

Hidrolisis de la procaína por el suero sanguíneo

(Con 3 cuadros y 1 gráfico)

por

Lecannelier, S. R.; Vivaldi, E. C.; Vallejos, C.; Bardisa, U. L.

INTRODUCCION

El uso de la procaína o novocaína como anestésico local (infiltración y anestesia raquídea) es conocido desde hace muchos años; pero en el último tiempo otras aplicaciones de este fármaco, especialmente por vía endovenosa como antifibrillante, antiasmático y en los pruritos rebeldes, ha reactualizado el estudio de ella, especialmente en lo que se refiere a su destrucción en el organismo.

Conway, Ting y Coon (1) han demostrado que la destrucción de la procaína tiene lugar a nivel de la célula hepática y **Terp** (2) ha visto que el proceso por el cual el organismo se libera de este fármaco es por un desdoblamiento en ácido p-áminobenzoico y dietil-ámico etanol, acción que sería ejercida por un fermento de origen hepático, al cual convencionalmente se le dá el nombre de Procaínoesterasa.

Este fermento presente en el suero sanguíneo, destruye la procaína en una proporción variable con el tiempo, lo que ha permitido el estudio de la cinética de esta reacción y establecer una velocidad de destrucción de la procaína por el suero, que es un valor constante en el individuo normal, siempre que las condiciones experimentales de pH y de temperatura sean también constantes, **Ting y Coon** (3).

Los trabajos de **Hazard** y col. (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) han estudiado que este valor de destrucción de la procaína por el suero es igual en los individuos normales y que se modifica cuando existen enfermedades que alteran la célula hepática o bien la función tiroídea (11, 12).

La presencia de un fermento dotado de cierta especificidad para la procaína ha merecido dudas de algunos autores que lo consideran semejante a la colinoesterasa, **Werner** (13). Nos ha parecido interesante dilucidar este problema, es decir si se tra-

ta de un fermento distinto o idéntico al que destruye la acetilcolina.

En el presente trabajo hemos querido corroborar lo observado por otros autores, **Hazard**, **Nicaud** y **Laffitte** (14), en el sentido de la variación de la velocidad de destrucción de la procaína por el suero en diferentes condiciones patológicas, como hepatitis, cirrosis e ictericias de causa mecánica, sobre la cual no teníamos experiencia en nuestro medio.

La influencia de la función tiroídea sobre esta velocidad de destrucción, hemos preferido estudiarla experimentalmente en conejos que son los que tienen una mayor capacidad de su suero para destruir la procaína. (Valores que según **Hazard**; para el conejo la hidrólisis en 30 minutos es 31%; en tres horas 65%; en 24 horas 100%).

En estos animales hemos producido variaciones de la función tiroídea con la administración de sustancias antitiroideas y de Extracto tiroídeo.

La presente comunicación tiene por objeto exponer esta primera parte de nuestros resultados, para realizar posteriormente un estudio paralelo de estas modificaciones con el fermento llamado colinoesterasa.

M E T O D I C A

A. Metódica Clínica

Se utilizó para nuestro estudio enfermos del Hospital Clínico Regional de Concepción, cuyo diagnóstico se basó en un estudio clínico y completo de exámenes de laboratorio y en la mayor parte de los casos con biopsia hepática. En algunos casos de ictericia obstructiva se confirmó el diagnóstico después de la intervención quirúrgica.

En todos los casos se obtuvo muestras de sangre para la determinación de Procaínoesterasa conjuntamente con la muestra obtenida para otras determinaciones como por ejemplo Timol, Rojo Coloidal, Bilirrubinemia, etc. Las muestras eran obtenidas una vez a la semana desde la llegada del enfermo al servicio hospitalario hasta su completa mejoría. No nos fué posible efectuar determinaciones dos meses después del alta hospitalaria como era nuestro interés, por dificultad en el control post-hospitalario de estos enfermos.

Las determinaciones de Bilirrubinemia, Timol, Rojo Coloidal, Colesterol, Fosfatasa Alcalina, que hemos utilizado como pruebas comparativas de nuestros resultados de Procaínoesterasa fueron efectuadas en el Laboratorio Clínico del Hospital.

Para la determinación de Procaínoesterasa, se siguió la técnica de **Hazard** (5); se obtuvo las muestras de sangre por punción venosa de enfermos en ayunas, 5 ml. sin adición de fluoruro, ni oxalato; se dejó reposar para obtener el suero que luego se centrifuga por diez minutos a 2,500 revoluciones por minuto.

1 ml. de suero con 1 ml. de solución de clorhidrato de procaína al 1×10.000 , se colocó a la estufa a 37° C. Después de 15 o 30 minutos (según la hidrólisis adoptada) se agregó 15 ml. de agua destinada y 4 ml. de solución de ácido tricloroacético al 15×100 . Se agitó y se filtró.

A 10 ml. del filtrado (corresponden a 0,5 ml. de suero) se agregó sucesivamente de tres en tres minutos, agitando cada vez, 1 ml. de solución de nitrato de sodio al 1%, 1 ml. de solución de sulfamato de amonio al 5% (para destruir los vapores nitrosos) 1 ml. de solución de alfanafitil dietil propilenodiamina al 1%. Se esperó media hora para que la coloración rosa-violácea de la solución se desarrollara completamente.

Se agregó 5 ml. de éter etílico, 2 ml. de lejía de soda de 36° Be, diluida al 1 p. 2. Se agitó enérgicamente y se dejó reposar. La coloración rosa violácea de la solución pasa a anaranjada y es proporcional a la cantidad de ácido p-ámico benzoico liberado.

El éter fué tanto más coloreado, cuanto más procaína quedó sin hidrolizar. Paralelamente se efectuó una prueba en blanco; las lecturas se hicieron al Fotocolorímetro Lumetron Mod. 400 A. previamente calibrado para el ácido p-áminobenzoico. Estas lecturas fotocolorimétricas pueden hacerse a los quince o treinta minutos, para establecer la velocidad de destrucción de la procaína por el suero sanguíneo.

B. Metodica Experimental

Se utilizó para nuestro estudio conejos adultos de ambos sexos cuyo peso fluctuó entre 1.500 y 2.500 K. mantenidos en condiciones ambientales y de alimentación comunes en nuestro vivero.

En un grupo de tres animales controles se obtuvo muestras de sangre 4 ml. por punción intracardiaca y se efectuaron las determinaciones de Procaínoesterasa según la técnica ya descrita en la metodología clínica prolongando aquí la hidrólisis a seis horas que dió un porcentaje de 64,6%. Prolongando a 24 horas dió 66,8% de hidrólisis, y como no había mucha variación se adoptó la hidrólisis de seis horas para las determinaciones. Se efectuó estos controles con períodos de cuatro días llegando a un número de 10 determinaciones en total por animal.

a) Conejos tratados con Thiouracilo

A cuatro conejos se le administró Thiouracilo Sanitas, previa determinación de la procaínoesterasa normal. La administración del medicamento se efectuó por vía endogástrica en suspensión gomosa y a la dosis de 100 mg. por Kg. de peso, durante doce días consecutivos. Las determinaciones se realizaron cada cuatro días durante la administración de Thiouracilo y seguimos estas determinaciones cada cinco días después de suspendido el medicamento, prolongando el control durante un mes. Paralelamente se efectuó un control del peso del animal.

b) Conejos tratados con Extracto Tiroideo

Un grupo de cuatro conejos fué tratado con Extracto Tiroideo (Extracto Standarizado Sanitas) 200 gamas de Iodo por K. de peso. La administración del medicamento se efectuó por vía endogástrica, también en suspensión gomosa a la dosis indicada, durante doce días consecutivos.

En la misma forma que para el Thiouracilo, las determinaciones se realizaron cada cuatro días durante la administración del Extracto Tiroideo y se siguió durante cinco días después de suspendido el medicamento, prolongando también el control durante un mes. Paralelamente se controló el peso del animal.

En ambos casos, tanto para el Thiouracilo como para el Extracto Tiroideo, se obtuvo muestras de sangre 4 ml. por punción intracardiaca, con prolongación de su hidrólisis a seis horas.

C. Soluciones utilizadas

- 1.—Solución de Clorhidrato de Procaína (Haenel) al 1%.
- 2.—Solución de Acido Tricloroacético (Mallinckrodt) al 15%.
- 3.—Solución de Nitrito de Sodio (Baker's Analyzed) al 1%.
- 4.—Solución de Sulfamato de Amonio (The Coleman & Bell Co.) al 5%.
- 5.—Solución de Alfa Naftil dietil propilenodiamina (Haenel) al 1%.
- 6.—Solución de Lejía de Soda de 36° Be. (The Coleman & Bell Co.).
- 7.—Eter Etílico (Squibb & Sons).
- 8.—Solución de Acido p-áminobenzoico (Sanitas al 1%).

Las soluciones de Clorhidrato de Procaína, Nitrito de Sodio, Sulfamato de Amonio, se renovaron semanalmente para efectuar las determinaciones.

D. Cálculos Estadísticos

Para los cálculos estadísticos necesarios se siguió las indicaciones del Dr. **M. Pizzi** (15).

RESULTADOS

Los resultados de la presente comunicación, los hemos agrupado en la siguiente forma:

A.—Estudio Clínico.—En el cual consideramos el estudio de normales y enfermos de hepatitis infecciosa, cirrosis e ictericias obstructivas.

B.—Estudio Experimental en conejos.—Los que dividimos en tres grupos, normales, tratados con substancia antiroídea (tiouracilo) y tratados con extracto tiroideo.

A. ESTUDIO CLINICO

Los valores de destrucción de la procaína por el suero en diversas condiciones está señalado en el Cuadro N° 1.

CUADRO N° 1

GRUPOS	Número de casos	T. M. de Hidrólisis de Procaína en %	D. S.	"t" +
Normales	20	83.5	± 5.75	—
Cirrosis	25	34.7	± 7.5	12.5
Hepatitis	90	61.7	± 9.35	8.3
I. Obstructiva	18	26.8	± 1.55	14.5

+ Los valores de "t" de la columna 4, corresponden a relaciones significativas con los casos normales.

En el Cuadro N° 2 exponemos la evolución de los valores de hidrólisis de procaína en un caso de hepatitis infecciosa, en relación con las modificaciones de otras pruebas de funcionalismo hepático.

CUADRO N° 2

	1ª sem.	2ª sem.	3ª sem.	4ª sem.	5ª sem.	6ª sem.
Hidrólisis Procaína en %	59	49.8	56.7	63.4	61.1	95.1
Bilirrubinemia mg. ‰	14.22	4.65	2.95	1.25	0.59	0.59
Colesterol gr. ‰	2.29	2.01	—	1.76	1.66	—
Timol Unidades	19.4	—	20.7	15.6	21.7	—
Rojo Coloidal	+++	—	++	+++	(—)	

En el Cuadro N° 3 exponemos los valores de hidrólisis de la procaína en las afecciones hepatobiliares estudiadas en comparación con otras pruebas de funcionalismo hepático.

CUADRO N° 3

PRUEBAS	Hepatitis	Cirrosis	Ic. Obstructiva
Hidrólisis de Procaína en %	61.7	54.7	26.8
Bilirrubinemia mg. ‰	8.377	5.047	15.014
Colesterol gr. ‰	1.95	1.634	2.891
Timol Unidades	11.309	9.85	7.85
Rojo Coloidal	++	+++	+
Fosfata alcalina U. B.	4.562	3.352	10.886

B. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN CONEJOS

Los animales de peso y sexo variable fueron sometidos a tratamiento con sustancias anti tiroideas (tiouracilo) en la dosis de 100 mg. por Kg. de peso, determinando el valor de hidrólisis de procaína en las seis horas, durante el tiempo de tratamiento.

Otro grupo fué sometido a la acción de extracto tiroideo standarizado (Sanitas) en dosis de 200 microgramos por K. de peso, los valores de hidrólisis de procaína se determinaron en las mismas condiciones anteriores.

Por último un grupo de conejos se dejó como control y a los cuales se le extraía sangre las mismas veces que los anteriores.

Los valores de hidrólisis de la procaína por el suero de estos conejos está representado en el gráfico N° 1.

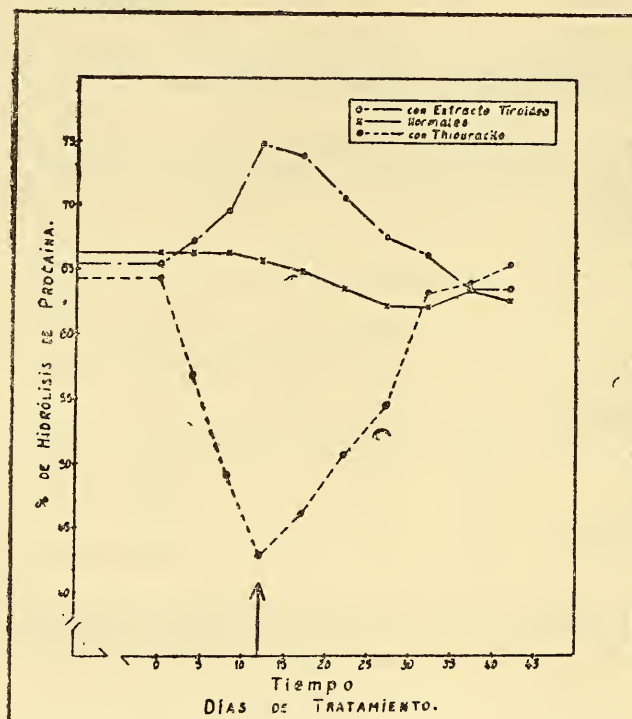


GRAFICO N° 1.

La flecha indica suspensión de los tratamientos.

RESUMEN

1.—Se estudian las variaciones de la hidrólisis de la procaína por el suero sanguíneo en el hombre en diferentes enfer-

medades hepato-biliares y en el conejo en diversos estados de función tiroídea.

2.—En las hepatitis infecciosas, cirrosis e ictericias obstructivas, el porcentaje de hidrólisis de la procaína por el suero sanguíneo, se modifica en forma significativa en relación a los normales; paralelamente a la evolución de la enfermedad y a los valores de otras pruebas de funcionalismo hepático.

3.—En conejos el estudio de la velocidad de hidrólisis de la procaína a las seis horas, demuestra una disminución de ella en los animales sometidos a una droga antitiroídea (tiouracilo) y un aumento en los tratados con extracto tiroídeo.

4.—Los resultados expuestos demuestran la existencia en la sangre de un factor que hidroliza la procaína, que es constante en los individuos normales y que varía en las alteraciones del funcionalismo hepático y tiroídeo.

SUMMARY

1.—Variations of procaine hydrolysis produced by blood serum in different hepato-biliary diseases in man and in various thyroid functional states in rabbits are studied.

2.—The percentage of procaine hydrolysis produced by blood serum differs very much from normality and parallelly to the course of the disease and to the values of other hepatic functional test in infectious hepatitis, liver cirrhosis and obstructive jaundices.

3.—In rabbits studies of procaine hydrolysis velocity after six hours disclose a decrease in animals under treatment with an antithyroid drug (Thiouracil) and an increase in those treated with thyroid extract.

4.—Afore-mentioned results disclose the existence of a procaine hydrolyzing factor in blood, which is constant in normal individuals and suffers changes in hepatic and thyroid functional disorders.

BIBLIOGRAFIA

1.—CONWAY, A. C., TING, K. S. and COON, J. M.—*J. Pharmacol. & Exper. Therap.* 96: 472-76, 1949.

2.—TERP, P.—*Acta Pharmacol et Toxicol.* 7: 381-94, 1951.

3.—TING, K. S. and COON, J. M.—*Current Researches in Anesth. and Analgesia* 29: 263-75, 1950.

- 4.—HAZARD, A.—Actualites Pharmacologiques, Premiere Serie, 87-111, 1949.
 - 5.—HAZARD, R. et BONAMY, C.—Compt. rend. Soc. de biol. 142: 743-45, 1948.
 - 6.—HAZARD, R. et BONAMY, C.—Compt. rend. Soc. biol. 141: 278-80, 1947.
 - 7.—HAZARD, R. et RAVASSE, J.—Compt. rend. Soc. de biol. 139: 13-5, 1945.
 - 8.—HAZARD, R. et RAVASSE, J.—Ball. Acad. de Med. 12: 585-88, 1945.
 - 9.—HAZARD, R.—Presse Med. 44: 529-31, 1948.
 - 10.—HAZARD, R., BONAMML, C. et CORNEC, A.—Presse Med. 77: 1135, 1949.
 - 11.—HAZARD, R., DEROT, M. et MM. PICARD-JACQUET.—Presse Med. 36: 87-8, 1948.
 - 12.—HAZARD, R. et DEROT, M.—Presse Med. 57: 114, 1949.
 - 13.—WARNER, K.—J. Pharmacol. & Exper. Therap. 104: 122-34, 1952.
 - 14.—HAZARD, R., NICAUD, P. et LAFITTE, A.—Presse Med. 57: 115, 1949.
 - 15.—PIZZI, M.—Imp. Univ. Stgo. de Chile, 1947.
-