

# REVISTA CLÍNICA ESPAÑOLA

Director: C. JIMENEZ DIAZ. Secretarios: J. DE PAZ y F. VIVANCO

Redacción y Administración: Antonio Maura, 13. Madrid. Teléfono 22 18 29

TOMO XL

15 DE MARZO DE 1951

NUM. 5

## REVISIONES DE CONJUNTO

### EL GLUTATION (1)

J. A. DE ARGUMOSA y M. ROIZ NORIEGA.

Oviedo.

REY-PAILHADE<sup>1</sup>, en 1888, triturando hojas verdes y mezclándolas con azufre, observó que se desprendía olor a ácido sulfídrico, suponiendo que tal efecto sería debido a la presencia en los vegetales de una sustancia reductora, por él denominada "filothion".

HEFFTER<sup>2</sup>, en 1904, estudió con detenimiento esta cuestión. A él se debe la primera idea acerca del papel que el radical sulfídrico ( $-SH$ ) pudiera tener en los procesos biológicos de la óxido-reducción, el cual por deshidrogenación se convertiría en  $-S-S-$ , forma disulfídica, bajo la cual sería capaz de captar nuevamente hidrógeno, regenerando la forma sulfidrídica.

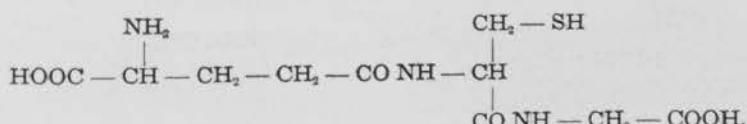
Las sugerencias teóricas de HEFFTER, fueron ob-

jeto de investigación por HOPKINS<sup>3, 4</sup> y <sup>5</sup>, que en su trabajo inicial de 1921 aisló de la levadura del pan y del hígado un cuerpo por él denominado "glutathion", que consideró como dipéptico, formado por ácido glutámico y cisteína, del cual estudió posteriormente su influencia en la oxidación de proteínas y lípidos.

Después de los trabajos de DIXON y TUNNICLIFFE y QUASTEL y TUNNICLIFFE, en torno a la suspensión dipéptica del glutation de HOPKINS, STEWART y TUNNICLIFFE<sup>6</sup>, consiguieron la síntesis del dipéptido, sin embargo, el producto obtenido por los citados autores difería del glutation natural en sus propiedades ópticas, siendo su poder rotatorio muy inferior.

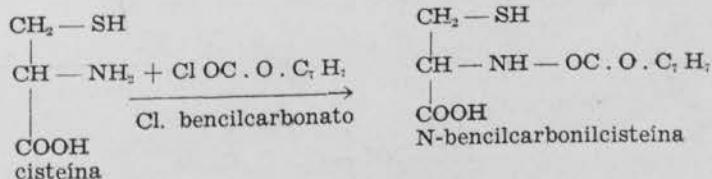
Se debe a HUNTER y EAGLES<sup>7</sup>, haber señalado la presencia de un tercer aminoácido en la composición del glutation: la glicocola.

En la actualidad no cabe duda, ya que se ha comprobado analíticamente y por síntesis, de que el glutation pertenece al grupo de los tioles, siendo un tripéptido, la glutamilcisteinilglicocola, o, si se quiere, la glutamil-cisteinil-glicina:

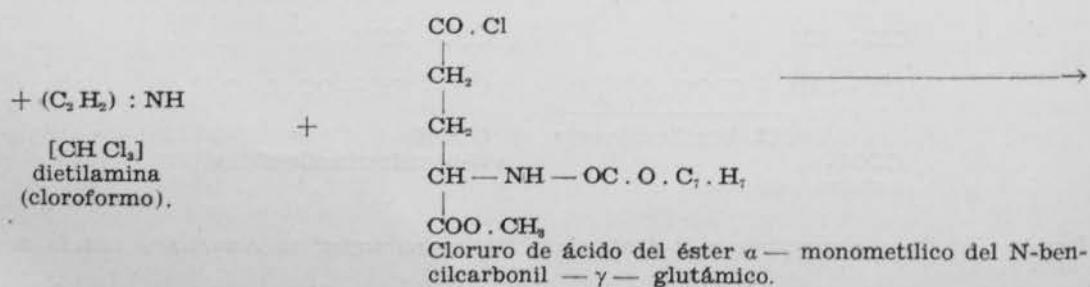
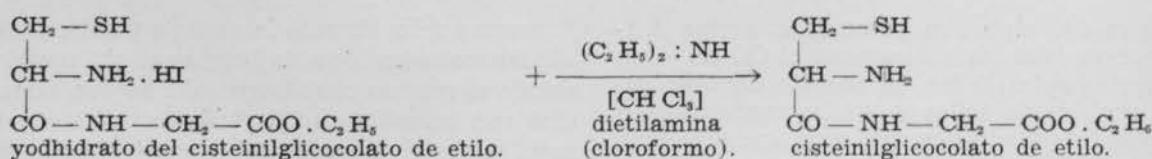
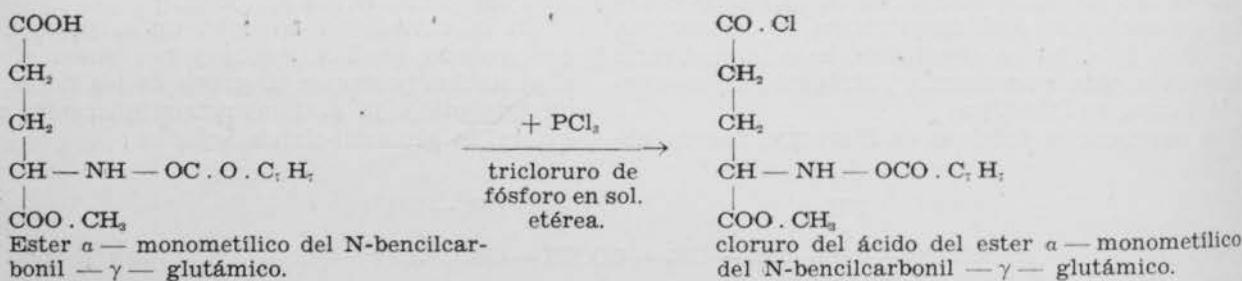
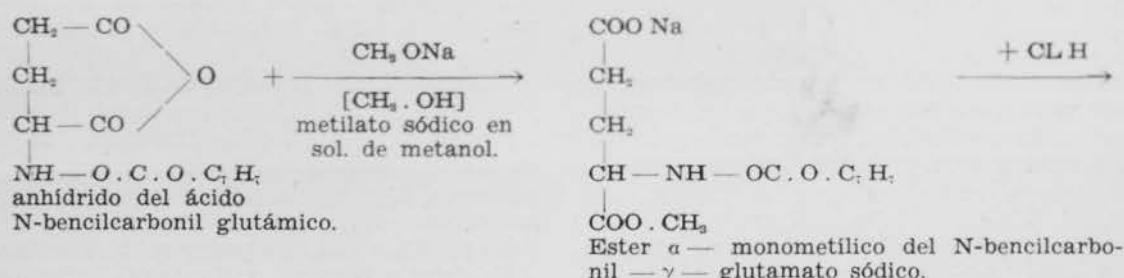
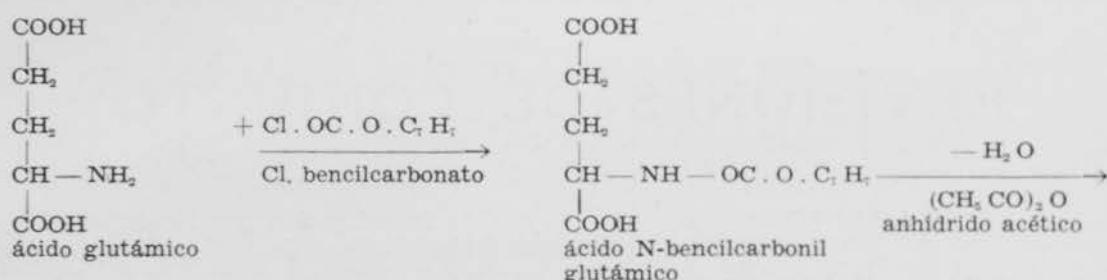
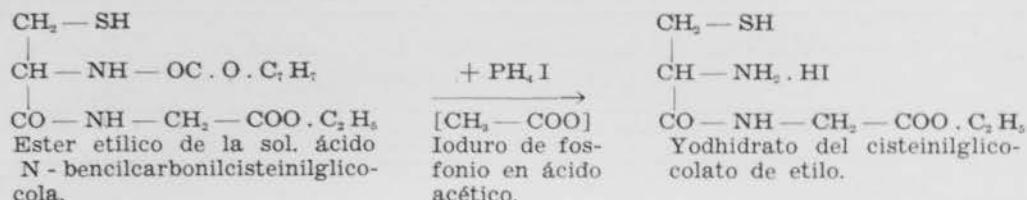
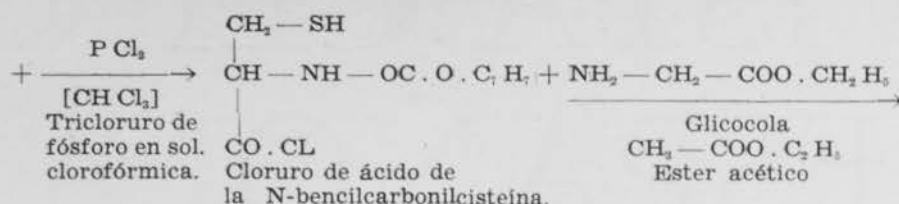


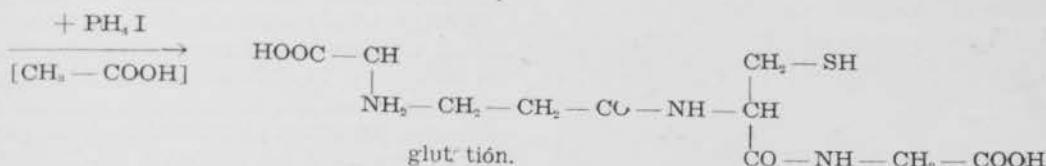
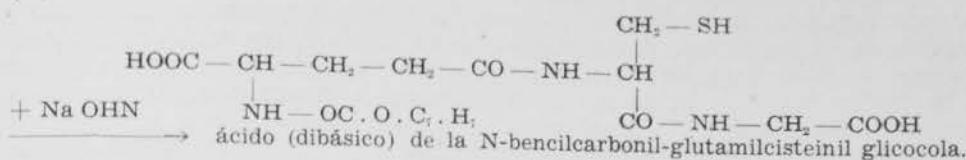
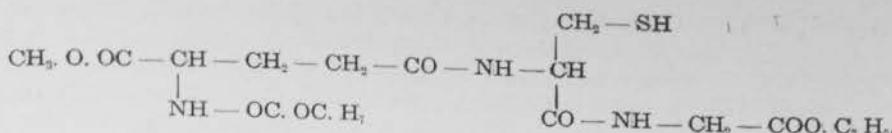
La síntesis del glutation presentaba serias dificultades, por un lado las uniones por el COOH y son extraordinariamente lábiles, ofreciendo un obstáculo para la excisión de acilos y aquilos contenidos en los productos intermedios, por otro, era necesario proteger el COOH  $\alpha$  y al entrar en reacción el COOH  $\gamma$  del ácido glutámico. HARRINGTON y MEAD<sup>8</sup>,

llevaron a feliz término la síntesis partiendo del bencilcarbonato (método de Bergmann y Zervas), reduciendo el residuo bencilcarbonato no catalíticamente, sino con solución de HI en ácido acético y fósforo rojo, según el proceder de LASUS y ROBSEN. La síntesis puede formularse así:



(1) Introducción a un trabajo presentado a la Academia de abril de 1950.

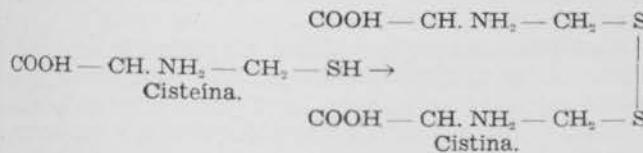




El glutation, tanto el natural como el sintético, pues este último presenta características idénticas a aquél, se presenta bajo la forma de un polvo cristalino, soluble en el agua y mezclas hidroalcohólicas de poca concentración etílica, soluciones en las que fácilmente se oxida, pasando de la forma sulfhidrítica a la disulfídrica.



MATHEWS y WALKER<sup>9</sup>, demostraron ya el paso de la forma reducida a la oxidada para el aminoácido cisteína:



Levógiro en su dos formas, con un poder rotatorio dependiente de la temperatura, que para la forma reducida es  $[\alpha] = -18^\circ$  y para la forma oxidada  $[\alpha] = -100^\circ$ , propiedad que permite seguir sus procesos oxidativos.

De los trabajos de CUETETT KINSEY<sup>10</sup>, se deduce que el glutation se destruye por la acción de los rayos röntgen, dependiendo sus efectos de la concentración y del pH. Trabajos experimentales llevados a cabo por nosotros nos han permitido observar los efectos de la irradiación sobre la glutatiónemia, reproduciendo una gráfica comprensiva de los mismos (núm. 1).

La extracción del glutation de sus medios naturales, se basa en el proceder de HOPKINS<sup>2</sup>, esto es, precipitarlo como sal cuprosa en sol. N/2 de ácido sulfúrico. Partiendo de la levadura de pan, se obtiene un rendimiento del uno por mil. Se trituran dos kilogramos de levadura con una mezcla formada por 100 partes de alcohol de 90°, 80 de éter y 20 de ácido sulfúrico, filtrando a continuación por un Buchner y agregando tierra de diatomas en caso necesario. En el filtrado se determina la cantidad de ácido existente, con el fin de mantener el líquido en sol. N/2, ya que si no se mantiene el pH suficientemente bajo el glutation se oxida. Al líquido se añade una suspensión de óxido cuproso en medio

hidroalcohólico, precipitando el glutation bajo la forma de glutationato cuproso; el precipitado es abundantemente lavado con agua, se deja emulsionado con la misma y se trata en corriente de sulfhídrico. Una vez filtrado, es evaporado el líquido a pequeño volumen y a vacío reducido, teniendo buen cuidado de que la temperatura no rebase los 25°.

Así como el glutation desde el punto de vista químico, en estado puro, bien proceda de su estado natural o se haya obtenido por síntesis, presenta idénticas características, desde el punto de vista biológico la diferencia entre el producto, que no

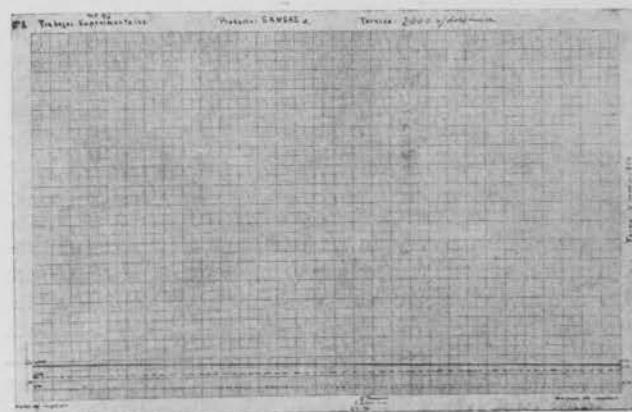


Fig. 1.

es delicuente y el extraído de los tejidos, delicuente, en menor estado de pureza, aunque en principio posea la misma constitución química, ya que el problema no es más que de purificación, establece ciertas diferencias en su comportamiento; así, el puro es fisiológicamente inactivo, necesitando desde un punto de vista relativo mayor proporción de metales, cobre y hierro, para producir su autoxidación, mientras que el extraído de los tejidos sin purificar se autooxida solamente con indicios de los metales citados. Parece, por tanto, razonable pensar que en los tejidos se encuentra el glutation juntamente con otros principios que le hacen autoxidables a la vez que activo para intervenir en los procesos redox; estas sustancias son, para MELDRUM y DIXON<sup>12</sup>, la cisteína, así como para MASON

la cisteinilglicocola, o complejos como los citocromos, en opinión de MELDRUM<sup>13</sup>, de carácter porfírico contenido mínimas cantidades de hierro.

El poder activador de ciertas reacciones enzimáticas ha sido reconocido por ciertos autores; mas como sería excesivamente prolífico referir detalladamente esta especial facultad del glutation, nos limitaremos a citarlas, sin entrar en consideraciones acerca del punto fundamental en torno al comportamiento del activador. Parece un hecho indudable que activa la acción de la papainasa, de la catepsina, de la arginasa, de la amilasa, de los enzimas glicolíticos, de la fosfatasa, de la catalasa, de la glioalasa, transformando el metilglioal en ácido láctico, recordando que en el músculo la formación del ácido láctico necesita la presencia del glutation.

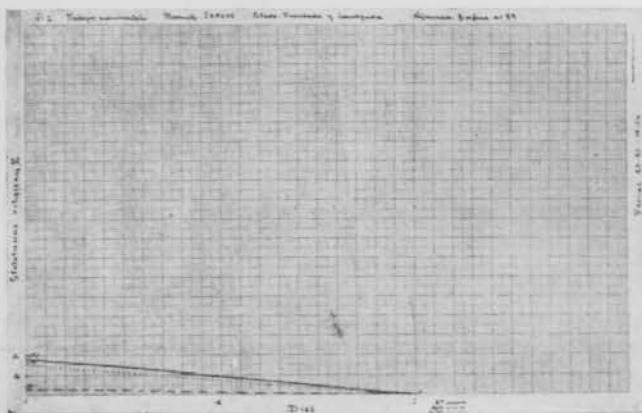


Fig. 2.

Parece ser que el glutation sanguíneo se encuentra en los glóbulos rojos, siendo interesante desde el punto de vista práctico lo que OBERTS<sup>14</sup> denuncia pérdida del glutation producida por la incubación de la sangre, señalando el autor que las tasas de glutation total ceden en relación con el tiempo de incubación, llegando, al cabo de unas horas, a su desaparición. Este hecho ha sido comprobado por nosotros experimentalmente, reproduciendo la gráfica número 2 la caída de la glutationemia por incubación y hemólisis.

Según KENDALL y MAY MCKENIE<sup>15</sup>, por incubación de las soluciones acuosas pasa a los catorce días a ácido pirrolidinocarboxílico y cisteinglicocola, verificándose la transformación de manera completa a 66° en ciento veinte horas. La hemólisis, en la sangre, sería la causa del paso del glutation de los glóbulos rojos al plasma, en donde tendría lugar su destrucción por reacciones químicas.

Todos los sistemas sulfurados, como los ácidos tioglicólico, tioláctico y la propia cisteína, son óxido-reductores, es decir pueden oxidar y reducir, así, también, el glutation, que ha sido calificado como fermento respiratorio, y esto es debido a su estructura tiólica, acaso por la capacidad del grupo SH para la formación de estados intermedios de oxidación, cual los ácidos sulfénicos (SOH) y sulfínicos (SO<sub>2</sub>H).

MELDRUM<sup>13</sup> considera que el proceso reductor está vinculado a la integridad celular, puesto que tales procesos cesan cuando se ha producido la hemólisis, de lo que se deduce la existencia de una combinación orgánica compleja, del tripeptido con las porfirinas hemáticas, donde radican las cualidades del sistema óxido-reductor.

De los trabajos de DELETANG, DESBORDES y BRIN-

KAS<sup>16</sup> se deduce que la actividad nutritiva y proliferativa de la célula se halla en relación con la riqueza en el medio orgánico de glutation, al señalar que la glutationemia es máxima en la vida intrauterina, baja después del nacimiento, estabilizándose a partir de los seis años.

JOYET<sup>17</sup> advirtió que el glutation es indispensable para la reproducción celular, por formar parte del condrioma de la célula, por ello no es extraño que al estudiar, como lo han hecho TURPIN, SERANE y VALLETTA<sup>18</sup>, las relaciones entre el glutation hepático y el timo, se encuentre un descenso del mismo en la tumección, juntamente con un retardo del desarrollo.

BINET y WELLER<sup>19</sup> indican que la hipofisectomía acarrea el descenso de glutation, tanto oxidado como reducido en el tiroides, hígado y testículos. BEAUM<sup>20</sup> señala que en el hipertiroidismo se encuentra marcado descenso del glutation. FERRARI<sup>21</sup> ha estudiado la influencia del páncreas sobre las tasas de glutation, deduciendo que las lesiones del páncreas producen disminución de la glutationemia. Son interesantes los trabajos de CHARITE y KHAUSTOW<sup>22</sup> sobre las variaciones de glutation en el trabajo muscular, encontrando que después del ejercicio además de variar el contenido en el músculo, en la sangre se advierte un descenso del reducido y un aumento del oxidado.

En cuanto a la intervención del glutation en los fenómenos de detoxificación, uno de nosotros se ha ocupado de este problema recientemente<sup>23</sup>, y aquí solamente consignaremos que a los tres aminoácidos que integran el glutation corresponde un importante papel en la formación de conjugados, y, así, la cisteína por combustión puede dar lugar al ácido sulfúrico que interviene en la formación de sulfoconjugados, el ácido glutámico se elimina con el fenilacético y la glicocola da lugar al ácido hipúrico.

Los problemas que plantea el glutation en relación con el catabolismo de prótidos, glucidos y lípidos son de gran interés; mas por tratarse de una cuestión fundamentalmente bioquímica, los omitimos.

También son importantes los trabajos relacionados con las carencias vitamínicas, como los de KASHEWIK, EIDMAN y FRIEDLAND<sup>24</sup>, en relación con el escorbuto, y los de STUART y col.<sup>25</sup> en la avitaminosis B<sub>2</sub>.

¿Dónde se forma el glutation en el organismo animal? Tanto la forma tiólica como la disulfídica se encuentran en los tejidos, si bien predomina la tiólica. Se ha creído que la zona cortical de las glándulas suprarrenales es el órgano donde se sintetiza el glutation. Las glándulas, en general, son muy ricas en glutation, sobre todo el hígado, siguiendo la suprarrenal, el bazo, el páncreas y el riñón; lo contienen también el corazón, los músculos y la sangre. Realmente, aunque se sabe que el glutation administrado "per os" se escinde completamente, y en consecuencia el existente en nuestro organismo tiene que ser sintetizado por el mismo, el hecho es que se desconoce dónde se realiza esa síntesis.

Desde el punto de vista clínico, una buena metódica analítica era fundamental, y ésta hoy se la debemos a SANTOS RUIZ y ROLLANT DE FRANCH<sup>26</sup>, cuyas atinadas consideraciones a continuación transcribimos.

Muchas son las metódicas propuestas para la valoración del glutation sanguíneo e hístico; su ex-

tenso número es, por sí mismo, una prueba de la poca especificidad de las técnicas. En general, dan las cifras de reducido y de total—de las que se calcula el oxidado por diferencia—; sin embargo, cierto número de ellas son específicas de algunas de las formas.

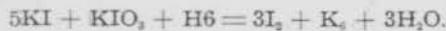
Los desaluminantes empleados suelen ser el ácido tricloracético, el túnstico o el sulfosalicílico.

Los procedimientos están todos basados en reacciones coloreadas generales del grupo SH o en las propiedades reductoras del citado grupo. No siendo el glutation el único reductor ni el único SH—compuesto presente en la sangre o en los tejidos, fácil es comprender que una buena metódica debe procurar separar del glutation aquellas sustancias como el ácido ascórbico, cisteína, ergotioneína, glucosa, etc., que, debido a sus propiedades reductoras (o a la presencia en algunas del grupo SH para las reacciones coloreadas) pueden ser causa de error en las determinaciones.

Clasifican los autores citados los métodos en cuatro grupos: Métodos yodométricos. Se basan en la reacción:



y el yodo se emplea en la solución acuosa, como en el primitivo de Tunnicliffe, o produciéndolo por la reacción:



como recomienda Woodward y Fry.

Las metódicas propuestas son: Tunnicliffe, Kimball, Kramer y Reid; Kennaway y Hieger; Thompson y Voetglin; Perlzweig y Debine; Blanchetière y Melon; Randoín y Fabre; King y Baumgarten; Delaville y Kowarsi; Litarcek, Tomesco y Nestoresco, que para determinar el glutation total reducen el oxidado con hidrógeno en un tonómetro; Bergami di Capua, que emplea el  $\text{CS}_2$  como iniciador; Woodward y Fry; Okuda y Ogawa, y los de Binet y Weller y Ceresa y Guala, que verifican la valoración después de precipitar el glutation como glutonato de cadmio.

A éstos puede referirse también el método de Hartner y Schleiss, que precipita con Cd y valora luego con Br naciente, que tiene la propiedad de reaccionar con el reducido y el oxidado, según las ecuaciones:



El bromo se produce con bromato y bromuro y su exceso se valora con el tiosulfato.

*Métodos que emplean el ferricianuro.*—Emplean el ferricianuro como oxidante y a un pH<sub>5</sub>, aproximadamente, y valoran el exceso o el ferrocianuro formado. Tienen este fundamento las metódicas de Flatov, Gabbe, Mason y Schelling.

*Métodos colorimétricos.*—A) A base de la reducción del ácido fosfotúnstico a sales de wolframilo: Hunter y Eagles, Braier y Marenzi, Benedict y Gottschall y Shinchara. B) Emplean la coloración que produce el glutation con el nitroprusiato sódico: Bierich y Kalle, Fleming, Bierich y Rosembohn y Fujita y Iwatake. C) Fotocolorimétrico es el procedimiento de Numata Isamu, el cual previamente satura la sangre con CO para evitar la oxidación del glutation, ocasionada por la transformación de la oxihemoglobina en hematina.

*Micrométodos.*—Los micrométodos más interesantes son el de Kühnau y el de Woodward, modificado por Schweder y Woodward, que emplea la glioalasa y reduce el oxidado electrolíticamente.

Justifican el trabajo los autores, teniendo en cuenta que en España se han usado, principalmente, las metódicas de Tunnicliffe y de Gabbe para los estudios de la glutationemia; mas como son métodos que conducen necesariamente a errores, debido a su poca especificidad, han creido importante hacer un estudio de algunos métodos para ver la manera de conseguir un procedimiento aceptable, a la par que practicable en clínica, que pueda ser empleado con garantía de éxito en los diferentes problemas fisiológicos.

El método de Gabbe sólo proporciona la cifra total de glutation, y aunque los resultados son mejores que con el de Tunnicliffe, ya que para cada prueba se obtienen siempre cifras coincidentes, se llega también a los resultados erróneos por más, influenciados por la presencia de otros reductores, y otras veces por menos. El método de Tunnicliffe tiene muchos errores por más, debido a que el yodo valora una porción de reductores a más del glutation. BINET y WELLER propusieron una metódica para la determinación del glutation en los tejidos; SANTOS RUIZ y ROLLANT DE FRANCH han aplicado esta metódica a la sangre, desaluminando con tricloracético y operando sobre el filtrado. Se obtiene con este método las tres cifras del glutation: reducido, total y oxidado. El método de BINET y WELLER, aun siendo el más específico, sin embargo, la cifra del total, trabajando con sangre de muy poco contenido en glutation, no puede darse con seguridad, ya que la precipitación del glutonato de Cd en presencia de cianuro no ocurre de forma regular, obligando, además, al empleo de tubos de centrífuga de gran capacidad.

La metódica de BINET y WELLER, modificada por SANTOS RUIZ y ROLLANT DE FRANCH, queda así establecida para determinar el glutation reducido y total de la sangre y tejidos.

*Glutation reducido.*—En sangre, 5 c. c. de sangre se desaluminan con 25 c. c. de ácido tricloroacético al 10 por 100, agitando bien la mezcla. Se deja reposar un rato, al cabo del cual se agita de nuevo y se filtra por un filtro de pliegues. Se recogen unos 23-28 c. c. y se continúan las operaciones como a continuación se indica.

*En tejidos.*—En una capsulita de vidrio, tarada, y que contiene 5 c. c. de ácido tricloroacético al 10 por 100, se colocan 1 ó 2 gramos de tejido fresco, recientemente extraído del animal, y cortado en pequeños trocitos. Se pesa de nuevo la capsulita, y la diferencia de peso nos dará la cantidad de tejido tomada. Se pasa el contenido a un pequeño mortero, al que se agregan 5 c. c. más de ácido tricloroacético y un poco de arena fina lavada y calcinada, y se Trituran los tejidos. El agotamiento del tejido se repite aún tres veces, empleando 5 c. c. de ácido tricloroacético cada vez. Una vez reunidos todos los extractos, se filtra.

Del filtrado obtenido por uno u otro conducto se toman 10 c. c. y se colocan en un tubo de centrífuga de unos 20 c. c. de capacidad (el resto del filtrado se reserva para la determinación de glutation total), se añaden tres o cuatro gotas de solución de azul de bromotimol y la solución se neutraliza con solución de soda al 45-50 por 100 (exenta de carbonato); la presencia de éste molesta en la determinación), añadida gota a gota y agitando constantemente,

hasta alcanzar un pH próximo al del viraje del indicador (se necesitan, según los casos, de 7 a 11 gotas). Se continúa entonces la neutralización, con solución de NaOH al 2 por 100, hasta percibir el primer viraje azul. Se añade 2 c. c. de solución de sulfato de cadmio al 3 por 100, se agita y se agregan seguidamente 1 ó 2 gotas de solución de NaOH al 2 por 100 para provocar la precipitación. Con esto, la solución alcanza un pH entre 6,4 y 7; se saca la varilla y se deja reposar el precipitado. Al cabo de un rato se centrifuga, se vacian los tubos y se deja escurrir el líquido sobrenadante, manteniéndolos boca abajo sobre un poco de papel de filtro. El precipitado se disuelve en 10 c. c. de ácido sulfúrico aproximadamente N, se agita con la misma varilla empleada anteriormente, se añade solución de engrudo de almidón, dejándolo escurrir por la varilla (de esta forma se hace un lavado de ésta) y se valora la solución con yodo N/250 hasta color azul.

**Glutation total.**—El sobrante del filtrado de desaluminación (de 12 a 15 c. c.) se trata en un Erlenmeyer con 0,5-0,1 gramos de Zn en polvo, se agita y se deja que reaccionen de veinte a treinta minutos, al cabo de cuyo tiempo se ha disuelto totalmente. (A veces, conviene agitar la solución con una varilla, pues el Zn se deposita en el fondo, formando aglomerados y dificultándose su ataque.) Una vez reaccionado el Zn, se filtra, y sobre 10 c. c. de filtrado, se opera de la forma descrita en la determinación del glutation reducido.

Al neutralizar la solución, se forma un precipitado voluminoso de hidróxido de Zn, que no perturba los resultados. Cada c. c. de yodo N/250, equivale a un miligramo de glutation.

Ha de tenerse en cuenta, en ambos casos, que el viraje del almidón en presencia del ácido sulfúrico N exige una corrección, que es la cantidad de yodo N/250 necesaria para percibir el primer color azul con 10 c. c. de sulfúrico y N almidón. Es conveniente, pues, una prueba en blanco, partiendo de solución ácido tricloroacético al 10 por 100.

Con este método hemos llevado a cabo nosotros cerca de quinientas determinaciones individuales de glutationemia, que si se recuerda que cada caso requiere una para el reducido y otra para el total, suman cerca del millar, lo que nos permite formar juicio de su innegable bondad. Sus características fundamentales son: exactitud y sencillez.

El glutation ha sido estudiado, tanto en los tejidos como en la sangre, en un gran número de procesos patológicos; sin embargo, nosotros solamente nos referimos a unos cuantos trabajos fundamentales y en torno a afecciones de interés, comenzando por el cáncer.

Se han llevado a cabo investigaciones relacionadas con las variaciones de los polipéptidos en el cáncer, así como en torno al glutation en los propios tejidos neoplásicos; no obstante, solamente hemos de referirnos a las variaciones de la glutationemia en los citados procesos.

Los trabajos de WILHEIN y STERN<sup>27</sup> ponen de manifiesto la observación reiterada de la disminución de la glutationemia; estos mismos autores han establecido un índice que relaciona el glutation y el número de glóbulos rojos, que es de 14,6 en personas normales, y de 11,6 en los cancerosos.

SCHOOWER<sup>28</sup> ha establecido una relación entre el glutation oxidado y el reducido que le condujo a la utilización de un factor, aplicable tanto a los

enfermos cancerosos como a los tratados y normales.

FORNIELES ULIBARRI<sup>29</sup> llevó a cabo determinaciones en sangre normal y en procedente de enfermos cancerosos, siguiendo la metódica de FLATOW y de GABBE, pero no publicó más que los resultados obtenidos con este último método, llegando a las siguientes conclusiones: La cantidad de glutation en las personas normales fluctúa entre 30 y 45 miligramos por 100 c. c. de sangre. En los sujetos cancerosos existe una disminución evidente del glutation en la sangre. El sexo, no parece influir sobre el contenido de glutation en la sangre. El glutation parece disminuir paralelamente con el aumento de la edad. Un estado avanzado de caquexia, disminuye notablemente el contenido de glutation en la sangre.

Una conclusión interesante a que llegó FORNIELES ULIBARRI, en aquella fecha, fruto de su información y experiencia, es la que transcribimos a continuación: Según las investigaciones de HOLDEN, THOMPSON y VOEGTLIN, HUNTER y EAGLES, el glutation de la sangre se encuentra principalmente en los glóbulos rojos.

BRIEVA ANDRADA<sup>30</sup> ha estudiado las modificaciones que experimenta la glutationemia en enfermos cancerosos, en relación con el tratamiento, utilizando el método de BINET y WELLER, modificado por SANTOS RUIZ y ROLLANT DE FRANCH, llegando a los siguientes resultados:

Los valores del glutation oxidado se encuentran disminuidos en el 97 por 100 de los casos de los enfermos cancerosos; el glutation total está disminuido en el 64 por 100, y el reducido, por el contrario, en el 87 por 100 está aumentado.

Las cifras de glutation total y sus fracciones no experimentan modificación en relación con la localización de la neoplasia, ni tampoco con la variedad anatopatológica.

Las cifras del oxidado se aumentan por la acción del tratamiento radiológico en el 87 por 100 de los casos, y disminuye de una manera absoluta sólo en el 10,76 por 100, y relativa en el 10,76 por 100. El glutation total aumenta en el 67,69 por 100 de los casos y disminuye en el 29,23 por 100, y no varía en el 3,07 por 100. El glutation reducido está disminuido en el 58, 46 por 100, aumentando de una manera absoluta en el 7,69 por 100 y relativa en el 33,84 por 100.

La mejoría en el estado general y local del enfermo coincide con la elevación de las cifras del glutation total y del glutation oxidado en el 56 por 100 de los casos, y la agravación coincide con una disminución de dicha cifra en el 43 por 100 de los casos.

SANTOS RUIZ, FERNÁNDEZ CRUZ y GARCÍA CONDE<sup>31</sup> han estudiado la glutationemia total y sus fracciones en la hipoxidosis experimental, y GARCÍA CONDE y FERNÁNDEZ CRUZ<sup>32</sup>, en las hipoxidosis clínicas, en 19 casos de insuficiencia respiratoria de los tejidos por fracasos del rendimiento circulatorio y por alteraciones del aparato respiratorio, observando, en todos los casos de cianosis que el glutation se altera total y fraccionadamente en la siguiente forma: disminución del total, en la proporción de un 50 por 100; desciende el reducido en un 25 por 100; constituyendo el oxidado el 38 por 100 del glutation total en lugar del 70 por 100 que se considera como proporción fisiológica.

DUFOURT y PERROT<sup>33</sup> y BETHOUX y CARROX<sup>34</sup> han estudiado la glutationemia en los tuberculosos pul-

monares, hallando en las formas que evolucionan favorablemente resultados normales, mientras que en las favorables o avanzadas se modifican las tasas, tendiendo hacia la normalidad a medida que mejoran los procesos.

ARGÜELLO<sup>35</sup>, que ha estudiado la glutationemia en 60 casos de tuberculosis pulmonar, encuentra las cifras modificadas en la forma siguiente: el total disminuido en el 80 por 100; el oxidado disminuido en el 56,6 por 100, y el reducido disminuido también en el 60 por 100. Los casos en los que está aumentado el total y el oxidado corresponden a formas extensas, ulcerosas y de mayor toxicidad de la tuberculosis pulmonar.

En todos los enfermos pleuríticos estudiados comprueba que la forma reducida está disminuida y que las cifras son inferiores a las obtenidas en los enfermos tuberculosos no pleuríticos. Asimismo se halla disminuido el reducido en todos los enfermos estudiados con procesos inflamatorios articulares y del peritoneo, de donde se deduce el importante papel de las serosas en la fisiopatología del glutation.

Las cifras medias del índice de BACH acusan una disminución, lo que prueba que la hipoglutationemia en la tuberculosis pulmonar no es debida al factor anémico concomitante. Interpreta que las alteraciones que se observan en la glutationemia en la tuberculosis pulmonar son debidas a la hipoxidosis, por influencia respiratoria.

SANTOS RUIZ, LUCAS y ARGÜELLO<sup>36</sup> insisten sobre el problema de la glutationemia en los procesos tuberculosos, sin modificar las conclusiones citadas.

ARGÜELLO<sup>35</sup> ha investigado también la glutationemia en la sífilis, en 30 enfermos, encontrando una disminución del total equivalente al 83,3 por 100, al 20 por 100 en el oxidado y el 96,6 por 100 en el reducido. Por comparación de los resultados obtenidos, observa que la disminución en lo que se refiere a las cifras de glutation total, está en razón directa de la positividad de la serología.

Es interesante la siguiente deducción: En todos los casos en que agregó glutation sintético a los tubos de reacción de Wassermann, desapareció el poder anticomplementario del suero. Considera que el glutation interviene en la respuesta serológica de los enfermos sifiliticos y tiene un papel en la reactivación del complemento.

ACHARD, GUTHMANN y LEVI<sup>37</sup> reconocen que si bien la glutationemia disminuye en diversas anemias secundarias, en la anemia perniciosa está elevada la tasa de glutation. CRUZ AUÑÓN y RIVERO<sup>38</sup>, en un interesante trabajo, utilizando la metódica de GABBE, después de insistir en que el glutation no se encuentra libre en el plasma, sino únicamente en los hematíes, y, en general, en el interior de las células, hasta tal punto que BACH<sup>39</sup> considera que la cantidad de glutation tiene que ir unida expresamente al número de hematíes, estableciendo su cociente G/E, semejante al valor globular, pues medirá la cantidad de glutation contenido en los hematíes, representando G la cantidad en miligramos por cien de glutation y E la cifra de los hematíes en millones, recordando que cuando BACH introdujo su cociente hizo notar en 15 casos de anemia perniciosa que el glutation era normal y su cociente estaba fuertemente aumentado, aumento que no es específico de esta clase de anemia, ya que en anemias secundarias hay también aumento de su cociente, e incluso en sus propios casos de este tipo de anemia secundaria encuentran un aumento del

cociente de BACH, tanto mayor cuanto más intensa es la anemia, conservándose normal la cantidad de glutation en la sangre, dando la impresión como si éste se viera precisado a concentrarse en los hematíes al disminuir el número de éstos.

Advierte que la disminución del número de hematíes no justifica el descenso de la glutationemia, siendo necesario que se añadan factores de más importancia: alimenticios, infecciosos, superávit funcional del tiroides, déficit funcional de las cápsulas suprarrenales, del hígado, etc.

Coincidendo con ENRÍQUEZ DE SALAMANCA, FERNÁNDEZ CRUZ y ROTLLANT DE FRANCH<sup>40</sup>, a su juicio no cabe la menor duda de que en los enfermos carentiales el glutation total en sangre está fuertemente disminuido, con disminución evidentísima del cociente de BACH, que nos indica que la hipoglutationemia es independiente de la anemia. Resumen sus observaciones en la forma siguiente: La disminución del valor del glutation en la sangre, es la expresión más fiel de la existencia de una alimentación pobre o carente de proteínas animales ricas en S-aminoácidos, acentuándose ese descenso en los enfermos de "mal de Casal", y más en individuos que desde hace tiempo observan una alimentación absolutamente carente de carnes.

En enfermos hipertiroides ha encontrado BEAUM<sup>20</sup> un descenso manifiesto de glutation, niéandose las cifras si se practica la tiroidectomía.

KITAMURO y CAMPACCI, citados por BRIEVA<sup>30</sup>, han establecido que a causa de la hiperglucemia, en los diabéticos, se produce una hipoglutationemia, y que el aumento del glutation en la sangre de los mismos produce un cierto retardo en la baja de la glicemia, descendiendo la glutationemia más lentamente que la glicemia.

MORELL, GATÉ y DORCHE<sup>41</sup> han investigado la glutationemia en el eczema y psoriasis, encontrando en ambos un descenso de la tasa de glutation.

Nuestra causística asciende a 150 casos de la más variada índole patológica, todos ellos irradiados y estudiados en su evolución clínica<sup>41 bis</sup>.

¿Qué cifra de glutationemia se considera como normal? Fácil es comprender que con falta de uniformidad en la metódica empleada no es posible que los resultados sean comparables; por ello, consideramos como norma correcta indicar siempre la técnica utilizada, aunque en lo sucesivo, al menos entre nosotros, si se impone, como suponemos, la modificación introducida por SANTOS RUIZ y ROTLLANT DE FRANCH a la de BINET y WELLER, los resultados serán más uniformes. Así, para GABBE<sup>42</sup>, es la glutationemia normal de 40 miligramos por cien gramos de sangre; para FORNIELES<sup>29</sup>, oscila entre 30 y 45 miligramos por cien; VILLAR, SALINAS<sup>43</sup>, la estima alrededor de 45 miligramos por cien; CRUZ AUÑÓN y RIVERO FAJARDO<sup>38</sup>, 40,6 miligramos por cien; BRIEVA<sup>30</sup>, considera como normales 30-34 para el total, 7-10 para el reducido y 21-25 para el oxidado.

#### BIBLIOGRAFIA

1. REY-PAILHADE.—C. R., 106, 1683, 1888.
2. HEFFTER.—Arch. exp. Pathol. u. Pharm., 51, 175, 1904.
3. HOPKINS.—Biochem. J., 15, 286, 1921.
4. HOPKINS.—Biochem. J., 19, 787, 1925.
5. HOPKINS.—J. Biol. Chem., 84, 269, 1929.
6. STEWART Y TUNNICLIFFE.—Biochem. J., 19, 207, 1925.
7. HUNTER Y EAGLES.—J. Biol. Chem., 72, 147, 1927.
8. HARRINGTON Y MEAD.—Biochem. J., 29, 1602, 1935.
9. MATHEWS Y WALKER.—J. Biol. Chem., 6, 21, 1906.
10. CUETTET Y KINSEY.—J. Biol. Chem., 110, 553, 1935.
11. HOPKINS.—J. Biol. Chem., 84, 269, 1930.
12. MELDRUM Y DIXON.—Biochem. J., 24, 472 y 1421, 1930.
13. MELDRUM.—Biochem. J., 24, 1426, 1930.

14. OBERTS.—J. Biol. Chem., 111, 9, 1935.  
 15. KENDALL y MCKENZIE.—J. Biol. Chem., 87, 55, 1930.  
 16. DELETANG, DESBORDES y BRINKAS.—C. R. Soc. Biol., 118, 1935.  
 17. JOYET.—C. R. Soc. Biol., 199, 1339, 1934.  
 18. TURPIN, SERANE y VALLETTA.—C. R. Soc. Biol., 127, 96, 1938.  
 19. BINET y WELLER.—C. R. Soc. Biol., 120, 589, 1935.  
 20. BEAUM.—C. R. Soc. Biol., 120, 882, 1935.  
 21. FERRARI.—Bull. Soc. Ital. Biol. Sper., 8, 508, 1933.  
 22. CHARITÉ y KHAUSTOW.—C. R. Ac. sci. Urss., 2, 28, 1934.  
 23. ARGUMOSA.—Rev. Clin. Esp., 36, 52, 1950.  
 24. KASHEWIK, EIDMAN y FRIEDLAND.—Ber. phys. u. Phar., 119, 74, 1940.  
 25. STUART ITTER, ELSA ORENT y MCCOLLUM.—J. Biol. Chem., 108, 585, 1935.  
 26. SANTOS RUIZ y ROTILLANT DE FRANCH.—Trab. Ins. Caj. Invest. Biol. (Sección de Fisiología), 1, 49, 1943.  
 27. SCHOOWER.—Amr. J. Canc., 23, 311, 1935.  
 28. FORNIELES ULIBARRI.—Tesis doctoral, Madrid, 1930. (Publicada en "Archivos Españoles de Oncología". T. I. C. 3-4.)  
 30. BRIEVA ANDRADA.—Tesis doctoral, Madrid. (Publicada en "Radiológica-Cancerológica". Vol. II, núm. 6. Vol. III, núm. 7 (1947-1948).  
 31. SANTOS RUIZ, FERNÁNDEZ CRUZ y GARCÍA COUDE.—Ser., febrero 1943.  
 32. GARCÍA CONDE y FERNÁNDEZ CRUZ.—Med. Esp., julio 1943.  
 33. DUPORT y PERROT.—C. R. Soc. Biol., 3, 6, 1933.  
 34. BETHOUX y CARROX.—C. R. Soc. Biol., 9, 8, 1933.  
 35. ARGÜELLO.—Tesis doctoral (referencia personal de su autor).  
 36. SANTOS RUIZ, LUCAS y ARGÜELLO.—Rev. Esp. Fisiol., 4, 1, 1948.  
 37. ACHARD, GUTHMAN y LEVY.—C. R. Soc. Biol., 4, 3, 1932.  
 38. CRUZ AUÑÓN y RIVERO.—Rev. Clin. Esp., 7, 189, 1942.  
 39. BACH.—Biochem. Zeit., 236, 174, 1931.  
 40. ENRÍQUEZ DE SALAMANCA, FERNÁNDEZ CRUZ y ROTILLANT DE FRANCH.—Medicina, 9, 249, 1941.  
 41. MOREL, GATÉ y DORCHE.—Press. Med., 28, 9, 1931.  
 41 bis. ROIZ y ARGUMOSA.—Comunicación al Primer Congreso Luso-Español de Radiología.  
 42. GARBE.—Klin. Wschr., 8, 2077, 1929.  
 43. VILLAR SALINAS.—An. de Med. Int., 50, 69, 1932.

## ORIGINALES

### LA UTILIZACION INTESTINAL EN LA INSUFICIENCIA HEPATICA (ESTUDIOS CLINICOS Y EXPERIMENTALES)

C. JIMÉNEZ DÍAZ, J. M. ROMEO ORBEGOZO  
y C. MARINA FIOL

Instituto de Investigaciones Médicas y Clínicas Médicas del Hospital General y de la Facultad de Medicina, Madrid.

Trabajos nuestros anteriores<sup>1, 2 y 3</sup> han sido destinados a demostrar que la esteatorrea, que es visible a veces en las obstrucciones del coléodo, no es imputable a la falta de la bilis en el intestino. En primer término, son demostrativas las observaciones de enfermos con obstrucción completa y buena utilización en la sobrecarga, y recíprocamente que enfermos hepáticos con secreción biliar al intestino puedan presentar una dispepsia esteatorreica. En segundo lugar, la esteatorrea encontrada en algunos de estos enfermos persiste aún con régimen privado de grasa, y asimismo se ve cómo la sobrecarga de aceite de oliva es bien utilizada en enfermos con obstrucción del coléodo.

Si no puede, pues, aceptarse el sencillo esquema propuesto, según el cual la dispepsia intestinal hepática o biliar deriva de una mala absorción de la grasa por falta de sales biliares en el intestino, es, en cambio, innegable la frecuencia con la cual se acompañan de alteraciones en la función entérica y de enteritis los enfermos con cirrosis y otras afecciones que producen insuficiencia hepática. En la revisión hecha por ORTIZ y RABADÁN del material de cirróticos de nuestra clínica se vió que el 49 por 100 de los casos presentaban o habían tenido diarreas. Aquí cabe pensar que en ocasiones la afección intestinal sea lo primario, o bien que la lesión hepática sea determinante de una mala utilización intestinal. Corriendo ésta a cargo de sistemas fermentativos propios, se comprende

la posibilidad de una intervención del hígado sobre su función; no se trataría de un hecho excepcional, puesto que, por ejemplo, se conoce cómo la función de la esterasa intestinal se influye por la actividad hepática.

Nos ha parecido interesante, en vista de lo anterior, estudiar de cerca el problema de la utilización intestinal en enfermos cirróticos y en perros intoxicados por el tetracloruro de carbono.

### TÉCNICAS

En el caso de los enfermos se les puso a un régimen tipo empleado por nosotros en los estudios de utilización intestinal, esto es, una dieta de unas 1.800 calorías, 80 gramos de proteínas, 60 de grasa y 225 de hidratos de carbono aproximadamente. Se recogieron las heces de tres días consecutivos para establecer el peso medio diario correspondiente; continuando con la misma dieta se recogieron también las heces de otros tres días con un suplemento de 100 gramos de aceite de oliva para establecer la sobrecarga de grasa.

Desde el punto de vista experimental, la técnica utilizada en los perros ha sido la siguiente: Después de unas determinaciones con dieta normal (N) de poca grasa, 70 gramos de proteínas y 100 gramos de hidratos de carbono (leche, azúcar, pan y bofe), y unas 750 calorías, en las que igualmente se recogían las heces de tres días consecutivos, se hacían otras del mismo modo, sólo que a la dieta se había añadido una sobrecarga de 50 gramos de aceite de olivas (S. A.). La primera determinación después de sometidos los perros al tóxico se hizo a los quince días. Se administraron 12 c. c. semanales de tetracloruro de carbono, introducidos por sonda gástrica, a razón de 4 c. c., en días alternos; después de un mes de administración se reforzó la acción tóxica por la adición de 20 c. c. de una solución de alcohol al 8 por 100, utilizando la misma vía. En dos perros la experiencia se continuó durante dos meses, y en el tercero ha durado aproximadamente año y medio, con intervalos en que dejó de administrarse el tóxico y cuyos detalles pueden apreciarse en la gráfica (perro 32).

Para la determinación de grasas se ha seguido el método de CASTRO MENDOZA, de extracción y dosificación gravimétrica, y para la calorimetria el mismo método a que ya hemos hecho referencia en publicaciones anteriores.