

Cátedra de Fisiología de la Facultad de Medicina de Barcelona  
(Prof. Dr. J. Jiménez Vargas)

## La fosfatasa sérica en la ictericia experimental del perro

A. BALCELLS-GORINA y ALBERTO SOLS

Nuestras observaciones clínicas sobre fosfatasa sérica en enfermos h́epato-biliares que son objeto de otra publicaci3n (3), nos indujeron a estudiar en el animal estados similares que pudieran provocarse experimentalmente.

Las referencias bibliogŕaficas no son del todo concordantes. BODANSKY y JAFFE (1933-34) encuentran un aumento de la fosfatasa sérica, progresivo, en los perros con obstrucci3n biliar. ARMSTRONG y KING (1935) lo registran tambi3n en los perros con ictericia t3xica experimental y no en la hemolítica. FREEMAN, CHEN e IVY (1938) observan elevaci3n de la fosfatasa en todas las formas de lesi3n hepática, con y sin ictericia, pero especialmente en la ictericia obstructiva. GUTMAN, HOGG y OLSON (1940) por ligadura parcial de vías biliares observan una dependencia cuantitativa entre la cifra de fosfatasa y el ńmero de vías biliares ligadas. SEHRA, CHOPRA y MUKERJII (1941) registran una fosfatasa superior a 30 U. B. en los perros con ligadura de col3doco e inferior a 20 en los perros con intoxicaci3n por tetracloruro de carbono.

WEIL y RUSSELL (1942) observan un *descenso* en la actividad fosfatásica del suero en ratas con ligadura de col3doco. En gatos en iguales condiciones, no se modifica apreciablemente, seǵun demuestran las experiencias de FLOOD, GUTMAN y GUTMAN (1937).

Para comprobar la regularidad, alcance y curso de las variaciones de la fosfatasa en la ictericia obstructiva se han realizado diversas experiencias de ligadura de col3doco en perros, observando al mismo tiempo las variaciones de la bilirrubinemia y el comportamiento de los pigmentos y urobilina

en orina. Se han realizado también algunas experiencias complementarias — fistula biliar, intoxicación clorofórmica — que permiten comparar resultados y esclarecer el origen de la fosfatasa sérica.

## MÉTODOS

### *Técnicas experimentales.*

I. *Obstrucción biliar total.* — En 9 perros se ha practicado doble ligadura del colédoco y sección del mismo entre ambas. Anestesia etérea previa inducción con solución de cloral-morfina endovenosa. Laparatomía media, identificación del colédoco, doble ligadura con lino y sección intermedia, apartando los dos extremos o practicando resección del segmento de colédoco entre las ligaduras.

II. *Obstrucción biliar incompleta.* — En dos perros se practicó ligadura simple del colédoco, sin sección, con lino en un caso y con catgut en el otro. En ambos pudo comprobarse al terminar la observación, la existencia de una marcada estenosis del conducto al nivel de la ligadura.

III. *Experiencias complementarias.* — a) *Obstrucción parcial con fistula.* — En un perro se practicó sección del colédoco con ligadura del extremo inferior y abocamiento del superior, estenosado, a la superficie cutánea. Con ello se consiguió derivación del flujo biliar al exterior, interrumpiendo totalmente la llegada de bilis al intestino.

b) *Intoxicación clorofórmica.* — En dos perros se inyectaron subcutáneamente dosis repetidas de cloroformo hasta provocar lesión hepática (urobilinuria positiva).

*Métodos químicos.* — Para la determinación de fosfatasa hemos utilizado el método de uno de nosotros (11) de resultados equiparables al de BODANSKY, cuyas unidades emplea. La diferencia fundamental entre ambos métodos radica en haberse logrado una mayor exactitud en las determinaciones, con un mayor margen de concentraciones. Las características fundamentales de hidrólisis son: dilución tipo de suero 1/10, como substrato beta-glicerofosfato sódico M/50, PH = 9,4, temperatura 38°, tiempo una hora.

La bilirrubina se determinó por el método de McNEE y KEEFER.

### RESULTADOS

I. Como puede ver en los protocolos, todos los perros con ligadura del colédoco desarrollaron, de una manera constante, además del cuadro usual de la ictericia obstructiva — hiperbili-

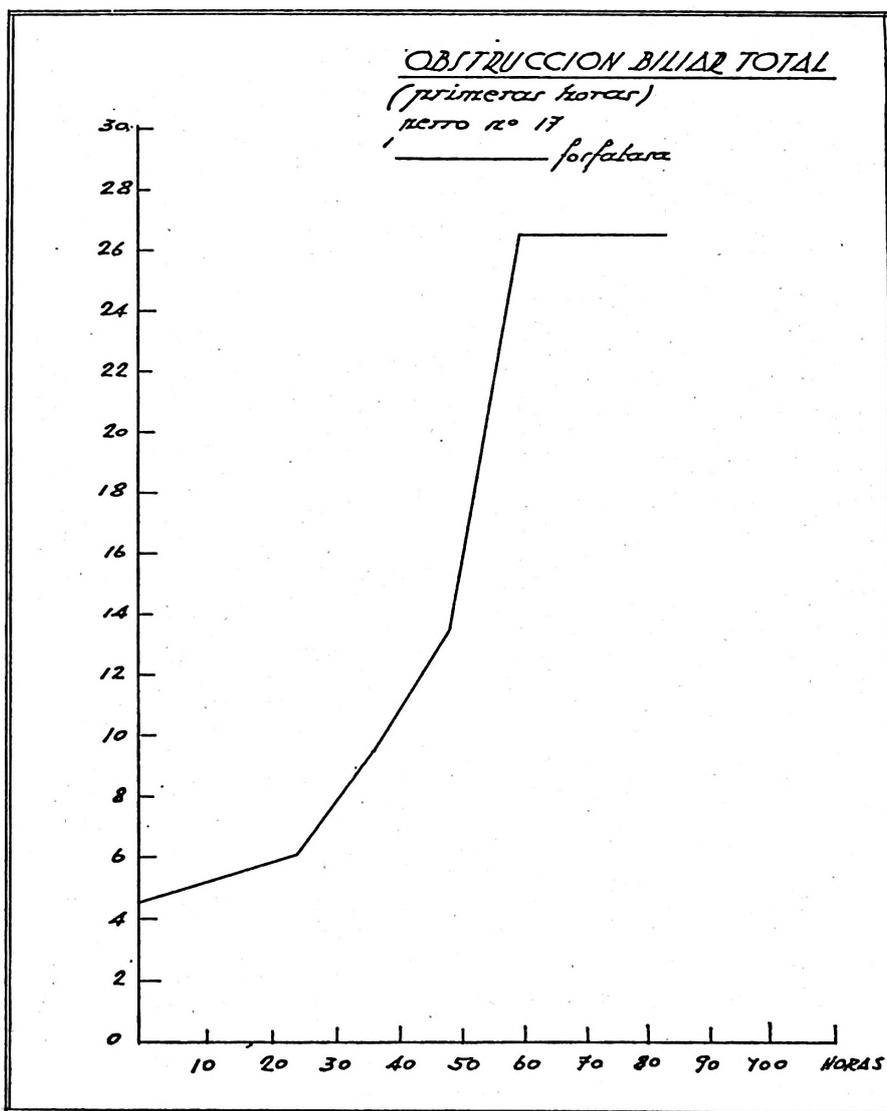


Fig. 1

TABLA I  
Obstrucción biliar total

Perro núm.	Días Horas	Fosfatasa alcalina U. B.	Bilirru- bina mg. ‰	Perro núm.	Días Horas	Fosfatasa alcalina U. B.	Bilirru- bina mg. ‰	
1	0	4	—	18	0	3,0	inapr	
	3	24	—		12	3,3	indic.	
	8	70	6,2		24	18,6	3,6	
	11	175	6,6		36	25,5	4,6	
	21	197	—		48	48,0	—	
	31	99	1,0		3	51,2	—	
	34	87	0,8		4	70,4	3,5	
	36	97,5	1,0		5	86	—	
	3	0	4,3		—	6	78	—
		2	25,5		0,4	7	65	4,0
6		110	4,0	8	68	4,0		
9		100	4,4	10	70	—		
17		134	5,0	13	123	3,0		
19		199	3,0	15	93	4,8		
27		187	2,0	18	41	—		
5		0	6,0	inapr	20	98	10,3	
	3	60,0	—	22	172	12,0		
	5	22,0	—	24	120	10,5		
	9	0	2,1	—	28	54,0	—	
3		95,0	6,8	34	121	—		
11		123	4,3	38	180	4,0		
16	0	1,5	inapr	41	96	6,0		
	1	11,0	—	44	125	3,0		
	3	55,0	—	46	60	2,6		
	8	115	13	(sigue en observación)				
	13	92	14	19	0	4,0	—	
	17	80	—		1	3,5	—	
	22	86	6		2	21,0	2,0	
	36	87	4		3	37	—	
50	30	6,5	6		31,0	—		
64	40	4,5	12		110	—		
17	0	4,5	—		16	164	6,0	
	12	5,3	—		20	115	5,5	
	24	6,1	—	22	118	3,5		
	36	9,5	—	24	81	3,1		
	48	3,4	3,1	(sigue en observación)				
	60	26,5	5,7					
	84	26,5	—					

rrubinemia, soluria, etc. — un aumento progresivo del contenido normal de fosfatasa alcalina en el suero. El ascenso de la fosfatasemia fué más o menos brusco y siempre precoz, ya en las primeras 24 horas de la ligadura. Reproducimos la gráfica correspondiente al perro núm. 17, en la que se observa el curso de la fosfatasemia en los primeros días (fig. 1). La curva global de la misma y la cifra máxima alcanzada difiere en cada caso, pero siempre se registra una elevación notable, 20 o más veces por encima de los valores iniciales (fig. 2).

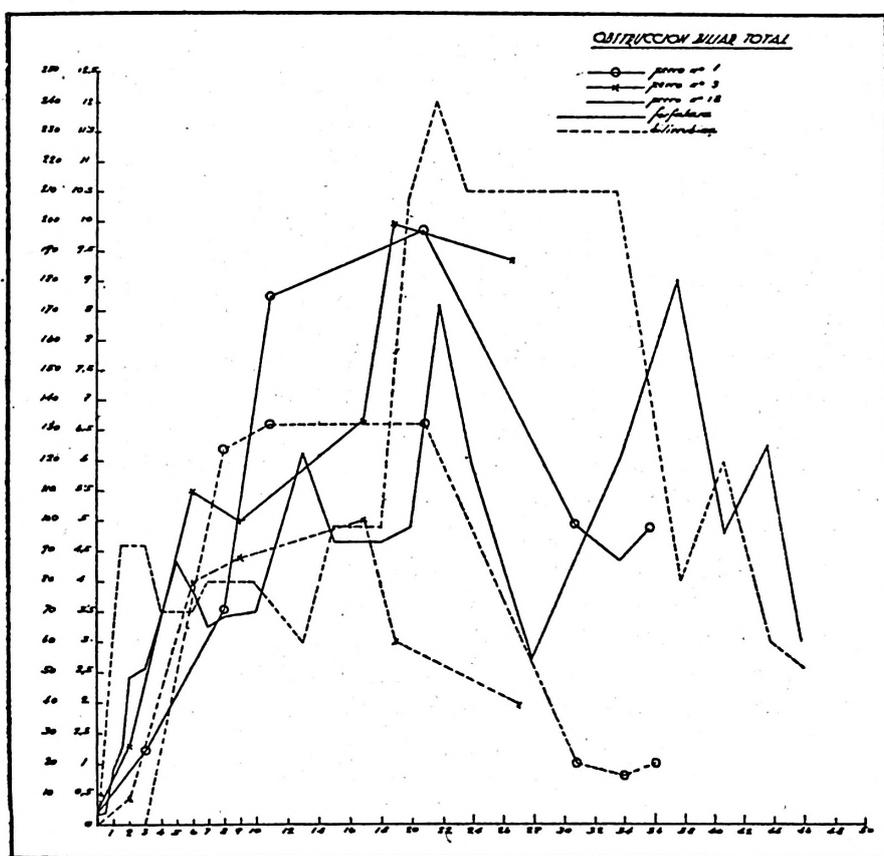


Fig. 2

En varios perros (núms. 3 y 18) el ascenso de la fosfatase-  
mia no fué uniforme, sino que se vió interrumpido por uno o  
más retrocesos a cifras momentáneamente inferiores. Especial-

mente demostrativo es el caso núm. 18, cuya curva presenta varios descensos acentuados. En algunos perros coincidió el descenso, fugaz y de escaso grado entre los días 7.º y 10.º de la ligadura, en pleno ascenso de la curva de fosfatasemia. Dado que las extracciones de sangre fueron en algunos casos forzosamente limitadas, las gráficas reproducidas no reflejan exactamente la forma real de la curva de fosfatasemia y es posible hayan pasado por alto otras oscilaciones pasajeras de la misma.

Alcanzada la máxima elevación de la fosfatasemia, ésta regresaba espontáneamente y según un descenso gradual, uniforme o dentellado. La muerte del animal ocurrió, en ocasiones, al poco de iniciarse la regresión de la fosfatasemia y en otros casos después de un descenso bastante acentuado. En todos los casos el animal experimentaba previamente una demacración progresiva y en los últimos días una pérdida notable de apetito y fuerzas. En varios casos — perros números 1, 3 y 9 — se observó la formación de una ascitis biliar, paralela a la demacración y de volumen creciente, que debe corresponder a la observada por BOLLMANN en iguales condiciones.

Si bien a grandes rasgos es simultánea la bilirrubinemia elevada, comparando la curva de fosfatasemia con la de bilirrubinemia se observa, en general, una elevación proporcionalmente mayor en la primera. En los primeros días el ascenso era sensiblemente paralelo y de grado parecido. En algún caso, como en el perro núm. 8 el curso ulterior de ambas curvas fué francamente discordante. El descenso de la bilirrubinemia se anticipó siempre al de la fosfatasemia.

II. En los dos perros con obstrucción biliar incompleta (ligadura estenosante del colédoco) se comprobó también una elevación notable de la actividad fosfatásica del suero alcanzando en uno de ellos — perro núm. 7 — los valores máximos entre todos los registrados (270 U. B.), presentándose en cambio escasamente elevadas, salvo el ascenso inicial, las cifras de bilirrubinemia en los dos perros de esta serie en comparación con los de la anterior y en vivo contraste con la curva de fosfatasemia.

La necropsia demostró marcada dilatación de la vesícula y vías biliares superiores, con calibre normal, permeable, del colédoco infra-estenótico y bilis en luz intestinal. En ninguno de los dos casos se desarrolló ascitis.

TABLA II  
Obstrucción biliar incompleta

Perro núm.	Días	Fosfatasa alcalina U. B.	Bilirrubina mg. %	Perro núm.	Días	Fosfatasa alcalina U. B.	Bilirrubina mg. %
6	0	5,8	inapreci	7	52	80	inapreci
	3	59	1,4		67	23	inapreci
	8	43	—		0	5,2	
	15	117			3	60	0,5
	23	175			4	90	2,5
	25	178	1,0		10	160	2,1
	27	143	0,5		14	270	2,3
	28	145	—		31	255	
	32	124	0,4		38	115	
	40	80	0,4				

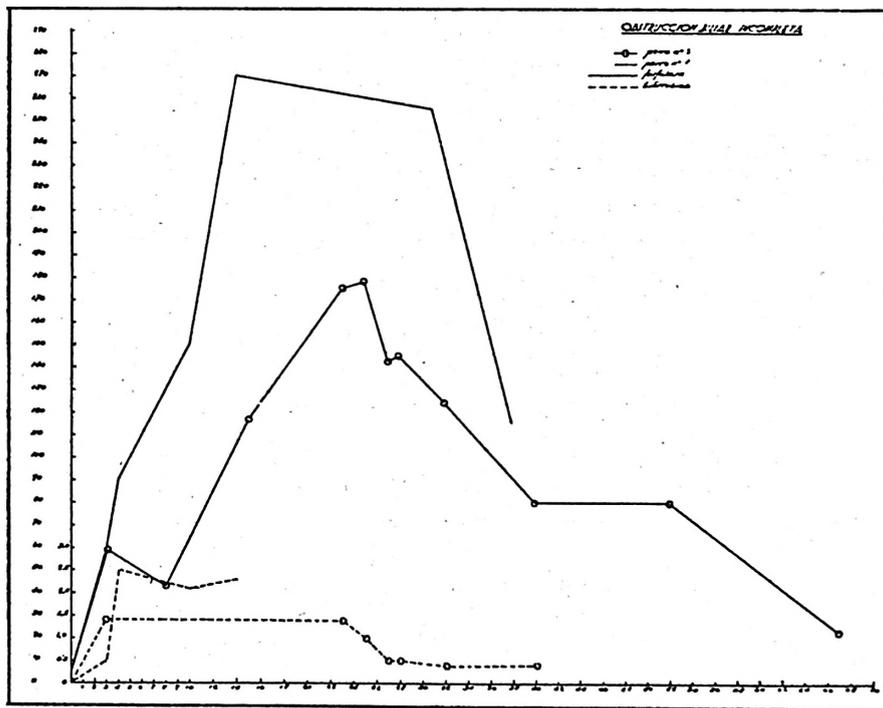


Fig. 3

III. En el caso de la estenosis parcial fistulizada comprobamos igualmente una elevación de la fosfatasemia al final de la primera semana y descenso consecutivo bastante rápido a valores menos altos.

TABLA III  
*Obstrucción biliar parcial con fistula*

Perro núm.	Días	Fosfatasa alcalina U. B.	Bilirrubina mg. ‰
10	0	4,1	inaprec
	2	30,9	1,5
	8	100	—
	10	67	4,0
	16	62	4,0

En la intoxicación clorofórmica aumentó también la fosfatasa sérica, alcanzando, sin embargo, cifras notablemente inferiores a las registradas en todos los demás casos. La curva de fosfatasemia contrasta en este caso con la de bilirrubinemia — siempre comparando valores «proporcionales» — por su escasa altura y mayor duración. Comunicamos solamente una observación de este tipo, ya que la muerte precoz del animal dejó incompleto el otro protocolo.

TABLA IV  
*Intoxicación clorofórmica*

Perro núm.	Días	Fosfatasa alcalina U. B.	Bilirrubina mg. ‰
8	0	1,4	—
	3	16,3	2,5
	5	23,5	7,5
	10	58	—
	12	48	18
	19	28	inaprec
	40	0,8	—

## DISCUSION

Confirmando observaciones análogas, nuestras experiencias nos parecen especialmente demostrativas del hecho de que toda obstrucción, aunque sea parcial, incompleta e intermitente del flujo biliar, lleva consigo una elevación mayor o menor, pero siempre notable, de la actividad fosfatásica del suero.

No sólo es innecesaria una obstrucción completa, sino que tampoco existe a nuestro modo de ver una relación estricta con el grado de obstrucción. La simple comparación de la curva de fosfatasemia con la de la bilirrubinemia parecería demostrarlo, si no tuviéramos en cuenta el hecho conocido de que en los perros raramente se produce una hiperbilirrubinemia pronunciada debido a su bajo dintel renal para la bilirrubina, mientras que ya se sabe también que estos animales presentan una impermeabilidad renal frente a las fosfatasas (cosa que no sucede, por ejemplo, en los gatos). Pero los dos perros con estenosis pronunciada del colédoco ofrecen una prueba irrefutable de ello, pues frente a las máximas cifras de fosfatasemia muestran una discreta elevación de la bilirrubinemia.

La aparente discrepancia de resultados entre la simple obstrucción biliar incompleta y la combinada con fístula externa, no la referimos en modo alguno a la llegada o no de bilis a intestino, sino al distinto grado de estenosis coledociana provocada: marcado en el caso de la simple ligadura y mínimo en el de la fístula.

No vemos clara la precedencia señalada por ARMSTRONG, KING y HARRIS de la hiperfosfatasemia respecto de la hiperbilirrubinemia y coluria, tras la ligadura del colédoco. Si bien la elevación de la primera ha sido siempre, como acabamos de ver, mucho más brusca e importante, en líneas generales ambos ascensos han sido simultáneos.

Tampoco podemos confirmar la aseveración de FREEMAN y colaboradores de registrarse las máximas cifras en los casos con ascitis biliar.

Esta elevación considerable del *cociente fosfatasabilirrubina* en la obstrucción biliar experimental es el caso opuesto al que en la clínica hemos podido observar (l. c.) en las lesiones

graves del parénquima hepático en que la desviación es de orden similar, pero de sentido inverso y opuesto también, aunque en menor grado, al de la hepatitis tóxica experimental (reversible).

La comparación de ambos extremos permite afianzar más la hipótesis ya generalmente admitida, pero no incontrovertiblemente demostrada, del origen hepático de la fosfatasa anormalmente presente en los sueros ictericos. En efecto, en cuanto a órgano de *eliminación* el sistema hígado-vías biliares puede fallar tanto por oclusión de éstas como por lesión generalizada de aquél. Y así ocurre en cuanto a la eliminación de bilirrubina, con la «ventaja» para la lesión parenquimatosa grave sobre la mayoría de las oclusiones clínicas — excluimos las obstrucciones neoplásticas completas — de su carencia de intermitencias y aun irreversibilidad, por lo que las mayores bilirrubinemias suelen verse en estos casos. Mientras que en cuanto a *fuentes* de una sustancia cuya vía normal es la bilis y en la retención de ésta rebosa a la sangre, es evidente que si se afecta al parénquima debe afectarse también dicha producción y consiguientemente ser la fosfataseemia menor que en la oclusión de vías biliares, en contraste con la bilirrubinemia.

### CONCLUSIONES

En la obstrucción biliar total en el perro la fosfatasa alcalina del suero se eleva rápidamente a partir del día siguiente, y aun antes, a la ligadura hasta un máximo de 30 a 60 veces la media normal alrededor de la 4.<sup>a</sup> semana.

Durante el 2.<sup>o</sup> mes desciende lenta pero notablemente.

Es frecuente una curva ondulatoria — dentro del ritmo general indicado — hecha patente por la frecuente repetición de las determinaciones.

La curva de bilirrubina asciende al principio paralelamente. Hacia el fin de la segunda semana, se inicia ya el descenso, dissociándose así de la de la fosfataseemia.

En la estenosis pronunciada del colédoco la elevación de la fosfataseemia es de orden semejante, contrastando la escasa elevación de la bilirrubina.

### Resumen

Se estudia el curso de la fosfatasemia en diversas condiciones de retención biliar experimental en el perro, comparándolo con el de la bilirrubinemia. Se ponen de relieve las condiciones de paralelismo o disociación de ambas curvas.

La elevación de la fosfatasemia es más pronunciada y sostenida que la de la bilirrubina en todas las formas de oclusión total o parcial de las vías biliares.

### Summary

We study the course of phosphatasemie in several conditions of experimental bile retention in dogs, which is compared with the course of bilirubinemie. The conditions of parallelism of dissociation of both curves are evidenced.

The increase of phosphatasemie is more pronounced and constant that which corresponds to the bilirubine in all forms of total or partial occlusion of bileducts.

### Resume

L'on étudie le cours de la phosphathasémie dans des diverses conditions de rétention biliaire expérimentale chez le chien, en le comparant avec celui de la bilirubinémie. L'on évidence aussi les conditions de parallélisme ou de dissotiation deux courbes.

L'augmentation de la phosphathasemie est plus prononcée et soutenue que celle de la bilirubine dans toutes les formes d'occlusion totale ou partielle des voies biliaires.

### Zusammenfassung

Es wird der Verlauf der Serumphosphatase bei verschiedenen Art experimenteller Gallenstauung untersucht, und mit der des Serumbilirubins verglichen. Es wird der Parallelismus oder Dissoziation beider Kurven hervorgehoben. Die Erhöhung, der Serumphosphatase ist bei allen Formen der vollkommenen oder unvollkommenen Verschluss der Gallenwege deutlicher und dauert länger an, als die des Serumbilirubins.

### Bibliografía

1. ARMSTRONG, A. R., KING, E. J. y HARRIS, R. I. — *Canad. Med. Ass. J.*, 31, 14 (1934).
2. Id., id. — *Canad. M. Ass. J.*, 32, 379 (1935).
3. BALCELLS, A. y SOLS, A. — En prensa.
4. BODANSKY, A. y JAFFE, H. L. — *J. Biol. Chem.*, 109, 10 (1935).
5. Id., id. — *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 31, 1179 (1933-34).

6. FREEMAN, S. E., CHEN, Y. P. e IVY, A. C. — J. Biol. Chem., 134, 79 (1939).
7. FLOOD, CH. A., GUTMAN, E. B. y GUTMAN, A. B. — Am. J. Physiol., 120 696 (1937).
8. GUTMAN, A. B.; HOGG, B. M. y OLSON, K. B. — Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 44, 613 (1940).
9. MC. NEE, J. W. y KEEFER, C. S. — Brit. Med. J., 11, 52 (1925).
10. SEHRA, K. B., CHOPRA, I. C. y MUKERJII, B. — Indian J. Med. Res., 29, 647 (1941).
11. SOLS, A. — Las fosfatasas en la absorción selectiva de glúcidos. Tesis doctoral (Abril de 1946).
12. WATKINSON, J. M., DELORY, G. E., KING, E. J. y HADDOW, A. — Brit. Med. J., 492 (1944).
13. WEIL, L. y RUSSELL, M. A. — J. Biol. Chem., 144, 307 (1942).