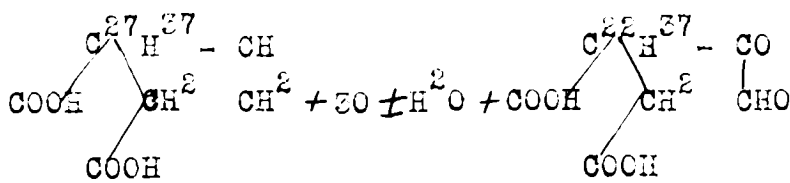
Por la acción directa del hipobromito de potasio sobre la
colesterina, se provoca la abertura de la cadena cíclica. Se ob-
tiene un ácido bibásico no saturado $C^{27}H^{44}O^4$ del mismo núme-
ro de átomos de carbono que la coles-terina. (Diels y Abderhal-
den) (1/)



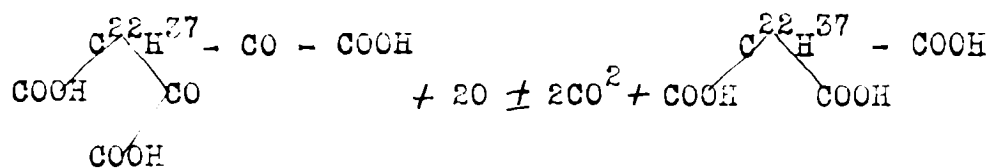
Este ácido oxidado por el permanganato de potasio se trans-
forma en la forma siguiente en dicetona tricarbónica $C^{27}H^{40}O^8$,
siempre del mismo número de átomos de carbono de la coles-teri-
na (Windaus). (2)

(1) *Loc. cit.*

(2) Windaus. - *Ueber das Cholesterin*, Chemisches, Berlin, 1909



Tratado este último ácido, por el ácido nítrico ó por el ácido crómico en solución acética se lo transforma en un ácido tribásico $\text{C}^{25} \text{H}^{40} \text{O}^6$, contiene dos átomos de carbono menos que la colesteroína (Windaus). (1)



Este ácido tricarbónico, que oxidado de nuevo por el ácido nítrico fumante cede una molécula de ácido oxisobutírico y se transforma en ácido $\text{C}^{17} \text{H}^{26} (\text{COOH})^4$ poniendo en evidencia la existencia de un resto isoamílico en la molécula de la

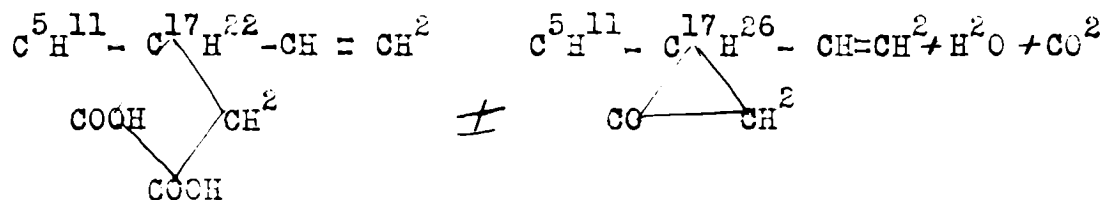
(1) *Loc. cit.*

colestonina.

En una nueva serie de investigaciones, representa el ácido dibásico $C^{27}H^{44}O^4$ que hemos visto, obtenido al provocar la abertura de la cadena cíclica por oxidación directa por medio del hipobromito de potasio.

Windaus consigue llevar más lejos la desintegración de la molécula de colestonina.

Es así que el ácido $C^{27}H^{44}O^4$ calentado á presión reducida á 280° - 300° dá una acetona cíclica $C^{26}H^{42}O$ por la reunión de dos radicales ácidos y eliminación de una molécula de agua y de una molécula de ácido carbónico (Windaus). (1)



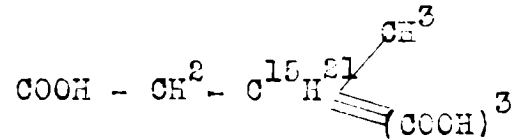
Por los trabajos de Blane y de Ascham se sabe que esta reacción es común á los ácidos pimélicos y adípícos donde los dos radicales ácidos ocupan respectivamente las posiciones 1-6 y 1-7.

Mucho más difícilmente se produce con los ácidos subéricos y no sucede más con los ácidos donde los grupos carboxílicos ocupan otras posiciones.

Se desprende de este hecho que la cadena cíclica de la co-

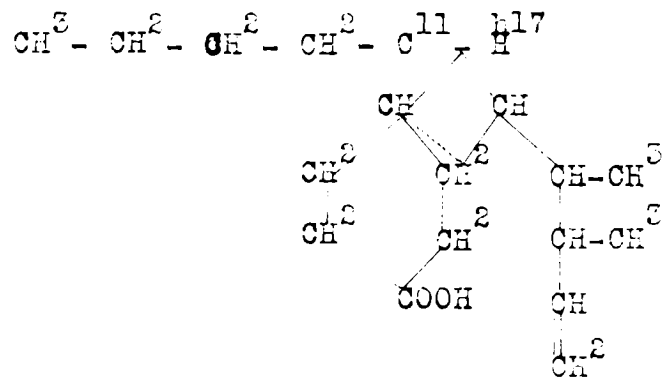
(1) *Loc. cit.*

Este ácido tetracarbónico oxidado por el ácido sulfúrico y el permanganato de potasio abandona una molécula de ácido acético, demostrando la existencia de un grupo metilo en su molécula (Windaus). Se puede representar su constitución por el esquema siguiente:



Gracias á este trabajo se pueda situar la doble ligadura etilónica y el resto oxidrilo en la molécula de la colesteroína.

La siguiente fórmula propuesta por Windaus resume el conjunto de nuestros conocimientos actuales sobre la fórmula de la constitución de la colesteroína.



(Windaus 1912)

La colessterina sufre ya una cierta oxidación en los tejidos por lo que deja de ser un producto muy estable, se encuentra en el organismo una pequeña cantidad lo que Lifschütz llamó las oxicolessterinas ⁽¹⁾ pero estos compuestos todavía nos son poco conocidos del punto de vista químico.

Estos productos nacen por la influencia de medios los más variados (permanganato de potasio ebullición prolongada de la colessterina con soluciones alcohólicas de potasa ...) se caracterizan por la coloración que desarrollan por una mezcla de ácido acético y ácido sulfúrico (reacción Lifschütz). Algunos miligramos de oxicolessterina disuelta en el ácido acético y adicionada de ácido sulfúrico concentrado, dá una coloración rojo amarilla que toma rápidamente verde intenso y luego después de diez á quince horas pasa al pardo amarillo.

Por medio del espectroscópio se pueden diferenciar las diversas oxicolessterinas de la solución verde.

Lo más amenudo se observa una raya única en el rojo entre C y D, acompañada ~~á~~ a veces de una banda entre D y E; más raramente aparece una raya en el azul ó el verde del espectro (Lifschütz).

Ni la colessterina como tampoco la isocolessterina dan esta reacción.

Lifschütz hace el dosage de oxicolessterina por medio de la reacción espectroscópica.

(1) Lifschütz L. - Oxicolessterine, Deuts. chem. Ges. 1908 pag. 252.

Parece que los diferentes derivados de oxidación de la co-
lesterina existen en la sangre y en los órganos pero faltan
por completo en el hígado y en la bilis.

Otro producto de reducción de la colessterina es la coproste-
rina, que toma nacimiento en el intestino por la influencia re-
ductora de bacterias.

En el meconio, como en el intestino de los animales en hiber-
nación la colessterina no está transformada en ~~coprosterina~~ co-
prosterina, tampoco se encuentra la coprosterina en las mate-
rias fecales al cabo de un cierto tiempo de un régimen lácteo
puro.

Lifschütz oxidando el ácido oleico por el permanganato de
potasio ha realizado una especie de síntesis de la colessteri-
na, en este sentido obtuvo un cuerpo que se comportaba como la
colessterina ó sus derivados inmediatos en presencia de la reac-
ción de Liebermann. Era una substancia grasosa amarilla que di-
suelta en el anhídrido acético y tratada por el ácido sulfúri-
co, dá la reacción de Liebermann con las coloraciones verdes y
las bandas de absorción características de la colessterina. Di-
suelta en el cloroformo con ácido sulfúrico dá la reacción de
Salkowski en la misma forma que la colessterina.

Con ese solo hecho no se puede afirmar que el ácido oleico
por oxidación se ha transformado en colessterina, pero dá cierta
base a; la hipótesis de la formación de la colessterina á

expensas de las grasas.

El ácido tricloroacético fundido dá una reacción muy vecina como coloración y como espectro de la reacción hecha en las mismas condiciones por la colessterina (reacción de Tschugayew).

Por el carácter químico la colessterina se acerca á otro grupo de substancias en el organismo: el ácido colálico, ó en una forma más general al núcleo ácido de diferentes sales biliares.

Abderhalden ⁽¹⁾ hace notar esta analogía entre las dos substancias, comparando la fórmula química de la colessterina que habíamos expuesto en la fórmula desarrollada en el ácido colálico.

Ese parentesco químico, no solamente por las reacciones coloreadas comunes á dos cuerpos, se evidencia, sinó tambien por la semejanza de sus productos de desdoblamiento.

Rendtenbacher es el primero que hace notar este hecho. Tratada la colessterina en ciertas condiciones por el ácido nítrico, se obtiene una substancia de todo punto comparable á la que dá el ácido coloidínico tratado en la misma forma.

A esta substancia ácida, amarilla y amorfa, caracterizada por su combinación definida con sales de plata le dá el nombre de ácido colestérico.

Más tarde Schlieper, Gundelach y Strecker han preparado el ácido colestérico partiendo del ácido colálico de la bilis de

¹⁾ ~~hux~~

(1) E. Abderhalden. - Handb. der Biochem. Arbeitsmethoden. Lomo III

buey y del ácido hyocólico de la bilis del chanchó.

Labschinoff llega á la misma conclusión, en contrando los mismos productos de oxidación y sensiblemente en la misma proporción, afirmando que el ácido colálico no se diferencia del ácido colestérico que por grado de hidratación.

Tappeiner que es el que más ha estudiado el ácido colestérico de Reitenbacher demuestra que el ácido colestérico está formado por la mezcla de dos ácidos; el uno perfectamente cristalizado en pequeñas agujas que responde á la fórmula $C^{12}H^{16}O^7$ conservando el nombre de ácido colestérico; el otro cuya fórmula es $C^{11}H^{16}O^5$ amorfo y deriva del anterior por la pérdida de anhídrido carbónico por la influencia del calor: es el ácido pirocolestérico, por consiguiente para obtener el ácido colestérico cristalizado es necesario operar á baja temperatura.

Labschinoff y luego Clève no podían encontrar el ácido colestérico en la forma descripta por Tappeiner, continuando su estudio lo considera como isómero, sinó idéntico al ácido alcanfórico un derivado del alcanfor, dando el nombre de ácido colealcanfórico y atribuyéndole la fórmula $C^9H^{12}O^6$ ó $C^9H^{12}O^5$.

Más tarde Weyl insiste sobre el hecho de que el ácido colálico, la ~~esencia~~ ^{esencia} de trementina y el alcanfor dan lo mismo que la colesticina la reacción de Schiff. Cuando se evapora al fuego en una cápsula de porcelana una mezcla de coles

terina, ácido clorhídrico y algunas gotas de una solución concentrada de cloruro de zinc, se obtiene una coloración rojiza que pasa al violeta, después al azul.

Esta reacción que sirve para caracterizar la colestevina y que á Weyl le permite caracterizar los cuerpos anteriores y también para los hidrocarburos terpénicos derivados de la colestevina, ponen de manifiesto los lazos que unen la colestevina con el ácido colálico.

Esta serie de trabajos permite pensar que ^{la} colestevina por su fórmula sus productos de desdoblamiento y sus reacciones, es el cuerpo del organismo más próximo al ácido colálico y á los ácidos biliares homólogos.

Sobretudo el parentesco de estos cuerpos con la colestevina se hace más evidente después de los trabajos de Hammarsten que descubrió en el organismo de los *slacios*, las sales biliares están directamente representadas por los éteres sulfúricos de alcoholes homólogos á la colestevina.

P A R T E B I O L Ó G I C A

ORIGEN de la COLESTERINA en el ORGANISMO

Muchas fueron las hipótesis emitidas para explicar el origen y el objeto de la colesteroína en el organismo.

Los estudios experimentales de Iscovusco, Guy Larroche, Grigaut, Chauffard etc. demuestran que la colesteroína que se encuentra en el organismo tiene dos orígenes, el uno exterior ó exsógeno proveniente de la alimentación (animales y vegetales) y el otro de origen endógeno formado en el interior del organismo, pero no se sabe todavía en qué tejidos y con qué materias se forma, tampoco se sabe á ciencia cierta si ciertos órganos ricos en colesteroína, como las cápsulas suprarrenales, los cuerpos lúteos del ovario, el hígado y en particular el cuerpo amarillo, son productores de colesteroína ó solamente depósitos.

De todo esto se deduce que fuera de su origen alimenticio, debe ser considerado como producto de una secreción interna.

Estas ideas no han sido aceptadas unánimemente.

Carpenter considera la colesteroína como producto de desintegración de la substancia nerviosa destinada á ser eliminada del organismo.

Para Lehmann la colesteroína se forma en el organismo por la oxidación de grasas.

Dalton cree que la colessterina tiene su origen en el cerebro y nervios, donde es recogida por la sangre para ser transportada por el hígado y eliminada por la bilis.

Pero estas son hipótesis sin apoyo de ninguna experimentación, recién Flint⁽¹⁾ en el año 1862 enuncia en la forma siguiente el origen y la evolución de la colessterina en el organismo: «La colessterina es producto de excrementación, formado en gran parte por la desasimililación del cerebro y de los nervios, separado de la sangre por el hígado, vertido en la parte superior del intestino delgado por la bilis, transformado durante su pasaje á través del tubo digestivo en estercofina y eliminado por el recto al estado de tal.» Esta teoría se apoya en la experimentación.

Flint ha hecho dosages de colessterina en la sangre extraída á perros en diferentes regiones del organismo. De estas experiencias ha sacado las conclusiones siguientes; ~~las~~

La sangre de la vena yugular y de las venas periféricas contiene más colessterina que la sangre de la carótida; y que por el contrario la sangre de la vena supra hepática contiene menos colessterina que la sangre de la vena porta.

La sangre atravesando el territorio nervioso se cargaría de colessterina mientras que perdía al atravesar el hígado.

Estas experiencias han sido refutadas por Grigaut y Larroche que repiten las experiencias de Flint en catorce perros

- (1) Flint et. - American Journal of Med. Sciences 1862
 (2) A. Chaffard, Guy Larroche et A. Grigaut. Recherches sur l'origine de la Cholesteroline biliaire (Comptes Rendus & la Société de Biologie), séance du 19 Mars 1913, pag. 1007.

en ayunas ó en estado de digestión, anestesiados por el cloral morfina ó nó, llegan á la conclusión que el suero de la sangre proveniente de los diversos territorios del organismo contiene la misma cantidad de colessterina.

Flint tuvo el mérito de aislar de las materias fecales una substancia que la llamó estercorina y que es idéntica á la que Bondzynski y Humnicki han estudiado después con el nombre de coprosterina.

La hipótesis de una simple secreción de la colessterina tampoco puede ser admitida, el hígado elimina más colessterina por día de lo que contiene la bilis.

Kausch, Thomas, y Jankau han demostrado que la tasa de la colessterina de la bilis no aumenta por la influencia de ingestión ó inyección de colessterina, más tarde Goodman confirmó el hecho, como también en el curso de la ictericia el contenido en colessterina de la bilis que corre directamente en los canales hepáticos no varía senciblemente á pesar de las cifras á veces elevadas que se encuentra la colessterina en la sangre.

Goodmann demostró que la tasa de colessterina en la bilis es bastante independiente de la riqueza en colessterina de la alimentación; aumenta por el contrario por la ingestión de alimentos ricos en materias albuminoideas. Así se obtiene resultados iguales con substancias de diferente riqueza en colessterina p.ej. suministra cerebro de vaca hemáticas y clara de huevo,

pero inyectando colessterina en la sangre no pudo aumentar la tasa de la colessterina biliar; de ahí deduce que el aumento de la colessterina en la bilis es debida en esas experiencias á la acción exito-secretriz biliar ejercida por los albuminoides.

Debido á esta independendencia entre la colessterina de la sangre y la colessterina de la bilis Naunyn opina que la colessterina biliar no puede ser considerada como una secreción hepática. Para él la colessterina es directamente secretada por el epitelio vascular y que no se trata de una secreción específica del hígado; todas las mucosas en vías de ~~exfoliación~~ descamación se comportan en la misma forma. Según estas investigaciones la colessterina contenida en las células biliares bajo forma de masas de mielina, cae en la cavidad biliar con el epitelio descamado y se liberta enseguida de la célula.

Chauffard, Larroche y Grigaut haciendo estudios experimentales en los perros admiten que la colessterina y las grasas que contiene la bilis son debidas á una secreción epitelial de los canalículos biliares en el nacimiento de estos últimos y en la vecindad de esas células hepáticas.

Los trabajos últimos de Grigaut y Troisier parecen demostrar el origen de la colessterina en la cápsula suprarrenal.

Para Chauffard, Guy Larroche y Grigaut la alimentación tiene un papel secundario en la génesis de la colessterina y la

(1) A. Grigaut et G. Larroche. Sur l'origine de la Cholestérine et la valeur de la théorie de Flint (Comptes Rendus de la Société de Biologie), séance du 26 Octobre 1911, Paris; pag. 414.

mayor parte de esta substancia, proviene de una formación de colessterina al nivel de las glándulas suprarrenales y accesoriamente el cuerpo amarillo.

Debido á un hiper funcionamiento de las cápsulas suprarrenales se debe la hiper colessterinemia de las gravídicas, hipnóticos y las infecciones en el período de convalescencia. Mientras por el contrario la caducidad de este órgano trae la hipo colessterinemia.

El cuerpo amarillo contribuye también abundantemente á la colessterinogénesis y bajo este punto de vista viene á reforzar la acción de las glándulas suprarrenales durante los primeros meses de gestación.

Por sus propiedades físicas y químicas como tambien por los estudios micro químicos en los tejidos, se ha llegado á conocer que la colessterina no se encuentra en estado normal circulando libremente en los líquidos orgánicos, sino bajo forma de éteres colessterínicos por la combinación con los ácidos grasos, éstos éteres se encuentran siempre en el plasma sanguíneo pero su cantidad es variable aumentando generalmente al comienzo de la digestión y luego vá disminuyendo paulatinamente, lo mismo sucede con las combinaciones albuminoideas de la colessterina llamadas por Grigaut proteo-colestéridos.

Widal Weill y Laudet (1) han encontrado solamente en dos casos patológicos (icterias por retención) la colessterina libre en

(1) Widal, Weill y Laudet. - Etude comparative des teneurs de la cholestérine libre et de ses éthers. Soc. Biol. pag. 882

~~XXXXXXXXXX~~ el suero .

Función biológica :Respecto al papel que en biología tienen los lípidos y en especial la colesteroína se está aún lejos de haber dicho la última palabra, pero su importancia resalta de la cantidad de trabajos que ellos han originado.

Ante todo la ubicación en el organismo viviente es una prueba de su importancia.

Existen en la membrana de la envoltura de las células;preciden por consiguiente los cambios nutritivos más íntimos, la vida de esos pequeños elementos celulares depende probablemente del estado de ellas; la influencia sobre la vida total de los organismos superiores es bien evidente; su intervención en los fenómenos nutritivos la hace desempeñar un papel preponderante.

La acción de las sales sobre las células tiene probablemente como punto de ataque los coloides lipídicos de la membrana de la envoltura.

La inmersión en soluciones salinas de fragmentos de tejidos, órganos, organismos enteros hace que estos experimenten modificaciones importantes.

Los tejidos han sido asimilados a *soluciones coloidales*-Las soluciones coloidales son modificadas en su estado físico por la adición de sales.

Comparando la acción de las sales sobre los coloides en vi-

tro y la de las sales sobre los tejidos, hay semejanzas extraordinarias, lo que ha permitido ^{reemplazar} la una por la otra; se ha concluido por homologar la acción fisiológica de las sales á una acción físico química sobre los coloides de la célula.

Para darse cuenta de estos fenómenos es necesario estudiar

1º La acción de las sales tomadas aisladamente

2º La acción de las mezclas de sales como se

las encuentra en los líquidos del organismo.

Acción de las sales tomadas aisladamente. - La experimentación se hace tomando soluciones salinas de intensidad variable y haciéndolas actuar sobre el estado físico de los coloides en vitro, por una parte y sobre la contractibilidad muscular, excitabilidad nerviosa por otra parte.

Así soluciones de colessterina en presencia de sales de Li - Na - K - NH⁴, sulfatos, cloruros, nitratos, bromuros, se observa que el poder precipitante tiene para los aniones en el orden siguiente - SO⁴ > Cl > NO³ > B > y para los cationes en el orden siguiente Li > Na > K > N(NH⁴) >. Esto es comparable á la siguiente experiencia fisiológica:

Se coloca un músculo de rana en una solución no electrolita (solución de glucosa, leche etc.) isotónica con el tejido muscular y se constata que al cabo de un tiempo pierde su contractibilidad, si se lo lleva ahora á una solución salina (sal marina) isotónica recupera nuevamente su contractibilidad. La sal marina puede ser reemplazada por otros metales pero menos eficazmente, encontrándo-

se aquí un nuevo orden en su valor efectivo, que el encontrado más arriba, sobre el valor de los iones ^{en} ~~sobre~~ los coloides.

Lo mismo sucede con un nervio de rana que pierde su excitabilidad en una solución de azúcar; la recupera y las soluciones se siguen sensiblemente en el mismo orden de eficacia.

En resumen se explica así la acción de las sales sobre los coloides por una actuación físico-química que explicaría á su vez la acción fisiológica de las sales sobre los tejidos. La acción tóxica, sobre todo aquella que se verifica sobre los bacterios es explicada por una acción sobre los coloides.

El poder antiséptico depende de los iones libres, en el caso de bicloruro ^{de Hg,} el mercurio cuanto menos disociado se encuentra este es menos tóxico. La acción coagulante que la mayor parte de los antisépticos ejercen es función no de la sal total, sino del ión libre, entonces el poder antiséptico es debido á su acción coagulante.

Acción de las mezclas de sales. - Para colocarse en las mismas condiciones ó semejantes, á los que se encuentran en el organismo es necesario actuar no con una solución de un cuerpo sino de una serie de cuerpos, ~~sino de una serie de cuerpos.~~

Por tanteos se ha llegado á formular soluciones que tienen la propiedad de conservar la estabilidad y funcionamiento de los órganos por largo tiempo; por ejemplo, la contractibilidad muscular, excitabilidad nerviosa, los movimientos peristálticos del intestino.

Las diversas sales en solución ~~se~~ parecen tener un efecto cinérgico, y actúan indudablemente en una forma mas intensa.

Función del hígado en la eliminación de la coles-
terina del organismo.-La coles-
terina del organismo es eliminada normalmente pe
por el hígado. Por consiguiente de una obstrucción de este órgano
ó por una disminución en su función secreto excretiz biliar, la
coles-terina se acumula en ex^eso en el organismo y de ahí resulta
la hipercolesterinemia por retención.

No es al estado de coles-terina, pero en su mayor parte en forma
de un producto de transformación; el ácido colálico; que la coles-
terina es eliminada por el hígado. (Grigaut) (1)

La coles-terina contribuye de este modo á la formación del núel
cleo de las sales biliares.

El ácido colálico que se forma en el hígado á expensas de la co-
les-terina, representa el producto principal de la eliminación de la
la coles-terina por el organismo.

Esta concepción de la transformación en ácido colálico, al nivel
del hígado de una prporción importante de coles-terina que se eli-
mina del organismo; una de sus consecuencias de la retención de la
coles-terina, cuando la función secretoexcretiz biliar se atenúa y
la coles-terina se acpmla en el organismo, debe ser la disminución
de la producción de ácido colálico por la bilis. Se observa en e-
fecto que eso es lo que ocurre.

La cantidad de sales biliares que conriene el roganismo normal-

(1) A. Grigaut. - Le cycle de la Cholesterinemia, Paris 1913,
Pag. 55.

mente es de ocho á diez gramos, esta cantidad disminuye considerablemente en los estados ictericos á cifras que bajan á unos cuantos decigramos.

No se puede pensar que esta disminución se debe á la destrucción de sales biliares, porque las sales biliares introducidas en la sangre de animales, se vuelven á encontrar siempre integralmente en el organismo (Leyden Stadelmann) sino á una disminución de producción de ácido colálico por la causa anteriormente citada.

La hipercolesterinemia por retención y disminución de producción de ácido colálico son ^{así dos} ~~estados~~ estados conexos ocasionados por una sola y misma causa; el defecto de la eliminación de la colesteroína por el hígado.

Con raras ~~excepciones~~ excepciones la hipercolesterinemia se observa en aquellos organismos que transitoria ó permanentemente se encuentran en un estado de mayor vulnerabilidad con respecto á los agentes patológicos. Interesante es averiguar si sujetos ó animales clínicamente sanos, presentando hipocolesterinemia, (descontando toda influencia de origen alimenticio) ofrecen una mayor receptividad hácia los agentes patológicos.

El rol de defensa que desempeña la colesteroemia y en general los lipoides parece hoy estar bien determinado. Por otra parte la importancia que á ellos se asigna en la composición de las membranas celulares hace que necesariamente precidan las funciones íntimas de la vida como son los intercambios nutritivos produci-

dos á nivel de los elementos anatómicos más ínfimos.

Los tegumentos de los animales superiores pueden ser considerados, como recubiertos enteramente por un barniz en el cuál entran en gran parte la colessterina y sus éteres.

Las substancias medicamentosas, toxinas microbianas parecen actuar sobre los elementos celulares por su solubilidad en las membranas lipóidicas,

Es á Overton⁽¹⁾ á quién se deben las adquisiciones hechas por la ciencia á este respecto (la permeabilidad celular debida á la solubilidad en los lipoides).

Como se puede ver por las experiencias anteriores.

Para el caso particular de los narcóticos, cloroformo éter, es el cerebro rico en lipoides en donde se fija más el narcótico; y más en la substancia blanca que en la gris por tener la primera una cantidad más elevada de lipoides.

Anotemos de paso, como consecuencia lógica, que el hígado graso cargado de lipoides, será un magnífico absorbente de narcótico, el que indudablemente aniquilaría el alto valor funcional de la célula hepática: de este modo se aclararía las muertes post-clorofórmicas inmediatas á la operación y aún alejadas pues es verosímil suponer que un exceso de cloroformo, éter, pudiera imprimir á la célula hepática desviaciones patológicas incompatibles con la vida.

Como consecuencia práctica averiguar en los que ván á ser anesteciados, si el hígado se encuentra en tal estado.

(1) Overton. - Studien über die Narkose. Luca, 1901

Entre los lipoides, la colessterina ha sido bastante bien estudiada en su rol antihemolítico; protege de una manera eficaz los glóbulos rojos contra las hemolisinas ya sean químicas ya producto de elaboración celular; ciertas especies animales poseen glóbulos rojos más ricos en colessterina que otros lo que ha permitido hacer experiencias concluyentes; se ha pretendido aprovechar esta propiedad de la colessterina para el tratamiento de algunas anemias, aunque según parece sin resultado apreciable.

La colessterina ejerce también un rol protector contra las toxinas bacterianas, ⁽¹⁾ la bilis por ejemplo neutraliza la toxina tetánica; otros lipoides la lecitina, sobretodo tendría una importancia grande en la resistencia del organismo á la infección tuberculosa.

Los fenómenos de nutrición íntima, estudiados sobretodo con las substancias minerales han demostrado que la acción fisiológicas de estas substancias es una resultante de fenómenos físico-químicos ejercidos sobre los coloides celulares.

La ~~acción~~ acción antiséptica de las sales está bien explicada por los fenómenos coagulantes que se ejercen sobre los coloides celulares.

(1) Gerard y Lemoine. - Congreso de Medicina de París; Octubre 1907.

- LA COLESTERINA EN ALGUNOS ESTADOS PATOLÓGICOS -

La tasa de la colessterina sufre grandes modificaciones en algunos estados patológicos, son estados mórbidos caracterizados por cantidades anormales de colessterina produciendo trastornos en el organismo, alcanzando en algunos casos como en las nefritis crónicas cifras enormes que llegan á 15 gr. por litro de suero.

Estos estados mórbidos pueden caracterizarse ya sea por un aumento (hipercolesterinemia) ó por una disminución (hipocolesterinemia) de la tasa normal de colessterina.

Se ha constatado una hipocolesterinemia en el período agudo de las infecciones (Chauffard, Grigaut);⁽¹⁾ en la tuberculosis febril especialmente en sus formas graves (Chauffard Grigaut); en algunos casos de diabetis (Bachmeister).⁽²⁾

Chauffard atribuye la hipocolesterinemia al desgaste de la colessterina combinada, la que puesta en libertad de sus combinaciones se acumularía en sitios determinados (Xantelasma, Ateroma-aórtico, Caseum de los tuberculosos), esa colessterina precipitada sería la que faltando en la circulación produciría la hipocolesterinemia en los estados infecciosos febriles.

En las ictericas emolíticas adquiridas, la hipocolesterinemia constatada por Oulmont y Boidin ~~está~~ asociada con la disminución ~~independiente de la~~ de la resistencia globular, como la hipercolesterinemia asociada á la resistencia globular observa

- (1) Chauffard Grigaut. - Evolution de la colessterinemie au cours des infections aigues. C. R. Soc. Biologie. Dec. 1911.
 (2) Bachmeister. - Deutsch. med. u. Wochenschrift 1913
 (3) Oulmont, Boidin. - Presse Medicale Juin 1912 pag. 525.

da en otros ictericas, de ahí han podido deducir ~~en~~ un estudio comparativo entre la tasa de la colessterina y la resistencia globular.

Chauffard que ha demostrado el gran interés que presenta el estudio de la colessterinemia en patología humana, había indicado con sus colaboradores Larroche, ~~Urbain~~ y Grigaut que en las ictericas emolíticas la tasa de la colessterinemia no aumenta como sucede con las ~~ictericas~~ ictericas por retención.

Por otra parte un gran número de biólogos han demostrado que la colessterina es un gran agente ~~antihemolítico~~ ⁽¹⁾ antihemolítico. Presenta ~~esta~~ esta propiedad en presencia de numerosas sustancias hemolizantes las unas vegetales: Saponina, agaricina, solanina; otras animales: veneno de cobra; otras bacterianas: tetanolisina; otras químicas: jabones; y otras físicas: agua destilada.

Este poder antihemolítico y antitóxico de la colessterina se debe á que ella se combina con esas sustancias hemolizantes, Ramson explica la acción hemolítica de la saponina, precisamente por la afinidad que tiene con la colessterina; pues apoderándose de la colessterina de los glóbulos rojos, permitiría que estos elementos habiendo perdido la colessterina que los protegía (resistencia globular) se hidrolizen.

El poder antihemolítico de la colessterina sería una neutralización química.

En las ictericas por retención, la colessterina se acumula en la

(1) Henry Lecroquis. - Les lipides du sang; la Cholesteroline; pouvoir antihémolytique. (Mémoires de la Société de Biologie), séance du 11 Avril 1908 Paris; pag 677.

sangre y probablemente debe su resistencia globular que se observa en este caso, contrariamente lo que pasa con las ictericias de origen hepático donde no hay acumulación de colesiterina, donde la resistencia globular es normal ó disminuida.

A esas ictericias por retención de origen hepático y la fragilidad globular que presentan ofrecen un campo propicio para el estudio de las relaciones de la resistencia globular y de la tasa de la colesiterinemia.

(1), Oulmont y Boidin, han podido mediante un régimen rico en colesiterina corregir la fragilidad globular y alzar la tasa de la colesiterinemia pero con resultados pasajeros, demostrando el paralelismo que existe entre la resistencia globular y la tasa de la colesiterina.

Se observa hipercolesiterinemia; en el estado de embarazo y el puerpérico (Chauffard Klinkert).

Pierre Mauriac ha constatado que la hipercolesiterinemia es la regla general del comienzo hasta el fin del embarazo. Se nota desde el primer mes y se acentúa en el segundo, del tercer mes al cuarto, la cifra de la colesiterina disminuye, el mínimun se nota del cuarto al quinto mes donde se aproxima á la tasa normal.

A partir del quinto mes la colesiterina de la sangre aumenta progresivamente; del quinto al noveno mes se mantiene arriba de dos gramos por litro de suero siendo la máxima en estado normal de 1,80 gr. Aproximándose al término la cifra de la colesiterina baja á menudo hasta el nivel ó por debajo de la tasa normal.

(1) Loc. cit.

(2) Pierre Mauriac. - Les effets de la saignée sur la cholestérolémie. C. R. Soc. Biologie, año 1912

Esta hipercolesterinemia parece destinada subvenir las necesidades del feto á la vez que luchar contra las intoxicaciones consecutivas á la gestación y á la parturición.

Las infecciones (tuberculosis, sífilis) pueden modificar considerablemente la colessterinemia ~~gravidica~~ gravídica.

Tambien se nota una hipercolesterinemia muy acentuada en la nefritis crónica (Chauffard, Widal, Weill y Laudet)⁽¹⁾; esa hipercolesterinemia puede alcanzar cifras superiores á 15 por mil. La tasa de la colessterina evoluciona en razón inversa á la tasa de la azotemia.

La hipercolesterinemia de los ictericos parece diferente del punto de vista de su génesis á la hipercolesterinemia de los nefríticos.

Esta diferencia se nota tambien en el orden químico. Se vé en efecto hipercolesterinemia de los brighticos acompañada de una lipemia en relación con la cifra de la colessterina y el suero cargado de colessterina presenta el aspecto muy lactesente.

Mientras que en los ictericos el enfermo puede presentar una cifra muy elevada de colessterinemia sin que el suero presente ese aspecto laetescente, la supra-renal no presenta el aspecto de órgano en hiperfuncionamiento, como sucede en los brighticos que reconoce como causa la supra-renal.

Se observa tambien hipercolesterinemia en la arterio-esclerosis y especialmente en sus localizaciones renales (Klinkert) en las

(1) Widal, Weill y Laudet. - La lipemie des brightiques. *Semaine medicale*, Nov. 1912.

enfermedades agudas durante el período de defervescencia y la convalescencia (Chuaffard, Larroche Grigaut)⁽¹⁾; En las icterias por retención y en la litiasis biliar; en el alcoholismo crónico (Ducceschi y Barilarí).⁽²⁾

Por los resultados que han obtenido estos señores en sus experimentos, llegan á la siguientes conclusiones;

" Que los individuos que abusan de las bebidas alcohólicas se encuentra en general un aumento de la colessterina en el sangre, con relación á los sujetos abstinentes ó muy moderados."

La hipocolesterinemia que acompaña á alguno de estos procesos coincide con el período de menor resistencia del organismo, mientras que la hipercolesterinemia se instala en el momento en que el organismo se inmuniza y lucha contra la infección.

En los estados infecciosos como la fiebre tifoidea, la tasa de la colessterina sube gradualmente á partir del tercer septenario, mostrándose estrechamente relacionada con la aparición en el suero de las reacciones de inmunidad (Rousand y Cabanis)⁽³⁾. En los casos de perforación intestinal vuelve á descender bruscamente por debajo de la normal. En cambio, los estados que se caracterizan por una disminución constante de las defensas antitóxicas, como la tuberculosis, es acompañada de una marcada ~~xx~~ hipocolesterinemia.

El rol de defensa que desempeña la colessterina en el organismo es pues evidente.

Hipercolesterinemia alimenticia que sobreviene después de un ré

(1) Loc. cit.

(2) V. Ducceschi.- La Colesterinemia en la intoxicación alcohólica «La Prensa Médica Argentina» 1944 pag. 153, n.º 12

(3) Rousand y Cabanis. Presse Médicale. Mars 1913 p. 197.

gimen rico en grasas y en colessterina, es transitorio. El organismo destruye más colessterina por día lo que aporta la alimentación.

Variaciones fisiológicas de la colessterina.—La alimentación desempeña un papel importante en las variaciones fisiológicas de la colessterina, suministrada con los alimentos, desaparece en parte durante la travesía digestiva y es absorbida por el intestino.

(1) Doreé y Gardner habían notado en los conejos á los cuales les suministraba colessterina con la ~~nutrición~~ nutrición, una desaparición del 50% de esta colessterina durante la travesía digestiva, y su pasaje consecutivo en el organismo. Klein pudo también notar en el perro una absorción media de 1,10 gr. de colessterina sobre 2 gr. suministrados con la alimentación.

Una prueba del pasaje de la colessterina del intestino en la sangre, es la propiedad que posee de impedir la hemólisis por la saponina.

Estudiando el suero de los conejos sometidos á diferentes regímenes alimenticios Gardner y Fraser ~~constatan~~ constatan que no solamente la colessterina y sus éteres injeridos con la alimentación aumenta el poder antihemolítico del suero, pero que también la phytosterina posee la misma propiedad.

Los trabajos de Fraser y Gardner tienden á demostrar que la phytosterina absorbida por el organismo aparece igualmente en la sangre al estado de colessterina. Alimentando conejos durante seis á

- (1) Doreé y Gardner.— Parte I-II-III. Proceeding of Royal Society 1908-1909.
 (2) Fraser y Gardner.— Parte V. Proceeding of the Royal Society of London 1909.

días, con salvado, avena, trigo, y un poco de phytosterina no ha podido caracterizar ni vestigios de esta substancia.

El hombre sufre también la influencia alimenticia en la tasa de la colessterina.

La influencia que tiene la alimentación sobre la colessterinemia se puede ver por la comparación de la tasa de colessterina del suero en los diferentes mamíferos.

Por el cuadro siguiente debido á Grigaut se observa que la colessterina es tanto más mercada en una especie animal, cuanto su régimen alimenticio es más rico en colessterina ó en grasas.

Tasa media comparada de la colessterinemia en los mamíferos.
(Grigaut)

	Cantidad de animales examinados	Tasa media	Límites extremos
Ratas.....	8	0,35	0,24-0,45
Cobayos.....	10	0,40	0,22-0,50
Conejos.....	28	0,45	0,18-0,85
Ovinos.....	46	0,65	0,50-0,93
Equinos.....	43	0,80	0,48-1,40
Porcinos.....	48	1,00	0,38-1,60
Bovinos.....	52	1,30	0,40-2,30
Hombre.....	--	1,60	-----
Gato.....	8	1,50	0,90-2,50
Perro.....	46	1,95	1,30-2,30

Las cifras más altas corresponden á los carnívoros y las más débiles á los roedores. El hombre ~~sufre~~ también la influencia alimenticia (Widal, Laudet y Weill) han obtenido mediante un régimen alimenticio rico en grasas ó en colessterina aumentar la tasa de ~~x~~ 1,20 gr. á 1,80 gr. á dos ó más gramos.

Grigaut haciendo experimentos con perros á los cuales alimentaba con sustancias ricas en colessterina llega ~~xx~~ á las siguientes conclusiones: que la hipercolesterinemia alimenticia es posible pero no obligatoria. A la alimentación hay que agregar otro factor que es el individual que cualquiera que sea su régimen alimenticio no puede sobre pasar la colessterinemia un cierto límite.

El exceso de colessterina no es absorbido por el tubo digestivo.

Esa hipercolesterinemia que se observa es transitoria, y se reduce tan pronto se modifica el régimen alimenticio; contrariamente lo que sucede con las hipercolesterinemias patológicas las que no se reducen ó son reducidas muy lentamente.

(1) Rouzand y Cabanis han demostrado que el equilibrio colessterínico no está alterado por la marcha, ni tampoco por el sueño.

Examinando nueve sujetos sometidos á una marcha de veinte á ~~xx~~ treinta kilómetros sin descanso alguno, pero no habiendo sufrido fatiga, no han constatado ninguna variación sensible en su tasa de colessterina como tampoco el sueño sin pesadilla no tiene ninguna acción~~s~~ sobre la colessterinemia.

Se observa amenudo que ciertos sueros después de la coagulación y decantación mantienen un enturbiamiento sub-lactescente; ese enturbiamiento cuando se trata de personas normales, es debido á que

(1) Rouzand y Cabanis.- Influence Des la marche et du sommeil sur la cholesterinémie. C. R. S. De Biologie Mars. 1913

la extracción de la sangre ha sido hecha en el momento de la hipercolestrinemia alimenticia, estado transitorio que desaparece tan pronto termina la asimilación.

Lo mismo se observa en el suero de muchas mujeres en estado grávidico en épocas que se acercan al parto presentan ese aspecto sublactescente, debido á la hipercolesterinemia tan acentuada durante ese período.

Esa sub-lactescencia no se puede atribuir á la colessterina libre, por que la centrifugación prolongada no la sedimenta, ni tampoco los disolventes comunes de la colessterina como el éter cloroformo no clarifican el suero, porqué esos disolventes solos no actúan sobre las combinaciones de la colessterina, es necesario hidralizar previamente el suero antes de su extracción, como se hace en los procedimientos actuales de dosages.

Por las propiedades físicas y químicas como tambien por los estudios micro-químicos hechos en los tejidos, se ha llegado á conocer que la colessterina no se encuentra en estado normal circulando libremente unos líquidos orgánicos, ~~mas~~ sino bajo forma de éteres colessterínicos por la combinación con los ácidos grasos, estos éteres se encuentran siempre en el plasma sanguíneo pero su cantidad es variable aumentando generalmente al comienzo de la digestión y luego van disminuyendo paulatinamente, lo mismo sucede con las combinaciones albuminóideas de la colessterina llamadas por Grigaut proteo-colestéridos, y tambien lipoproteínas.

(1) Widal Weill y Laudet han encontrado solamente en dos casos patológicos (ictérias por retención) la colessterina libre en el suero.

La colessterina entra en la composición de los diferentes humores y líquidos del organismo, pero en una forma muy poco homogénea debido á su restringida difusibilidad.

Rauch atribuye á esa misma causa (su poca difusibilidad) las localizaciones de la colessterina, que permite el amontonamiento de ella, en ciertas regiones del organismo, siendo la más antigua de estas localizaciones la constituida por los cálculos biliares.

No sucede lo mismo con los cristaloides como la úrea y cloruro de sodio que se encuentran en los diversos líquidos del organismo en proporciones iguales ó muy vecinas. Mientras que los líquidos de los exudados ó transudados contienen una proporción muy pequeña de colessterina con relación al suero.

El suero sanguíneo es el líquido del organismo donde la colessterina se encuentra en mayor cantidad.

Materias fecales..- En las materias fecales, la colessterina se encuentra en su mayor parte al estado de un producto de reducción: la coprosterina. Nace probablemente por reducción bacteriana de la colessterina.

La eliminación de la coprosterina depende mucho de la clase de alimentación. En una alimentación láctea no se encuentra coprosterina.

(1) Widal, Weill, Laudet. - Etude comparative des taux de la cholestérolie libre et des éthers. Soc. Biol. 1912 pag 882

Se encuentra la coprosterina en las materias fecales de perros y gatos y sobretodo después de una alimentación de sesos.

El Dr. Lynch en su trabajo sobre coprología, cita haber encontrado siempre cristales de colessterina en el meconio, y en las deposiciones ~~ya sea~~ de los recién nacidos, y con frecuencia en las deposiciones normales y patológicas de los niños de pecho.

~~Excepción~~ Con excepción de una sola vez, encontró en gran cantidad en las deposiciones mucosas de un adulto que sufría de enteritis, pero nunca más pudo constatar la presencia de colessterina en las materias fecales ~~de~~ de adultos, tanto normales como patológicas.

La colessterina fecal es ante todo función de la colessterina que entra en la alimentación, y se compone en su mayor parte por la cantidad más ó menos considerable de la colessterina alimenticia que escapa a la absorción intestinal.

La colessterina vertida en el intestino por la bilis es en su mayor parte reabsorbida por el epiteliium intestinal.

(1) Martiri ha hecho estudios experimentales, demostrando las propiedades del tejido hepático de retener y transformar la colessterina sobre todo la ^{que} proviene de la alimentación.

La colessterina ingerida con los ~~alimentos~~ alimentos no es absorbida integralmente por el intestino. Doree y Gardner ⁽²⁾ al dosando la coprosterina en las materias fecales, han notado que un 60% de la colessterina alimenticia ingerida, es absorbida por los animales en

(1) Martiri: - Revista critica di clinica medica 1912, '14

(2) Loc. cit.

Kunigawa (1)

experimentación, más tarde Chasoburo y ~~Kasoburo~~ llegan á conclusiones análogas demostrando la influencia del régimen sobre la cantidad de colessterina eliminada por las materias fecales.

Las experiencias de Grigaut vienen á confirmar estos hechos.

(1) Kunigawa - Chasoburo. - Sobre el tenor en colessterina de las heces de perro después de alimentación ordinaria, etc. Biochem. Zeitschr. XIV 1908.

- DOSAGE DE LA COLESTERINA -

-HISTORIA-

Hasta el año 1843 en que Boudet demostró la presencia constante de la colessterina en la sangre, no se habían hecho ningunos dosages, recién un año más tarde Becquerel y Rodier basándose en ^{la} técnica indicada por Boudet tentaron hacer los primeros dosages de la colessterina en la sangre previamente agotada por el agua hirviendo, pero no obtuvieron sino muy pequeñas cantidades ^{de} colessterina: 0 gr. 09 á 0 gr. 10 por litro de sangre.

Los trabajos que se sucedieron se basaban en una extracción directa por el éter. Algunos autores recomiendan el empleo de aparatos especiales de extracción en forma metódica y continua. Zulkowski describe uno de estos aparatos y que Soxhlet ha modificado algunos años después conservando la misma forma en la actualidad.

Aún cuando el aparato de Soxhlet marca un progreso sobre los procedimientos anteriores, aún está lejos de realizar una extracción completa.

Es así como Gerard comete errores considerables por el empleo del aparato Soxhlet en sus dosages; las cifras que él obtenía son tres ó cuatro veces menores que las obtenidas por Grigaut.

(1) Gerard obtiene 0 gr. 45 y 0 gr. 53 en lugar de 1 gr. 40 y 1 gr. 80 de colessterina por mil.

Todos los métodos basados en una simple extracción etérea son insuficientes como lo demostró Pflüger en el año 1892, y en su laboratorio Argentinsky, Dormeyer, Schultz confirmaron por procedimientos

(1) Gerard G. - Sur le dosage précis de la cholestérine dans le sérum normal, C. R. Soc. Biol., #1912.

diferentes la imposibilidad de un agotamiento completo de los tejidos desecados y tratados directamente por el éter porqué obtuvieron por medio de una nueva extracción un nuevo residuo.

" Pflüger demostró que el polvo de tejido desecado agotado con todas las precauciones necesarias durante un mes en el aparato de Soxhlet conserva todavía una pequeña cantidad de materia grasa.

El hecho de que el éter no extrae de los órganos todo lo que es soluble en él, porqué después de agotado por el éter si se vuelven á tratar los órganos por otros disolventes apropiados (cloroformo, alcohol, acetona) cede á su vez substancias que son solubles en el éter á inducido á Liebermann Szekal á emplear el primer método de saponificación directa de los tejidos. Se hace la extracción etérea sobre el tejido previamente hervido con un álcali.

El procedimiento de Kumagawa Suto para el dosage de ácidos grasos y de substancias no saponificables (colesterina) se basa sobre el mismo método que consiste en la saponificación directa de los tejidos seguido de agitación etérea en medio ácido; este método es considerado como el más perfecto para el dosage de ácidos grasos superiores, obtenido por la descomposición de grasas y lípidos saponificables. Más adelante detallaremos su técnica.

Para Kumagawa Suto el alcohol fuertemente empleado en caliente es el único capaz de suministrar la extracción completa.

Hace una comparación entre el poder extractor del alcohol caliente y el ~~mas~~ de otros líquidos empleados en las mismas condiciones y llega á las conclusiones siguientes:

Alcohol absoluto.....	100%
Alcohol metílico.....	99%
Eter acético.....	77%
Cloroformo.....	72%
Acetona.....	62%
Bencina.....	53%
Eter absoluto.....	46%
Eter de petroleo.....	45%

Los trabajos anteriores se ocupan solamente de la extracción total de las grasas y substancias no saponificables; para separar la Colesterina al estado de pureza Windaus aconseja aprovechar la propiedad que descubrió á la digitonina de combinarse con la co-lesterina, formando un complejo difícilmente soluble en el alcohol á 95° frío. Los éteres de la co-lesterina que se encuentran en el suero sanguíneo no dan estas combinaciones sino después de la sa-ponificación, pudiendo dosarse la co-lesterina libre y la co-lesteri-na esterificada.

Para la extracción usaba el aparato Soxhlet por consiguiente su método carece de exactitud.

Mayer y Schaeffer usan el procedimiento de Windaus previa ex-tracción por el procedimiento de Kumagawa Suto. (1)

De ahí se deduce que agitado directamente el suero sanguíneo con éter, aún cuando la agitación haya sido prolongada, ó agotado durante varios días en el aparato Soxhlet, la co-lesterina cede so-lamente una parte de ella al éter, para que la extracción sea com-pleta es necesario proceder antes de la extracción etérea á des-

(M. A. Mayer et J. Schaeffer. Dosage de la Cholestérine par les méthodes de Kumagawa-Suto et de Windaus combinées. (Société de Biologie), séance du 2 Mars 1912, Paris, pag 362)

truir los proteocolesterolidos llamados por Grigaut que son combinaciones complejas albuminóideas de la colessterina con la albúmina, la digestión péptica, la hidrólisis por los ácidos ó por los álcalis ó la adición de alcohol actúan sobre el suero y ponen en libertad la colessterina, en este caso el agotamiento por el éter es completo.

Grigaut aconseja dos procedimientos de dosage, el uno ponderal, mas exacto pero que por la cantidad de suero que requiere es un procedimiento de laboratorio, y el otro colorimétrico más sencillo y más adaptable á la práctica de la clínica.

- MÉTODOS DE DOSAGE -

KUMAGAWA SUTO.- Es uno de los procedimientos más modernos y que permite extraer todos los ácidos grasos y el insaponificable (colessterina), es bastante complicado é impracticable por la gran cantidad de suero que requiere. Si^{em} embargo algunos autores lo recomiendan⁽¹⁾ Consiste en lo siguiente:

Se toman 20 á 30 c.c. de suero, se diluyen en tres veces su volumen de alcohol absoluto y se deja una noche en reposo después de filtrar en el vacío y se lava varias veces el residuo. Se conserva la solución alcohólica. Este se agota en el extractor durante cinco horas se le calienta en el alcohol absoluto á fuego directo; el segundo extracto se junta con el primero, se le agrega de siete á ocho centímetros cúbicos de legía de soda saturada y se produce la saponificación en el baño maría de media á una hora; se evapora el

(1) Technik der Speziellen Klinischen Untersuchungsmethoden von ~~Theodor~~ Prof. Brugsch, Prof. Alfred Schittenhelm, II Teil, pag. 770

alcohol se disuelve el residuo en agua caliente, se coloca en el embudo de decantación y se trata con el éter de petróleo.

Decantado el líquido se obtiene un extracto de éter de petróleo; se vuelve á poner el extracto en un embudo de decantación; se le agrega 50 á 70 c.c. de legía de potasa al 5° normal de modo que corresponda treinta veces al volúmen del extracto original, se agita y se obtiene una solución completamente clara. Se le agrega la misma cantidad de agua. Se produce una dilución en dos capas; el jabón pasa á la capa inferior mientras que las sustancias no saponificables, quedan en el éter de petróleo; se vuelve á agitar la solución alcohólica con 30 ó 50 c.c. de éter de petróleo, se evapora y el residuo se disuelve en alcohol absoluto, agregándole 1 c.c. de legía de soda alcohólica 10° normal; se evapora en baño de maría y se deseca el residuo á 100° durante treinta minutos, se hace la extracción con éter de petróleo se filtra sobre amianto, se evapora y se seca á 100° hasta obtener el peso constante.

Este extracto que resulta es una mezcla de colessterina y de otras sustancias desconocidas.

Algunos autores aconsejan este procedimiento combinado á la reacción de Windaus.

PROCEDIMIENTO DE LA DIGITONINA.—(Windaus) Como lo habíamos dicho anteriormente está fundado en la propiedad que tiene la colessterina libre de dar con una solución alcohólica de digitonina una combinación molecular difícilmente soluble que se llama co-

(1) Theodor Brugsch und Alfred Schittenhelm. *Technik der Speziellen Klinischen Untersuchungs methoden*, II Beil., pag. 771

lesterida de digitonina.

EJECUCION DEL METODO:- 50 c.c. de sangre ó de suero se mezclan paulatinamente con 150 á 200 gr. de yeso quemado; se seca bien en la mezcla en una corriente de aire caliente durante dos á tres horas, luego se extrae con éter en el aparato Soxhlet durante seis días calentando diariamente de diez á doce horas, se filtra el extracto etéreo; se destila el éter, se disuelve el residuo en 20c.c de alcohol absoluto, se agrega un gramo de sodio metálico para saponificar los éteres de la colessterina y se calienta en el baño maría durante quince minutos. Se diluye con 30 c.c. de agua se agregan uno ó dos gramos de bicarbonato de sodio y se calienta durante una hora en el baño maría, para descomponer el colessterilato de sodio que se ha formado; se agita seis veces cada vez con 50c.c de éter, se evaporan los extractos etereos reunidos, el residuo se disuelve en 20 c.c. de alcohol á 90° se le agrega de 40 á 60 c.c. de una solución de digitonina caliente al 1%, se agita y se deja la mezcla en la heladera durante veinte y cuatro horas. El precipitado que viene á ser el colestéride de digitonina se lava con un poco de alcohol á 90° y de éter en un ~~crisol~~ ^{crisol} previamente pesado y se pesa hasta obtener la constancia del peso.

La colessterina constituye en peso el 24,30% de la combinación digitonina colessterina; basta multiplicar el peso del compuesto por 0,2431 para obtener en peso la cantidad de colessterina.

Como la digitonina no se combina con los ácidos grasos precipi-

ta sola la coles-terina.

Este procedimiento es muy preciso pero presenta las mismas des-ventajas que el anterior por lo complicado de su técnica.

Iscovesco⁽¹⁾ basándose en la reacción de Tschugaieff ha propuesto un procedimiento de dosage de la coles-terina más simplificado para el uso de la clínica.

Su descripción es la siguiente: Todos los extractos etereos de suero, saponificados por una parte y el extracto petrólico por otra parte son purificados de todo vestigio de ácidos grasos, por un último tratamiento de alcohol absoluto potásico quinto normal; se agrega un volúmen igual de agua se agita quedando así todos los ácidos grasos saponificados, en solución en el agua; se dacan- tan las soluciones etereas que contienen toda la coles-terina, se evaporan y se secan. El residuo final se trata con ácido acético anhidro, de manera de tener en todo tres centímetros cúbicos. Se a- grega á esta solución 2 c.c. de cloruro de acetilo y 1 gr. de clo- ruro de zinc. De este modo se preparan dos tubos, uno con la coles- terina de la extracción directa y otra de la soluciones petrólicas de los jabones;

Por otro lado se toma un tercer tubo testigo, preparado exacta - mente de la misma manera con una solución acética titulada de co- lesterina á 0,06^{gr.} de coles-terina en 100 c.c. de ácido acético anhi- dro, se toman ~~xxx~~ 3 c.c. de esta solución con ~~xxx~~ 2 c.c. de cloru- ro de acetilo y 1 gr. de cloruro de zinc.

(1) Henry Iscovesco. Dosage précis ou clinique de la Cholestérine du serum sanguin (Comptes Rendus de la Société de Biologie). Séance du 24 Février 1912, Paris pag. 311

Se calientan en baño maría los tres tubos al cabo de este tiempo, se ha desarrollado la reacción de Tschugaieff presentando los tres tubos una coloración roja fluorescente.

Para dosar la colessterina se coloca la solución en el colorímetro de dilución.

PROCEDIMIENTO DE GRIGAUT

Grigaut aconseja dos procedimientos, el uno ponderal, de resultados más exactos, pero casi impracticable por la cantidad de suero que requiere y por la dificultad de su técnica, y el otro colorimétrico, mucho más sencillo y que es el verdadero método clínico.

Técnica del procedimiento ponderal de Grigaut.— En un balón de 250 c.c. se colocan 20 c.c. de suero sanguíneo, 20 c.c. de legía de soda á 36° Baumé (400 gr. de Na OH por litro) se lleva todo á la autoclave á 110° durante una hora.

En el caso de los tejidos, se mezcla 5 á 10 gr. de tejido fresco con 40 c.c. de legía de soda á 20 % de modo de reproducir las condiciones anteriores de dosage en líquidos (suero, sangre desfibrinada, líquido cefalo raquídeo etc.). El líquido al salir del baño maría es introducido en una ampolla de decantación y se agita mientras está caliente (40-45°) con 60 c.c. de éter; diez agitacione^{han}s sucesivas bastan. Cuando los líquidos se separan, se decanta enteramente la capa acuosa inferior en el balón de 250 c.c. y se

(1) Et. Grigaut, Dosage rigoureux de la cholestérine par la méthode de Drape, dans le serum et dans le tissu (Comptes Rendus de la Société de Biologie), séance du 20 Juillet 1912, Paris; pag. 200.

después de haberlas llevado á la temperatura de 40 á 45°, se procede á una segunda extracción en la misma forma que la anterior.

Los líquidos etereos evaporados en una cápsula de porcelana dejan un residuo formado por la totalidad de la coles^{se}terina mezclada con algunas impurezas. Para purificar la coles^{se}terina, disuelve e el ~~residuo en 50 c.c. de extracto etéreo en 50 c.c.~~ extracto etéreo en 50 c.c. de alcohol á 95° á los que se agrega 1 c.c. de solución de soda cáustica en alcohol al 1%. Se evapora la mezcla en el baño maría se lleva á la estufa á 100° durante media hora se agota luego el residuo con éter de petróleo que se heche en la cápsula aún caliente.

Por el reposo la masa de impurezas se deposita, dejando un líquido etéreo límpido que se filtra sobre amianto. Se lava cuidadosamente la cápsula y el embudo con el éter de petróleo, se abandonan las soluciones etéreas reunidas, ~~á~~ á la evaporación espontánea en ^{un} pequeño cristizador tarado. La coles^{se}terina se separa ~~á~~ al estado de pureza en forma de largas agujas blancas. Se hace la pesada después de la desecación del producto en la estufa á 100° hasta peso constante.

Este procedimiento nos dá la cifra de la coles^{se}terina total.

PROCEDIMIENTO COLORIMÉTRICO (1)

Se coloca en el colorímetro de Grigaut que no es otro que el galactímetro de Adam 2 c.c. de suero, alcohol á 60° con 50% de NaOH hasta el primer aforo (15 c.c.) se agita y se agrega éter sulfúrico hasta el segundo aforo (30 c.c.) se tapa y se agita varias veces. Se deja en reposo cinco minutos se abre el robinete se retira la capa acuosa inferior y se reemplaza por agua destilada el líquido decantado (20 c.c.) de agua que se dejan escurrir por las paredes del aparato. Se deja en reposo cinco minutos, se retira nuevamente el agua y se vuelve á lavar en la misma forma, con el objeto de eliminar las impurezas que acompañan á la colesteroína.

Separadas completamente las aguas de lavado, se vierte el éter en una cápsula de porcelana, se lava el aparato con éter y se evapora el éter al baño maría. El éter evaporado abandona en forma de gotitas oleosas la colesteroína.

En la cápsula aún caliente que se retira del baño maría, se vierten ~~dos~~ 2 c.c. de cloroformo que se extienden cuidadosamente por las paredes de la cápsula, se vierte la solución clorofórmica en una probeta graduada de 10 c.c., se lava la cápsula con cloroformo se reitera la operación hasta obtener 5 c.c. de solución clorofórmica, se agregan 2 c.c. de anhídrido acético puro y tres gotas de ácido sulfúrico concentrado se agita y se deja en reposo

(1) A. Grigaut, Procédé colorimétrique du dosage de la Cholestéroline dans l'organisme (note préliminaire). Comptes Rendus de la Société de Biologie, séance du 7 Mai 1910; pag. 791

durante media hora..

Se desarrolla la reacción de Liebermann Burchard que tiene su máximo de intensidad al cabo de media hora, y que conserva su coloración casi el mismo tiempo.

La coloración que se obtiene es primeramente viólácea, que pasa luego al azul verdoso y finalmente toma un tinte verde.

Para dosar la cantidad de colessterina que contiene el suero sanguíneo se procede en la forma siguiente:

Se prepara una solución clorofórmica testigo, que contenga 0,0006 gr. de colessterina por cada centímetro cúbico de solución y se coloca en las mismas condiciones que la solución á dosar, esto es, ~~se~~ toman 5 c.c. de esta solución 2 c.c. de ácido acético y tres gotas de ácido sulfúrico.

En los siete centímetros cúbicos de la solución á dosar está disuelta la colessterina correspondiente á 2 c.c. de suero sanguíneo

Si las dos soluciones tienen la misma intensidad de coloración, la solución á dosar tendrá la misma cantidad de colessterina que la solución testigo.

Siendo 5 c.c. la solución testigo utilizada, la cantidad de colessterina que ella contiene será de $0,0006 \times 5 = 0,003$ gr. correspondiente á los ~~5~~ 2 c.c. de suero sanguíneo, por lo tanto cada centímetro cúbico contendrá la mitad ó sea 0,0015 gr. ó 1,50 gr. de colessterina por litro de suero.

En el caso que la solución á dosar tuviera mayor cantidad de co

lesterina que la testigo, para que su coloración fuese del mismo tinte, será necesario diluir la solución con otra, preparada con 5 c.c. de cloroformo 2 c.c. de ácido acético y tres gotas de ácido sulfúrico, agregándole hasta tanto tome la misma intensidad de coloración que la testigo,

En estas condiciones ambas soluciones tendrán igual cantidad de coles-terina por unidad de volúmen.

Siendo x la altura de la probeta de ensayo, la cantidad de coles-terina disuelta en la misma sera $\frac{x \times 0,003}{7}$ pero como esta canti-dad corresponde á 2 c.c. de suero, la correspondiente á 1 c.c. será $\frac{x \times 0,0015}{7}$ y por litro esta relación será $\frac{x}{7} \times 1,50$ gr.

Para el caso inverso, es decir, que la solución á dosar tuviera menor cantidad de coles-terina que la testigo, se diluye la testigo hasta obtener la misma intensidad de coloración, y mediante un aná-logo raciocinio se obtiene la relación de $\frac{7}{x} \times 1,50$ gr.

Como comprobación de estas relaciones se vé que siendo $x = 7$ la cantidad de coles-terina por litro de sangre resulta 1,50 gr.

Este es el método de cálculo cuando se procede por apreciación visual.

Empleando el colorímetro de Dubosc se hace la siguiente rela - ción: Las dos soluciones presentan el mismo tinte sobre espesores diferentes, siendo su contenido en substancia colorante inversamen- te proporcional á su espesor respectivo. Sea q la cantidad de subs- tancia disuelta en la solución testigo; h el espesor de esta solu- ción en el tubo; h' el espesor de la solución á determinar en

el otro tubo; la cantidad ~~XX~~ X de substancia disuelta en la solución á determinar es dada por la fórmula siguiente;

$$\frac{X}{q} = \frac{h}{h'q'} \quad \text{de donde} \quad X = q \frac{h}{h'}$$

- MÉTODO SEGUIDO -

Dada la complejidad de su técnica, según se desprende de las precedentes consideraciones, ~~am~~ hemos debido elegir de entre todos los procedimientos descriptos anteriormente, aquel que por la simplicidad de las operaciones estuviera más á nuestro alcance

Además es ^{difícil} ~~si~~ saber hasta la fecha cuál es el que fielmente expresa el coeficiente exacto de la colessterina en la sangre, por cuanto los resultados hallados por todos los investigadores conocidos es variable con respecto á los demás. A pesar de las impugnaciones de Iscovesco y Gerard⁽¹⁾ el que á nuestro juicio satisface las condiciones citadas, es el procedimiento colorimétrico de Grigaut, razón por la cuál lo hemos adoptado en nuestras investigaciones tal cuál ha sido descripto sin modificación alguna.

Dichas impugnaciones consisten en que según los investigadores mencionados, el procedimiento en cuestión no es aceptable, por cuanto actúa sobre otros lípidos del suero, que no han desaparecido y además por variar de una manera desigual en función del tiempo

(1) Comptes Rendus de la Société de Biologie; séance du 24 Février 1912. Brevé précis au clinique de la cholestérimie du serum sanguin; pag. 318.

y la cantidad de colessterina que se halla en solución.

Estas impugnaciones no tienen mucho valor y son fácilmente destruidas, por cuanto, como el mismo Grigaut ⁽¹⁾ lo explicó en la Sociedad de Biología desde el momento que ni impiden en nada la colorimetría por intermedio de la racción de Liebermann no hay razón alguna para que desaparezcan los otros lipoides. Además, la reacción es aplicada sobre el conjunto de la colessterina libre, grasa y otros lipoides, procedimiento que fué aprobado por una comisión de químicos nombrados por la Sociedad Médica de los Hospitales de Paris.

En cuanto á la rafutación, respecto de la acción del tiempo, es facil de evitar, dosando en todos los casos á los treinta minutos exactos, instante en que la reacción colorimétrica se encuentra en su máximun.

Por último, hay que tener presente que para evitar algunos inconvenientes, hay que proceder con todo rigor en la misma forma, como ser, usando la misma varilla para el ácido sulfúrico de manera de evitar la desigualdad de las gotas que según la opinión de Iscovesco ^{con} podría variar el resultado.

(1) A. Grigaut. Comptes Rendus de la Société de Biologie, Séance du 29 Juin 1912 Paris; pag 1046.

(2) Loc. cit.

P A R T E E S P E C I A L .

P A R T E E S P E C I A L

- ACCIÓN DEL CLOROFORMO SOBRE LA COLESTERINA -

Siendo el cloroformo un cuerpo disolvente de los lípidos, hemos creído que habría de ser interesante el comprobar experimentalmente la acción que él ejerce al ser introducido en el organismo, sobre la cantidad de colessterina de la sangre.

Hemos operado en todas las determinaciones sobre el suero sanguíneo del organismo humano, para lo cuál nos hemos valido de sujetos del sexo femenino que sufrían la anestesia clorofórmica en el Hospital Rivadavia de esta ciudad, con el objeto de resistir intervenciones quirúrgicas, de modo que el cloroformo fué administrado en todos los casos por ~~la~~ inhalación y la cantidad de este cuerpo que han absorbido las pacientes á variado entre 20 y 50 grs. y ha sido la necesaria en cada caso para producir la narcosis.

Antes de que las pacientes fueran operadas se ha extraído la sangre del brazo, en cantidades que variaban de 5 á 8 c.c. por medio de una jeringa de Luer, horas después de anestesia clorofórmica, hemos extraído una nueva porción de sangre, dosificando en las dos muestras la cantidad de colessterina.

El dosage ha sido ejecutado siempre sobre 2 c.c. de suero.

Como en los primeros análisis, los valores obtenidos no fueron muy concordantes con los que citan algunos autores eminentes, como promedio, hemos ampliado nuestras experiencias hasta la cifra de cien análisis, y como creemos que el fin primordial de la investigación científica es la investigación de la verdad, citamos también aquellas experiencias que nos han dado cifras contradictorias tratando de explicar la causa de esa contradicción.

En continuación se expresan los resultados obtenidos:

CUADRO DEMOSTRATIVO DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTADOS.

CUADRO N° I

N°	Enferma	Sala	Cama	Duración de la anestesia	Coesteria por mil de suero.	
					antes de la anestesia	después de la anestesia
I	T C	Cobo	60	10.mints.	1.71	1.31
2 8	S P	Cobo	80	15.mints.	1.60	1.31
3	L A	Cobo	64	15.mints.	1.31	1.15
4	J B	Cobo	55	15 mints.	1.20	1.01
5	E R	Cobo	43	15.mints.	1.48	0.90
6	I H	Cobo	2	20.mints.	1.30	1.10
7	GF	Cobo	73	20.mints.	1.60	0.97
8	J R	Cobo	41	25.mints.	1.50	1.50
9	E G	Cobo	78	25.mints.	2.70	2.40
10	A D	Cobo	69	25.mints.	1.75	1.40
promedio					1.60	1.30

CUADRO N° 2

N°	Enferma	Sala	Cama	Duración de la anestesia	Colesterina por mil de suero.	
					antes de la anestesia	despues de la anestesia
11 11	N	Cobo	34	25.mints.	1.75 2.19	1.71
12	M A	Cobo	68	25.mints.	2.51	1.71
13	B O	Cobo	62	25.mints.	2.20	1.10
14	R E	Cobo	58	25.mints.	3.00	2.60
15	M F	Cobo	69	20.mints.	1.75	1.40
16	M T P	Cobo	40	35.mints.	1.89	1.50
17	M S	Cobo	51	25.mints.	1.22	1.10
18	A M	Cobo	45	35.mints.	2.80	1.92
19	C B	Cobo	16	35.mints.	2.25	1.72
20	J P	Cobo	59	35.mints.	1.87	1.25
<u>promedio</u>					2.08	1.61

CUADRO N^o III

N ^o	Enferma	Sala	Cama	Duración de la anestesia	Colesterina por mil de suero.	
					antes de la anestesia	despues de la anestesia
21	J M C	Cobo	21	35.mints.	2.85	2.40
22	M E	Cobo	59	35.mints.	2.50	1.50
23	C V	Cobo	64	40.mints.	1.90	1.10
24	A R	Cobo	57	40.mints.	2.00	1.35
25	A S	Cobo	34	40.mints.	2.20	1.60
26	R G	Cobo	I	40.mints.	2.80	2.20
27	F P	Cobo	79	40.mints.	2.95	2.40
28	F P	Cobo	60	40.mints.	1.60	1.10
29	C L	Cobo	60	45.mints.	1.92	1.40
30	F C	Cobo	64	45.mints.	2.40	2.10
				promedio	2.31	1.61

68

CUADRO IV

Nº	Enferma	Sala	Cama	Duración de la anestesia	Colesterina por mil de suero.	
					antes de la anestesia	después de la anestesia.
31	N C	Cobo	52	45.mints.	1.10	0.85
32	D M	Cobo	42	45.mints.	2.20	0.37
33	E R	Cobo	68	45.71.mints.	1.71	1.40
34	M R	Cobo	47	45.mints.	1.40	1.10
35	M P	Cobo	72	45.mints.	2.60	2.30
36	A S	Cobo	42	45.mints.	1.60	1.40
36	F Z	Cobo	65	45.mints.	1.05	0.85
37	E M	Cobo	63	50.mints.	2.13	2.13
38	M G	Cobo	47	50.mints.	1.20	1.20
39	M P	Cobo	49	50.mints.	1.50	1.50
40	M F	Cobo	70	50.mints.	1.50	1.50
PROMEDIO					1.79	1.56

CUADRO V

Nº	Enferma	Sala	Cama	Duración de la anestesia	Colesterina por mil de suero.	
					antes de la anestesia	despues de la anestesia
41	M F	Cobo	42	50.mints.	1.50	1.50
42	A S	Cobo	56	50.mints.	1.71	1.70
43	M S	Cobo	80	50.mints.	2.00	2.00
44	E C	Cobo	60	50.mints.	1.50	1.50
45	C S	Cobo	64	50.mints.	1.64	1.60
46	A D	Cobo	56	50.mints.	1.80	1.80
47	M S	Cobo	62	60.mints.	1.74	1.90
48	E N	Cobo	62	60.mints.	1.30	1.60
49	A P	Cobo	67	60.mints.	1.40	1.90
50	I U	Cobo	51	60.mints.	1.85	2.30
<u>promedio.</u>					1.64	1.78

CUADRO GRAFICO
de las
EXPERIENCIAS

Diferencias Minutos
 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60.....90

- + 1
- +09
- +08
- +07
- +06
- +05
- +04
- +03
- +02
- +01
- 0
- 01
- 02
- 03
- 04
- 05
- 06
- 07
- 08



Del estudio comparativo de los resultados de los análisis que anteceden se deducen que el factor duración de la operación que se traduce en mayor cantidad de anestésico, tiene mucha importancia .

De los 50 casos examinados ,se comprueba una marcada disminución de la colessterina en el suero, despues de la anestesia clorofórmica en 36 casos, cuya duración de la operación oscila entre 20 y 40 minutos.No se nota variación alguna en 10 casos cuya duración es de 40 a 50 minutos.Solamente en 4 casos se ha notado una hipercolesterinemia que coincide con la mayor duración de la operación ;entre 50 y 90 minutos.

CONCLUSIONES

- 1º El promedio de la colessterina en la sangre según nuestras experiencias antes de la anestesia clorofórmica es de ~~uno~~ 1.84
- 2º Por la acción del cloroformo esta cifra desciende a 1.56
- 3º Que se produce una disminución de la colessterina en el suero por la acción del cloroformo, disminución que llega al maximum entre 35 y 40 minutos de la duración de la operación

4º Que cuándo la duración de la operación pasa de los ~~en~~ 40 minutos, la disminución de la coles-
terina se va haciendo insens-
ible y que al llegar a los 50 minutos no se nota variación alguna
entre la cantidad de coles-terina que había antes de la operación
a la encontrada despues de la operación .

¶

5º Que pasando los 50 minutos se produce un aumento de la coles-
terina en la sangre .

Para que estas deducciones sean más evidentes, hemos cons-
truido un cuadro gráfico ,poniendo en columnas verticales los
promedios de las diferencias delos resultados obtenidos con las
experiencias realizadas en el mismo tiempo .

Em R. de Fernandez Pblak

Nbre 15/9/16

Presentada en la fecha con 73

páginas

[Signature]

Secretario

[Signature]

not. Am. Ju. 1879/16

Pare a la Comisión examinadora N.º 22 para
que se una a estudiar la presente tesis.

Barbón

Oceja

Puñfili

Secretaría

Noiembre 27/916

Los miembros de la Comisión
examinadora N.º 22 que suscriben
han estudiado la presente tesis
y unánimemente la aceptada.

Lizasoain Piedad

Atlio Bas

Amador

Hausser

N. Debeaurain

Pietro J. Bernadef

Jorge Maguire