



Arxiu històric FUNDACIÓ JAUME BOFILL

Trabajos sobre la digestión

MARÇ 1979

FUNDACIÓ
Fundació
JAUME
Jaume
BOFILL
Bofill

INDICE.-

Introducción.....	pag.	1
Absorción de los lípidos.....	pag.	6
Alteraciones en la Digestión y Absorción de los lípidos	pag.	21
Lípidos Fecales	pag.	23
Dietas y recolección de muestras	pag.	23
Determinación de lípidos fecales por gravimetría.....	pag.	24
Estudio de la eliminación fecal de lípidos en adultos sanos.....	pag.	26
Estudio de la eliminación fecal de lípidos en cirróticos	pag.	30
Cromatografía en Capa Fina de lípidos fecales.....	pag.	32
Preparación de placas.....	pag.	32
Estudio de lípidos neutros.....	pag.	33
Estudio de Fosfolípidos	pag.	35
Estudio de ésteres del colesterol.....	pag.	35
Iconografía	pag.	37
Cuantificación de Triglicéridos fecales.....	pag.	69
Aplicación de la técnica de EGGSTEIN.....	pag.	69
Estudio de la eliminación fecal de triglicéridos en adultos sanos.....	pag.	72
Estudio de la eliminación fecal de triglicéridos en enfermos cirróticos.....	pag.	76

ARXIV

Estudio de los lípidos fecales por cromatografía de gases.....	pag. 78
Preparación de las columnas	pag. 80
Acondicionamiento de las columnas	pag. 82
Condiciones cromatográficas empleadas...	pag. 82
Identificación de ácidos grasos.....	pag. 83
Cálculo de los cromatogramas.....	pag. 83
Métodos usados para la hidrólisis y metilación de los ácidos grasos utilizados.....	pag. 83
Metilación	pag. 85
Metilación con Trifluoruro de Boro.....	pag. 86
Artefactos.....	pag. 86
Iconografía.....	pag. 88
Estudio de la biopsia intestinal.....	pag. 97
Metódica de estudio.....	pag. 99
Estudio de la biopsia intestinal en la cirrosis hepática.....	pag.108
Iconografía	pag.110
Estudio de la mucosa del intestino delgado, al Microscópio Electrónico en la cirrosis hepática.	pag.126
Iconografía.....	pag.127
Bibliografía.....	pag. 131
Justificación de la solicitud de la beca.....	pag. 147
Curriculum Vitae.....	pag. 149

A

De los tramos de que se compone el tubo digestivo es, en estos momentos, el intestino delgado el menos conocido, a pesar de ser el de mayor importancia metabólica ya que en su luz se realiza la mayor parte de la digestión de los alimentos y, en él, se absorben los principios inmediatos, vitaminas y minerales y, asimismo, se produce a su nivel un importante intercambio hidroelectrolítico.

La absorción de sustancias nutritivas en los mamíferos es realizada por las células epiteliales de la mucosa intestinal, que están cubiertas por el "ribete en cepillo". Todas las sustancias necesarias para el crecimiento, reproducción actividad cerebral, etc. son absorbidas por esta membrana especializada.

El intestino delgado era difícilmente asequible a la exploración, en el hombre, hasta hace pocos años; solo, la radiología y algunas pruebas biológicas, como la determinación de carotenos plasmáticos, la turbidez del suero, determinación de la eliminación fecal de lípidos (Van de Kamer), absorción de lípidos neutros marcados con I-131 y determinación del nitrógeno fecal podían informar, de forma vaga, respecto de una afección de este segmento del tracto digestivo. (1, 2,3,4,5,6)

Hasta el año 1956 en que, independientemente, la Dra. Margot Shiner, en Gran Bretaña y el Coronel Willam H. Crosby, en los Estados Unidos, desarrollaron y popularizaron instrumentos destinados a obtener, en forma peroral, biopsias del intestino delgado en el hombre, el conocimiento de la fisiología del intestino delgado tenía su base en la experimentación animal. Este progreso técnico hizo posible el estudio de la mucosa intestinal sin necesidad de recurrir a la exploración qui-

2

rúrgica e impulsó una serie de estudios que condujeron al descubrimiento de lesiones de la mucosa en el esprue tropical, enfermedad celíaca, cólera, enteropatía exudativa y otras enfermedades.

Gracias a estos hallazgos, se despertó nuevamente el interés por el intestino delgado y su papel en el metabolismo, apareciendo nuevas técnicas biológicas de exploración: sobrecarga con disacáridos, determinación de disacaridasas en la pieza de biopsia, test de absorción de la D-xilosa, estudio de la absorción de gelatinas, de Polivinilpirrolidona, albúmina marcada con Cr-51 y RISAH. (7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19).

La fisiología del intestino delgado tiene actualmente numerosos puntos oscuros y en discusión, como: la absorción activa o pasiva de algunas sustancias, o si el mismo enterocito tiene papel activo en la digestión, en la que tendrían un papel definido diversas enzimas como la fosfatasa alcalina, sucrasa, lactasa, de forma que la absorción y digestión de algunas sustancias, como los disacáridos, están íntimamente unidas y no son fenómenos separados.(20).

Lo mismo ocurre en la digestión de las proteínas, ya que las células epiteliales de la mucosa contienen peptidasas que hidrolizan los dipéptidos y tripéptidos en aminoácidos. La situación en el caso de los lípidos es mas incierta; algunas estererasas existen en la célula epitelial, pero no se conoce su papel en la digestión de las grasas (21).

Existe tambien la posibilidad de que la mucosa intestinal juegue un importante papel en la digestión de los folatos ingeridos en la dieta. El ácido fólico, en los alimentos, está casi exclusivamente en forma conjugada (poliglutamato), la cual tiene escasa actividad biológica. La incubación del ~~...~~ con varios fragmentos de epitelio intestinal produce

monoglutamato, el cual tiene una alta actividad biológica (22).

Por otra parte, en el interior del intestino delgado se realiza gran parte de la digestión y a él van a parar los elementos de la secreción pancreática y biliar, indispensables para la digestión y absorción de los lípidos. Mas adelante comentaremos sus características fisicoquímicas.

Algunos autores como Cooke y Grossman (23) observaron que la secretina, además de provocar la eliminación pancreática de agua y bicarbonatos, provocaba la secreción de las glándulas de Brunner en el perro. Similares resultados fueron aportados por Love y cols. (24), Gardner y cols. (25) empleando una preparación de asa evertida de hamster observan; que la colecistocinina produce inhibición del paso de Na, K, Cl y agua a través del intestino delgado. Moritz y cols. (26) estudian este aspecto en el hombre hallando que la secretina y colecistocinina inhiben la absorción de agua, Na, K y cloro en el intestino delgado, confirmando así, en el hombre, las observaciones anteriores.

Actualmente el estudio de las sales biliares es considerado de vital importancia, no solo en el plano fisiológico y en el estudio de la circulación entero-hepática, sino en el papel que tienen en la patogenia de algunas enfermedades, como en las gastritis y ulcus gástrico (27,28), pancreatitis (29), carcinoma de colon (30), etc. y en las alteraciones que puede sufrir su metabolismo o su síntesis, tal como está descrito en la hepatitis aguda (31), en la colecistectomía, colectomía e ileostomía (32) y las alteraciones que pueden sufrir en casos de modificación de la flora bacteriana del intestino delgado, (32), entre otras.

Desde hace pocos años, el estudio de las inmunoglobu-

linas en el tracto gastrointestinal ha tomado gran auge. En el hombre se han demostrado distintas clases de inmunoglobulinas en las secreciones intestinales (33,34) y, utilizando técnicas de inmunofluorescencia, pueden observarse, en la lámina propia del intestino, células plasmáticas que las contienen. La IgA es la predominante en estas secreciones y en las células plasmáticas. En contraste, el contenido de IgD e IgE en las secreciones es pequeño y las células que las contienen son escasas y están dispersas en la lámina propia; a pesar de todo, el tracto gastrointestinal es una de las zonas más importantes en que existen células que contienen IgE.

La mayor parte de IgA que contiene el tubo intestinal es la forma "secretora"-11S(33,34).

Las células plasmáticas de la mucosa y la secreción de inmunoglobulinas (en particular IgA secretora), constituyen parte del sistema inmunitario que defiende la mucosa; la IgA secretora contiene anticuerpos, isohemaglutininas por ejemplo, y anticuerpos víricos y bacterianos (33). El mecanismo antiviral y antibacteriano de la IgA no es bien conocido.

La pérdida de proteínas por el tracto gastrointestinal es un importante proceso en el catabolismo de estas; sin embargo las pérdidas en sujetos normales no son bien conocidas, ya que no existen técnicas satisfactorias para cuantificarlas, y sujetas a controversias. No obstante, los datos obtenidos sugieren que estas pérdidas proteicas son, probablemente, de poca importancia en el normal metabolismo de las inmunoglobulinas (35,36). En algunas enfermedades estas pérdidas están incrementadas como en la Linfangiectasia intestinal (37,38), enfermedad de Whipple (39), Fístula linfática (40,41), Insuficiencia cardíaca congestiva (42,43), Colitis ulcerosa, ente-

didias es conocido.

En otras enfermedades como el esprue celíaco (46,47) Hipogammaglobulinemia (48), Hipertrofia de la mucosa gástrica (49,50,51), Infiltración amiloidótica del intestino delgado o Gastroenteropatía alérgica (52), el mecanismo de aumento de las pérdidas es oscuro.

En otros casos, existe un aumento en la producción de inmunoglobulinas, como sucede en la enfermedad de las cadenas pesadas alfa (53,54).

Algunos autores (55) postulan que el mecanismo por el cual se altera la mucosa intestinal en la enfermedad celíaca tiene una base inmunológica, y aunque esta teoría no está plenamente demostrada, no ha sido desechada en ningun momento; la concentración sérica de IgA tiende a ser elevada en los pacientes con dicha enfermedad no tratada. Este incremento sérico de IgA es presumible sea debido al incremento de la IIS IgA en la lámina propia del intestino (56). Además la IIS IgA secretora puede ser encontrada en el suero en mayor concentración en los pacientes con enfermedad celíaca y también en los que padecen enteritis regional y colitis ulcerosa, que en los sujetos normales (57). En contraste con la IgM suele encontrarse en escasa cantidad en la enfermedad celíaca (48,59,60,61).

Se han hallado anticuerpos circulantes para el gluten o fracciones de este, pero los títulos obtenidos no están estrechamente relacionados con la actividad de la enfermedad celíaca (62). También se han encontrado, en pacientes con esta enfermedad, anticuerpos circulantes para otras proteínas alimenticias; estos dos tipos de anticuerpos, contra el gluten y proteínas alimentarias, se han detectado también en otros pacientes con enteropatías distintas a la enfermedad celíaca (62). Similares anticuerpos se han encontrado en la secreción yeyu-

nal en la enteropatía por gluten y otras enfermedades intestinales. Sin embargo, la incidencia de anticuerpos para el gluten es apreciablemente mayor en la enfermedad celíaca que en las otras.

Algunas enfermedades con concentraciones anómalas de inmunoglobulinas en plasma y secreción intestinal, si exceptuamos la enfermedad celíaca, pueden estar asociadas a malabsorción intestinal; esto es lo que ocurre en la hipogammaglobulinemia adquirida y ciertos tipos de disgammaglobulinemia (por ejemplo los tipos I y IV) (56). En algunos de estos casos se incrementa el contenido bacteriano del intestino delgado, y otros suelen presentar infestaciones por *Giardia Lamblia*.

El intestino delgado puede presentar alteraciones morfológicas que son reflejo de enfermedades extrínsecas a él; estas anomalías fueron descritas por Creamer en 1964 (63), y se catalogan como síndrome paraneoplásico.

Vemos pues que la fisiología del intestino delgado e innumerables aspectos de su fisiopatología permanecen todavía muy oscuros; cuanto mejor se conozca la fisiología de este órgano, mejores exploraciones funcionales podrán efectuarse y, en consecuencia, los diagnósticos se realizarán con base fisiopatológica. Todo ello, redundará en un tratamiento más correcto.

En el Servicio de Gastroenterología del Hospital Clínico y Provincial de Barcelona hemos puesto en marcha algunas técnicas de exploración del intestino delgado y de absorción de los lípidos, en colaboración con el Dr. Pascual Mostaza, que a continuación exponemos.

ABSORCION DE LOS LIPIDOS

El hombre ingiere entre 25 y 160 gr. de lípidos por día (64); estos están formados principalmente por triglicéridos, peque-

pidos.

- Papel del estómago

Las grasas ingeridas en la comida llegan al estómago en donde el ácido clorhídrico y las pepsinas tienden a destruir las emulsiones naturales o artificiales en que se encuentran; los glicéridos, a nivel gástrico, sufren un ataque mas reducido. Son dos los factores que tendremos que considerar como responsables de esta acción: el ácido clorhídrico y la lipasa gástrica. La acción del primero es de muy poca importancia; no obstante, es bien conocida la capacidad del ácido para actuar sobre los enlaces ester. La lipasa gástrica, que para algunos autores procede del intestino (64), ejerce su acción sobre los triglicéridos formados por ácidos grasos de cadena corta, entendiéndose por tales los que tienen hasta 10 carbonos; su actividad, que es estable a pH 2 según Cohen (65), será mayor cuanto menor sea la cadena de los ácidos grasos que forman los triglicéridos, encontrándose así una actividad máxima para la tributirina. Estos triglicéridos de cadena corta se encuentran en concentraciones apreciables tan solo en la leche; así, la leche de vaca contiene aproximadamente un 4,3% de estos triglicéridos, mientras que su contenido en la leche humana es mínimo (66).

De lo expuesto se deduce que la discutida lipasa gástrica (algunos autores han negado su existencia) tiene una acción muy restringida y practicamente sin importancia.

- Lipolisis en la luz intestinal.

Las contracciones rítmicas del estómago y primera porción del duodeno tienden a formar una emulsión; para algunos autores se ve favorecida por la aparición de ácidos grasos libres en el estómago, como resultado de la acción de la lipasa

gástrica; no obstante, ya hemos visto en el párrafo anterior el escaso poder de aquella, por lo cual esta teoría parece bastante improbable. Pero esta emulsión de tipo mecánico no es suficiente para una correcta acción de la lipasa pancreática; la secreción biliar es la que aporta los emulgentes necesarios para que se establezcan unas condiciones apropiadas para la acción de la lipasa pancreática; el taurocolato, presente en cantidad considerable en la secreción biliar, ejercería los efectos antes anotados. De lo dicho hasta aquí se desprende que, a nivel duodenal, las grasas son emulsionadas y que sobre esta emulsión actúa la lipasa pancreática, comenzando así, el proceso hidrolítico.

De los experimentos de Borgstrom y cols. (67,68) se deduce que en el duodeno las grasas sufren un activo proceso de hidrolisis y paralelamente a este empieza el proceso de absorción, el cual entre los 50-100 cm. de yeyuno habrá alcanzado valores de hasta el 95%.

Yeyuno e ileon se comportan de manera distinta en cuanto a su motilidad; esto es de gran importancia en cuanto a la absorción de las grasas; su tránsito por el yeyuno es rápido mientras que por el ileon es lento; así puede, en ocasiones, absorber grasas presentes en el quimo que no fueron en el yeyuno (por rapidez en el tránsito), constituyendo así una reserva funcional importante. Este concepto es de gran interés en el caso de las resecciones del intestino delgado.

- Emulsión de las grasas.

Los glicéridos, para poder ser hidrolizados, han de sufrir una emulsión previa; ésta se verifica en el duodeno por la acción de emulsificantes tales como: ácidos grasos libres, monoglicéridos, colesterol, lecitina, lisolecitina, proteínas y, primordialmente, sales biliares.

La emulsión de las grasas se efectúa mediante mecanismos físico-químicos sobre los que vamos a hacer algunas consideraciones. Inicialmente, por su carácter de insolubilidad en el agua, las grasas ingeridas se encuentran en una fase oleosa rodeada de una fase acuosa; bajo estas condiciones, no es posible que sean atacadas por la lipasa pancreática y no podrían ser absorbidas. La entrada en contacto del quimo con la secreción biliar posibilita, como ya se ha dicho, la acción de la lipasa pancreática.

La fase oleosa (69) está formada, principalmente, por triglicéridos a los que acompañan pequeñas cantidades de diglicéridos y ácidos grasos libres. No obstante poseer estos dos últimos cierta polaridad, no es suficiente para permitir, por sí sola, el ataque de la lipasa pancreática; esto es posible gracias a los productos de la secreción biliar; en efecto, las sales biliares y las lecitinas transformadas en lisolectinas por la acción de la lecitinasa A procedente del páncreas se comportan como detergentes auténticos y, como tales, en determinadas condiciones de concentración, pH y temperatura, forman micela.

La disposición de las moléculas que la integran es la siguiente: en la superficie se sitúan los polos hidrófilos, mientras que los lipófilos se disponen hacia el interior; como resultado de esta disposición molecular, se forman agregados esféricos de aproximadamente 40-50 Å. Paralelamente, la lipasa pancreática va hidrolizando y, como resultado de este proceso, aparecen sucesivamente diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos libres y glicerol. Si exceptuamos este último, los demás productos poseen en mayor o menor grado carácter hidrófobo, por lo que no pueden entrar en la fase acuosa, siendo englobados por los agregados esféricos antes mencionados cons-

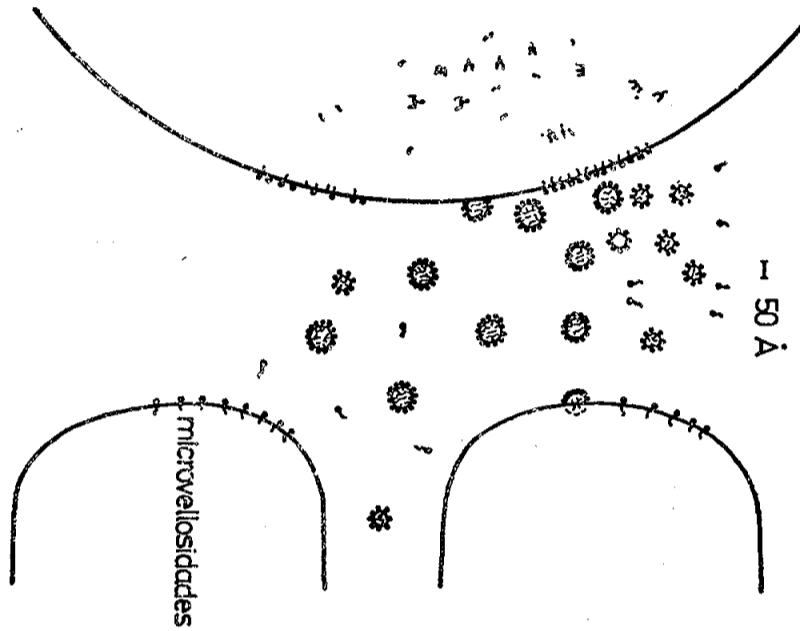
tituyéndose así la fase micelar (69).

El paso a la fase micelar de los productos de hidrólisis está en función de su polaridad; así entran más fácilmente en solución micelar los ácidos grasos libres que los monoglicéridos, y éstos más que los diglicéridos, etc. La fase micelar posee dos componentes mayoritarios, las sales biliares y los monoglicéridos; la formación de las micelas se verifica cuando las sales biliares rebasan una concentración crítica; esta depende de la sal y del monoglicérido de que se trate (32). Estas micelas pueden "solubilizar" otras moléculas tales como el colesterol y las vitaminas liposolubles. Como resultado de los procesos descritos, los lípidos ingeridos en la alimentación se encuentran en el intestino repartidos en dos fases: la micelar y la oleosa; el paso de los productos de hidrólisis de estas a la fase micelar dependerá de dos factores mal conocidos: solubilidad de los ácidos grasos libres y monoglicéridos, y del coeficiente de reparto entre ambas fases (70).

Con respecto al primero se sabe que juegan un destacado papel la temperatura, la longitud de la cadena y el grado de insaturación; cuando los ácidos grasos se encuentran libres un nuevo factor intervendrá; la constante de ionización de los mismos (64).

Los estudios morfológicos efectuados por Johnston (70,71,72) han demostrado que al pasar los lípidos de la fase oleosa (5000 Å) a la fase micelar (40-50 Å) se produce un gran aumento de superficie; estas micelas son lo suficientemente pequeñas para tener libre acceso a los espacios existentes entre las microvellosidades (500-1000 Å), por lo cual podía ser observado que las sustancias que son absorbidas en pequeña cantidad por la mucosa (di y triglicéridos por ejemplo), se encuentran presentes, en cantidades pequeñas, en las micelas.

Diámetro de la gúfcula de grasa : 5000 Å



- Hidrólisis de los triglicéridos.

La hidrólisis de los triglicéridos se verifica al actuar en la interfase de las partículas emulsionadas la lipasa pancreática (73); el proceso hidrolítico de los triglicéridos de la dieta es progresivo, apareciendo sucesivamente diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos y glicerol. No obstante, no todos los triglicéridos son hidrolizados hasta ácidos grasos y glicerol, dada la especificidad de la lipasa pancreática por las posiciones alfa y alfa prima. Los beta monoglicéridos, para poder ser atacados por este enzima, han de transformarse en alfa monoglicéridos (74), isomerización que se realiza en el intestino; una vez convertidos en alfa monoglicéridos, podrán ser escindidos en glicerol y el correspondiente ácido graso. Sin embargo, se cree que la fracción de beta monoglicéridos que sufre este proceso de isomerización es minoritaria frente a los que son absorbidos en forma de monoglicéridos; esto parece ser confirmado por las experiencias de Mattson y Volpenhein (75) quienes demostraron que si se alimentaban ratas con alfa monoglicéridos, éstos eran completamente hidrolizados durante el proceso de absorción, mientras que si se alimentaban con triglicéridos se producían alfa monoglicéridos, que eran hidrolizados, y beta monoglicéridos. El 72% de los beta monoglicéridos resultantes de la hidrólisis de los triglicéridos administrados eran absorbidos en esta forma y el 28% restante sufría un proceso de isomerización a alfa monoglicéridos que, posteriormente, eran hidrolizados..

Groenberg (76) ha demostrado que los triglicéridos de cadena media se hidrolizan más rápidamente que los de cadena larga.

Así como se conocen perfectamente, desde el punto de vista cualitativo, los productos formados durante el pro-

ceso hidrolítico, no se sabe con exactitud el porcentaje de estos productos que se encuentran tras él; los estudios que se han realizado tratando de averiguarlo han dado resultados dispares que oscilan entre el 25 y el 60% (Shapiro: 77).

- Formas de absorción de los lípidos.

La zona del intestino delgado en donde se absorben los lípidos es aun motivo de discusión. Para Borgstrom (67) la absorción máxima se da en el duodeno; los experimentos por él realizados parecen concluyentes y se basan en la determinación de las grasas totales presentes en los distintos tramos del intestino delgado de un adulto normal al que se le administra una comida que contiene una cantidad de grasa conocida. Los resultados obtenidos muestran que en el duodeno se absorben aproximadamente el 50% de las grasas ingeridas y que en la parte alta del yeyuno se llega a valores del 95%.

Los productos lipídicos contenidos en el intestino delgado son absorbidos bajo tres formas:

- a) Productos totalmente hidrolizados, o sea, ácidos grasos libres y glicerol.
- b) Como lípidos parcialmente hidrolizados (mono y diglicéridos)
- c) En forma no hidrolizada (triglicéridos)

El proceso por el cual los lípidos atraviesan la pared intestinal no es del todo conocido; se admite que puede efectuarse en dos formas distintas:

1.- Pignocitosis o Microcitosis.

Según esta teoría, el paso se realizaría por invaginación de la pared celular, entre dos microvellosidades, sobre una gutícula de grasa; de esta forma se originaría una vacuola que penetraría en el interior de las células. Esta

pequeña gota sería depositada en el retículo endoplásmico y transportada al aparato de Golgi.

La importancia de este tipo de transporte se desconoce; durante mucho tiempo fué el único admitido. Existe la posibilidad, sin embargo, de que este mecanismo sea el que actúe sobre las partículas de la fase oleosa que comentábamos anteriormente. Mc. Kay y cols. (78,79,80), en sus estudios con microscopía electrónica, no han podido confirmar esta posibilidad.

2.- Difusión.

En 1963, Jonhston y Borgstron (81) demostraron, trabajando con preparaciones intestinales de hamsters y ratas, que estos tejidos "in vitro" son capaces de captar ácidos grasos y monoglicéridos de las micelas, pero que los triglicéridos en emulsión se captan en muy poca cantidad. Este proceso no consume energía y tan sólo depende de la concentración. La diferencia de concentración necesaria para que se verifique la difusión se mantiene gracias a la resíntesis de triglicéridos que tiene lugar en la célula intestinal; de esta forma se mantiene el gradiente de concentración adecuado para la penetración de los productos de la hidrólisis. No ha podido establecerse de un modo claro si la penetración de los monoglicéridos y ácidos grasos al interior de las células de la mucosa intestinal se verifica en forma de micelas, de dispersión molecular o ambas a la vez.

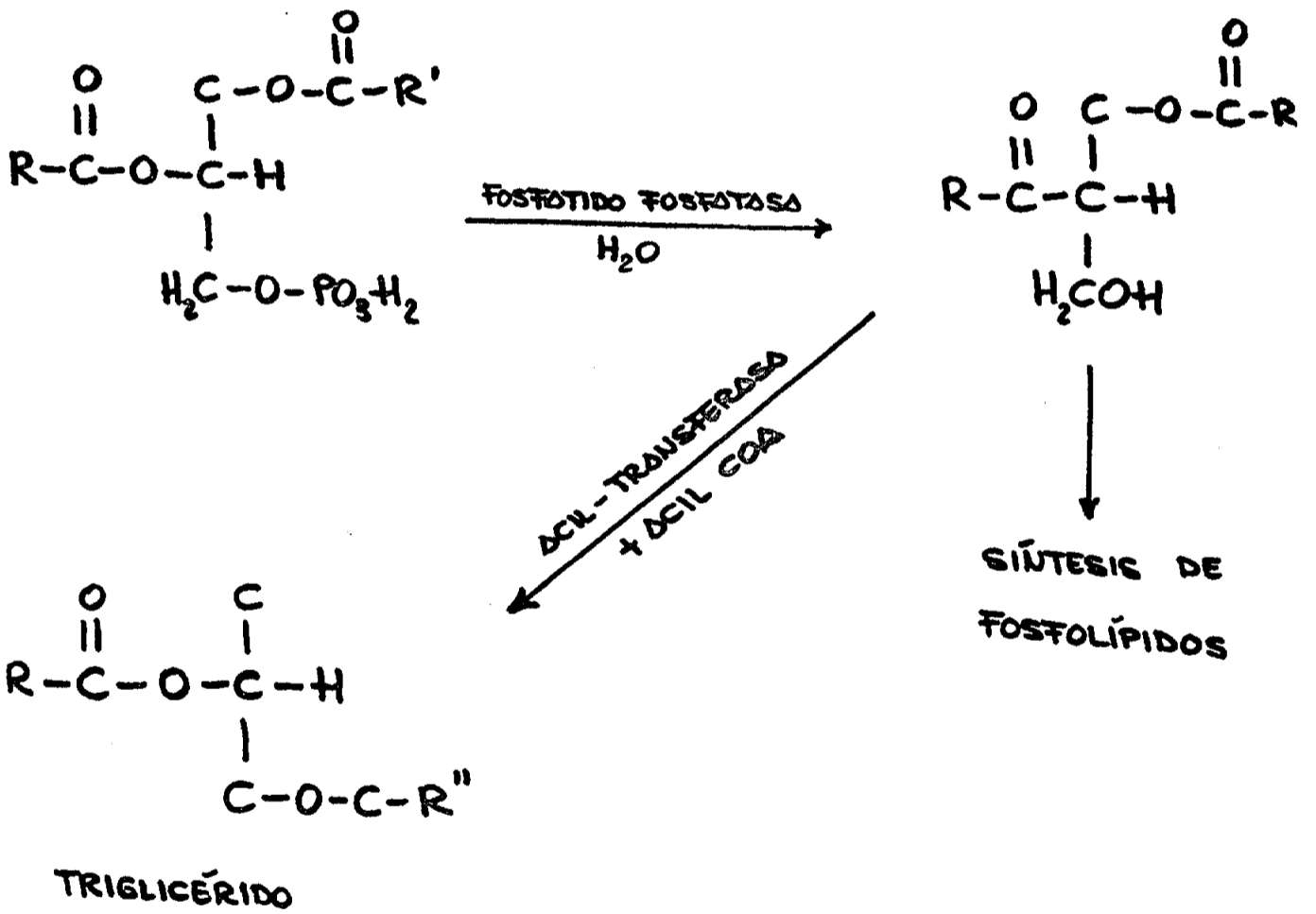
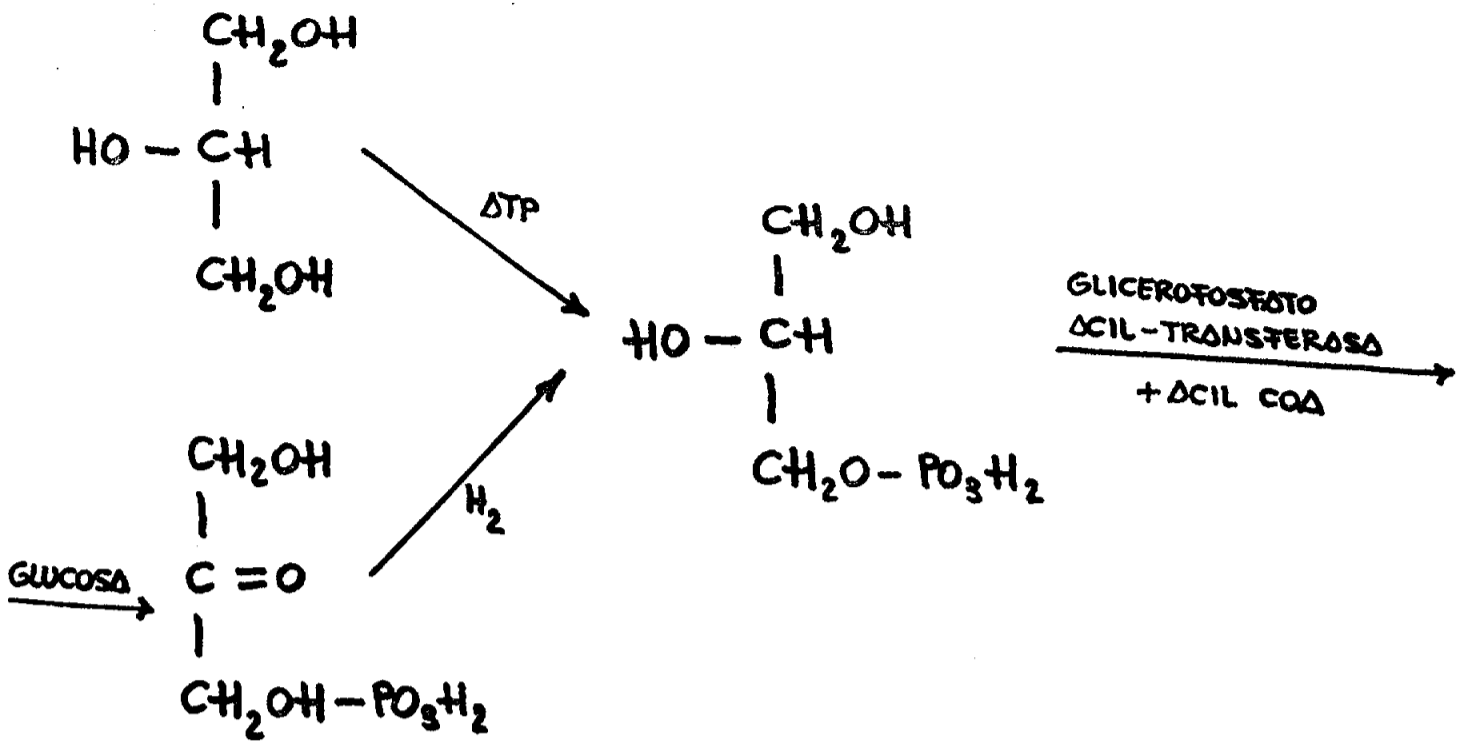
- Metabolismo en la célula intestinal.

1.- Vías de resíntesis de los productos de la hidrólisis.

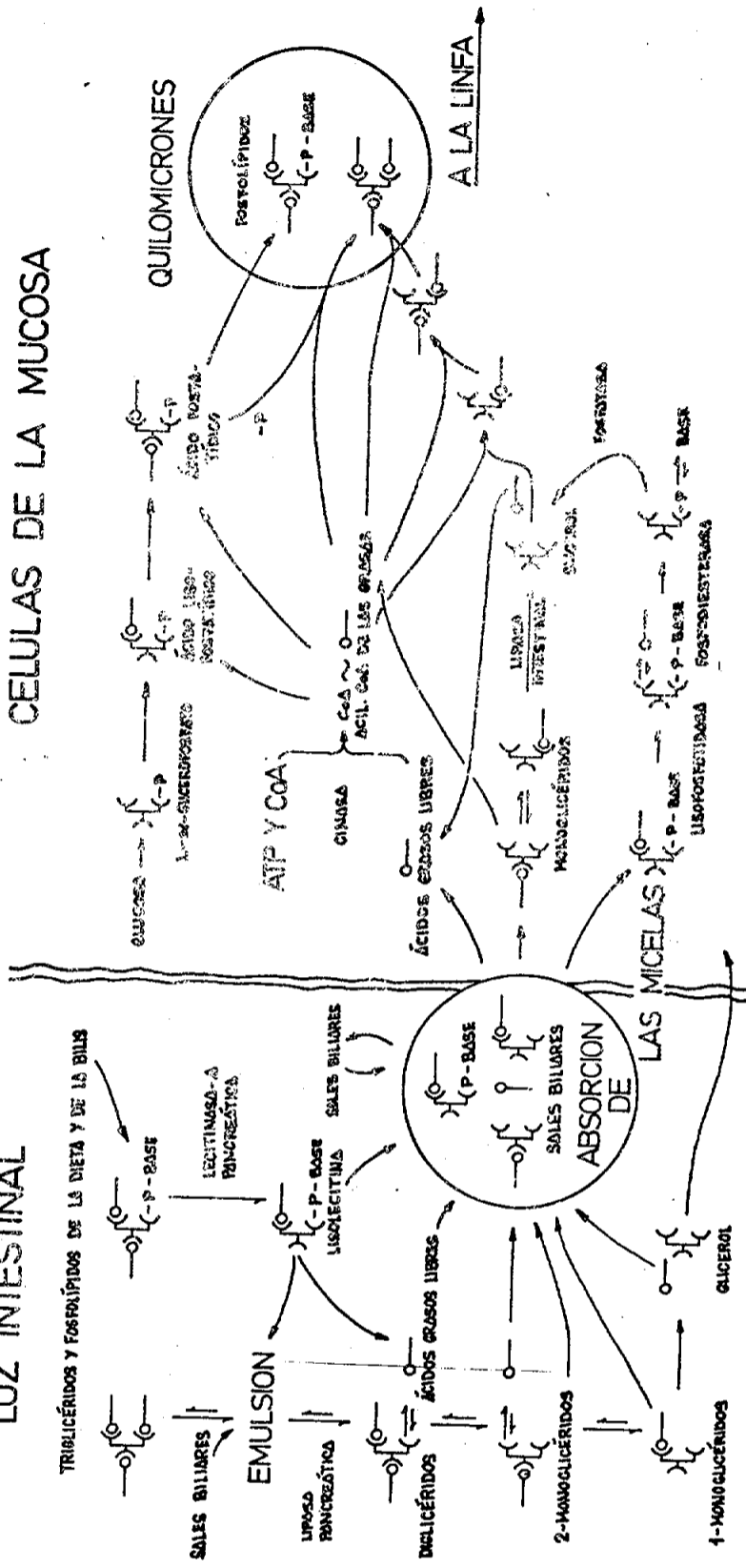
Después de una comida rica en grasas puede observarse en las células de la mucosa del intestino delgado, gutículas rodeadas de una membrana que corresponden a los triglicéridos resíntetizados: el proceso de resíntesis

se desarrolla de la forma siguiente: Los alfa monoglicéridos y betamonoglicéridos que atravesaron la membrana celular entran en contacto con otra lipasa, a la que se ha denominado lipasa intestinal por acción de la cual son hidrolizados principalmente los alfa monoglicéridos, resultando ácidos grasos y glicerol. Como resultado de este proceso y los anteriormente descritos, en el interior de la célula del epitelio intestinal, queda un "pool" formado por glicerol, ácidos grasos, beta monoglicéridos y una pequeña cantidad de alfa monoglicéridos. A partir de estos productos se realiza la resíntesis de triglicéridos, que puede seguir dos caminos:

- a) Via del alfa-glicerofosfato: Esta es idéntica a la que utiliza el hígado, y sus primeras etapas son comunes a glicéridos y fosfolípidos. El origen del alfa-glicerofosfato es doble: por una parte procede de la glucosa y por la otra de la fosforilización del glicerol libre procedente de los glicéridos. Trabajando con subfracciones celulares de mucosa intestinal, se ha demostrado que esta resíntesis requiere ATP, coenzima A y Mg^{++} ; se han encontrado en las subfracciones celulares todos los enzimas necesarios para la resíntesis (77); ésta transcurre de la forma siguiente:



LUZ INTESTINAL



ESQUEMA DE LA DIGESTIÓN, ABSORCIÓN Y METABOLISMO INTRACELULAR DE LOS LÍPIDOS. (MODIFICADO DE DAVENPORT).

b) ser englobado en las micelas y atravesar con éstas la mucosa intestinal. En el interior de la célula intestinal pasa a glicerol-1-fosfato, dado que existe glicerokinasa a este nivel; este glicerol-1-fosfato se une al que procede de la degradación de la glucosa y constituye el punto de partida para la síntesis de glicéridos y glicerofosfolípidos (vía del glicerol fosfato). (glaxo)

El glicerol que atravesó a la pared intestinal en forma de 2-monoglicérido, sirve también como punto de partida para la síntesis, pero siguiendo otro camino metabólico (vía de los 2-monoglicéridos).

ALTERACIONES EN LA DIGESTION Y ABSORCION DE LOS LIPIDOS.

Una vez estudiados los pasos que siguen los lípidos ingeridos con los alimentos en el tubo digestivo, expondremos someramente la posible etiología y fisiopatología de los trastornos de la digestión y absorción. Cualquier alteración en la secuencia de hechos fisiológicos antes señalada, podrá ocasionar la aparición de un síndrome de malabsorción intestinal.

1.- Alteraciones de la digestión.

1.-1.- Emulsificación gástrica.

La resección gástrica puede ser causa de mezcla inadecuada y tránsito rápido de los alimentos hacia el intestino.

1.-2.- Hidrólisis de los triglicéridos.

- Deficit de la lipasa pancreática.
- Síndrome de Zollinger-Ellison: por inactivación de la lipasa pancreática debido a exceso de ClH.
- Cirugía gástrica: por disminución del estímulo para la liberación de lipasa y disminución de la mezcla del enzima con los triglicéridos (Olsen P. D. - 7)
- Ictericia obstructiva intra o extrahepática: disminu-

- Crecimiento bacteriano excesivo: éstasis intestinal, esclerodermia, divertículos del intestino delgado, éstasis asa aferente, diabetes; parece ser que en estos casos las sales biliares no serían efectivas.
- Drogas: colestamina (sales biliares inefectivas), neomicina.
- Resección extensa del intestino delgado distal: disminución del "pool" de sales biliares, ya que es la zona en donde se reabsorben.

2.- Alteraciones en la absorción.

- Resección intestinal o "bypass"
- ~~Esprue~~ celíaca: por intolerancia a un polipéptido del gluten que actuaría de antígeno frente a una IgM, necesitando un complemento para formar el inmunocomplejo (Both).
- Esprue tropical: cuya etiología se cree pueda ser debida a un virus (Both, Sheehy)
- Enfermedad de Whipple
- Amiloidosis
- Infestación por Giardia Lamblia
- Irradiación
- ~~Isquemia~~ Isquemia
- Ocasionalmente, enfermedades endocrinas.

3.- Alteraciones en la reesterificación de los triglicéridos.

- Abetalipoproteinemia: por alteración en la formación de quilomicrones.

4.- Alteraciones en el drenaje linfático.

- Linfagiectasia intestinal.
- Linfoma difuso primitivo intestinal.

Las grasas ingeridas no alcanzan esta cantidad

ministra un suplemento lipídico en forma de aceite de oliva hasta totalizar los 100 gr. día. La recolección de las heces se efectúa a partir del tercer día de iniciarse el control dietético, prolongándose por espacio de 72 horas; las muestras se remiten diariamente al laboratorio donde se conservan congeladas. Finalizado el periodo de recogida, se procede a la homogenización de las heces y seguidamente a la valoración de los lípidos totales por el método de SOBEL.

1.-2.- Determinación de los lípidos fecales por gravimetría.

Todos los métodos gravimétricos se basan en la extracción de los lípidos de una cantidad de heces conocida y pesada de los mismos; las diferencias entre los distintos métodos gravimétricos propuestos radica en las diferentes mezclas extractivas usadas.

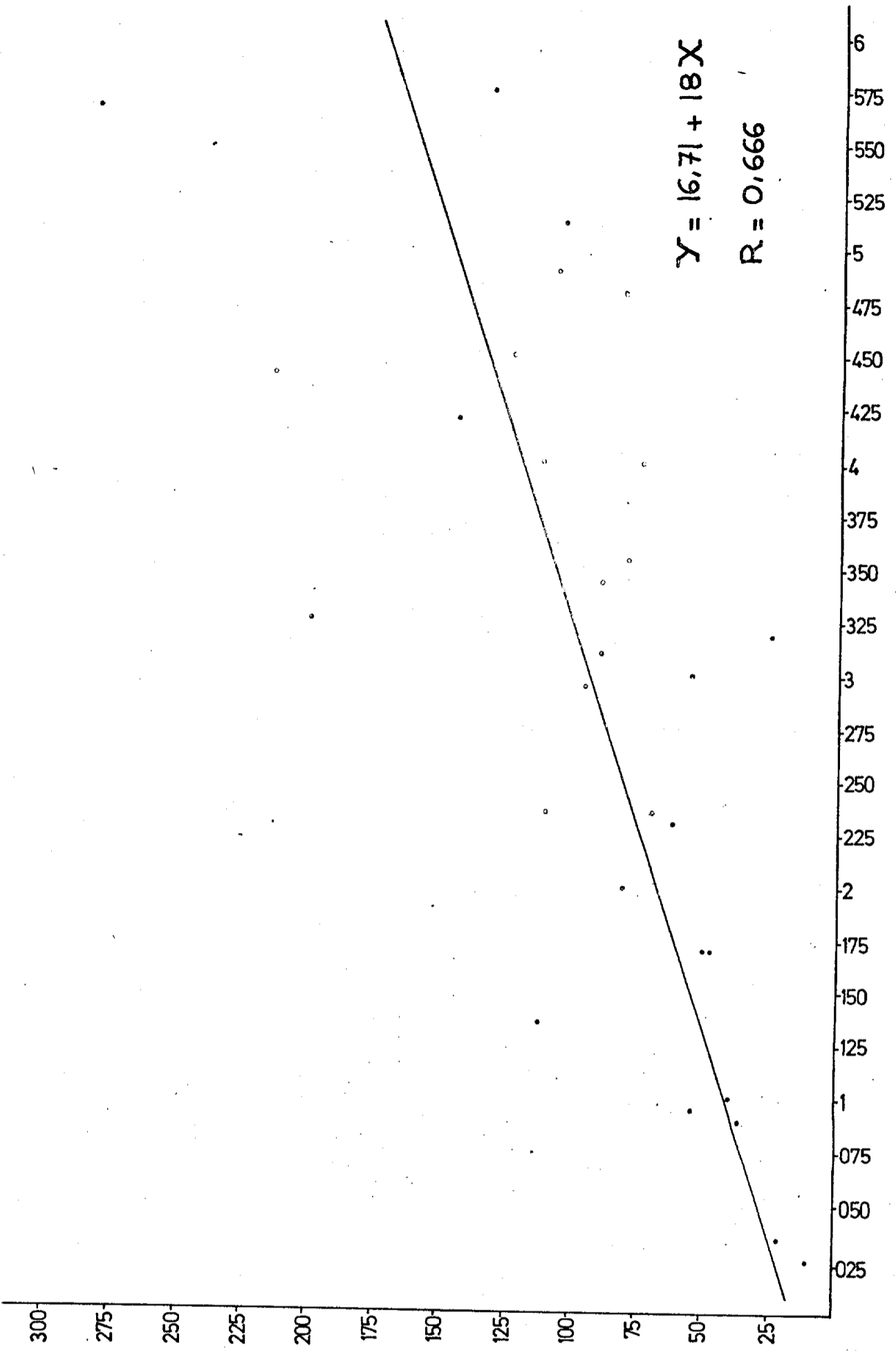
Método de SOBEL.- (86). Se pesan 10 gr de heces previamente homogenizadas y se emulsionan con 20 ml. de agua destilada en un vaso de precipitado de unos 100 ml. de capacidad; 3 gr. de esta emulsión se transfieren a un tubo de centrifuga de 50 ml. de capacidad, provisto de un tapón de vidrio esmerilado. A continuación se agrega ClH concentrado hasta que el pH sea inferior a 3 unidades (normalmente dos gotas son suficientes); seguidamente se adicionan 5 ml de etanol y 20 ml de eter de petroleo; se centrifuga y seguidamente se toma el sobrenadante mediante una pipeta, transfiriéndolo a un erlenmeyer de 50 ml. de capacidad, previamente pesado; el eter se evapora con la ayuda de un baño de vapor. El residuo se extrae por dos veces con eter de petroleo, empleando en cada una de ellas 20 ml. de este disolvente; tras cada extracción el disolvente

ELIMINACION DE HECES POR ADULTOS SANOS.

Nombre	Edad	Sexo	Valor en gr/24 h.
E.G.	18	V	104,4
J.G.	21	V	108,1
F.B.	23	V	125,0
C.P.	28	V	146,7
M.C.	45	H	93,5
R.M.	17	H	88,6
J.B.	23	H	214,0
J.LH.	23	H	47,7
A.P.	19	H	80,7
A.M.	21	H	112,0
M.J.	18	H	62,0
R.B.	19	V	56,2
J.N.	17	H	133,0
E.R.	22	H	282,0
T.C.	18	W	114,0
G.V.	32	H	50,0
J.C.	41	V	56,0
A.M.	52	W	70,0
M.A.	28	V	199,0
R.V.	34	H	81,0
L.G.	36	H	26,0
A.B.	44	V	75,0
C.L.	53	H	21,0
N.M.	29	W	37,0
L.S.	36	H	89,0
C.H.	22	V	110,0
E.M.	48	H	82,0
R.P.	44	V	10,0
A.M.	38	H	41,0

Valor medio: 93,65 gr/24 h.; D.S. 59,71 gr/24 h..

Límites: 95% población: 0-213,07 gr/24 h..



CORRELACIÓN ENTRE EL PESO DE HECES ELIMINADAS EN 24 HORAS
Y LOS LÍPIDOS ELIMINADOS EN EL MISMO PERÍODO DE TIEMPO.

Este mismo estudio lo hemos realizado en un grupo de 24 enfermos afectados de cirrosis hepática, (89) la cifra media de eliminación de lípidos fecales fué de 3,956 gr/24 horas con una D.S. de 3,04 gr/24 horas. La comparación de estos resultados con los del grupo control mediante el test de Student no presentó diferencias estadísticamente significativas; de nuestros 24 enfermos cirróticos solo 4 presentaban cifras superiores a 6,14 gr/24 horas (16,66%) y en dos de ellos la cifra estaba muy cerca del límite de la normalidad.

Estos resultados contrastan con otros aparecidos en la literatura, en los que la frecuencia con las que se describe la esteatorrea en esta enfermedad es alta. BADLEY y SHERLOCK el 75% de los casos, BARAONA 67%, FAST 63%, VAN GUIDSENHOVEN 56,25%, BODGAL 59%, LINCHER 54%, entre otros. Una análisis cuidadoso de sus publicaciones resiste difícilmente una crítica del método empleado; en este sentido, hemos realizado una revisión de la literatura aparecida hasta el momento pendiente de publicación.

En cambio, si hemos encontrado una diferencia estadísticamente significativa en cuanto al peso de las heces húmedas, eliminadas en 24 horas, entre el grupo control y el de enfermos cirróticos: Este hecho ya había sido descrito en la literatura pero sin que se haya aclarado sus causas. Quizás debería estudiarse mas profundamente la eliminación de hidroxíácidos grasos, como ya comentaremos mas adelante.

Altura de desarrollo: 15 cm. (tiempo necesario
aproximadamente 30 minutos)

Revelado: Tinción con ácido fosfomolibdico al 10%
en etanol.

De arriba a abajo se separan:

- Fracción no identificado	(1) (RF 0,92)
- Esteres de colesterol	(RF 0,81)
- Fracción no identificada	(2) (RF 0,65)
- Esteres metílicos de ac. grasos	(RF 0,45)
- Fracción no identificada	(3) (RF 0,37)
- Triglicéridos	(RF 0,28)
- Acidos grasos	(RF 0,22)
- Coprostanol	(RF 0,12)
- Colesterol	(RF 0,079)

Es de resaltar que esta distribución no aparece en todas las muestras estudiadas, siendo mas normal la que a continuación se indica:

- Fracción no identificada
- Esteres del colesterol
- Triglicéridos
- Acidos grasos
- Coprostanol
- Colesterol

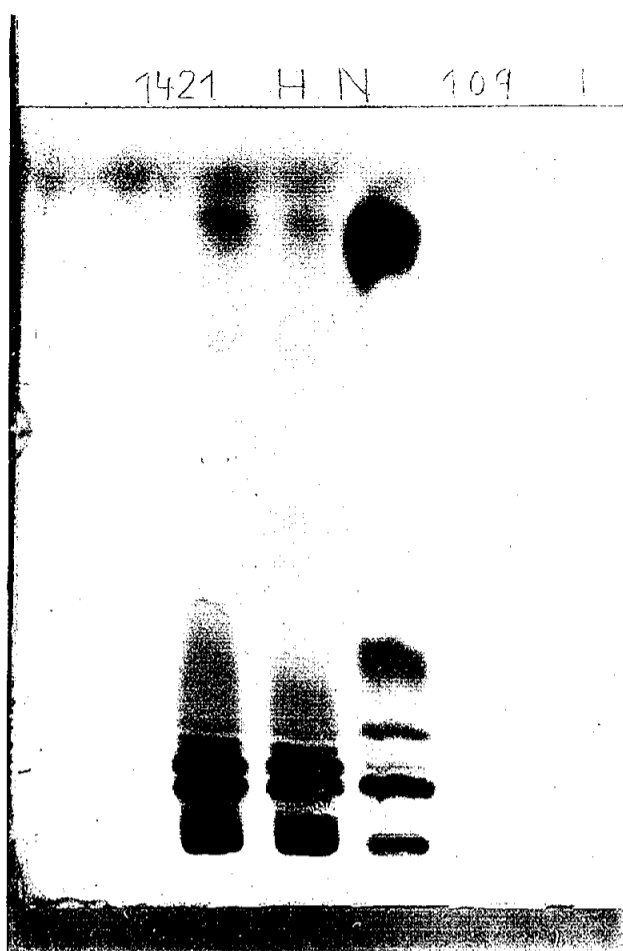
La fracción no identificada que designamos con el número 1 podría corresponder al escualeno, que puede observarse en el suero en algunos casos; la fracción 2 podría corresponder a esteroides esterificados y la fracción 3 a esteroides libres. Está prevista la identificación de estas fracciones desconocidas recogiendo la mezcla soporte mas problema e introduciéndolas en el sistema de introducción directa de un espectómetro de masas.

H.N 103 1420



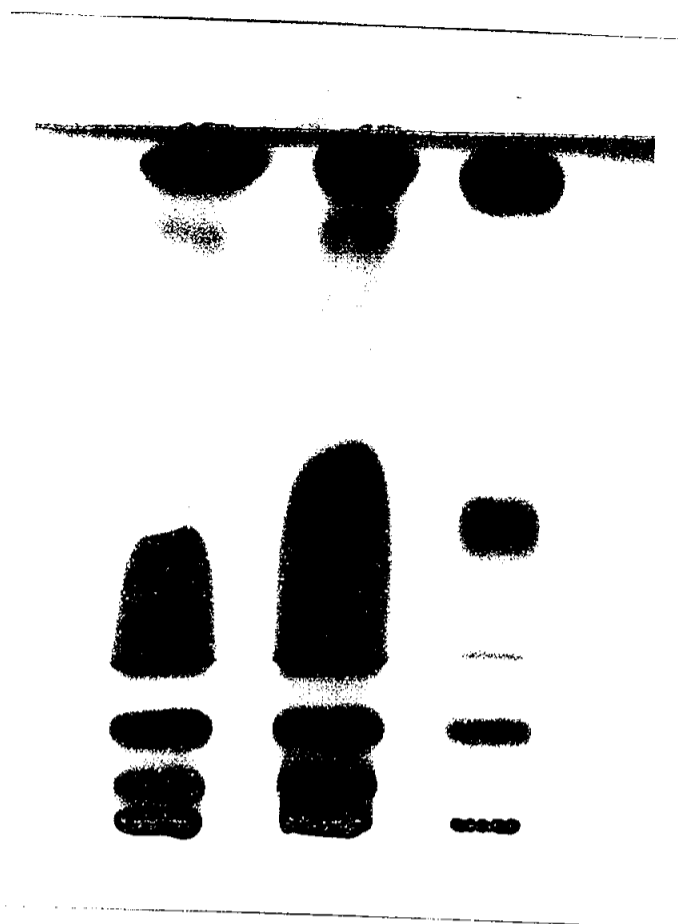
DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (103)

Se observa Colesterol y coprostanol sin que exista predominio de ninguna de las dos fracciones. Fracción no identificada por encima del coprostanol. Discreto aumento de los ácidos grasos libres. No se ven triglicéridos. Esteroles esterificados ligeramente aumentados.



DESARROLLO CROMATOGRÁFICO DE LÍPIDOS NEUTROS (109)

Se observa coprostanos predominando sobre el colesterol. Ácidos grasos libres en proporción normal. Ligero aumento de triglicéridos. Aparecen esteroides esterificados.

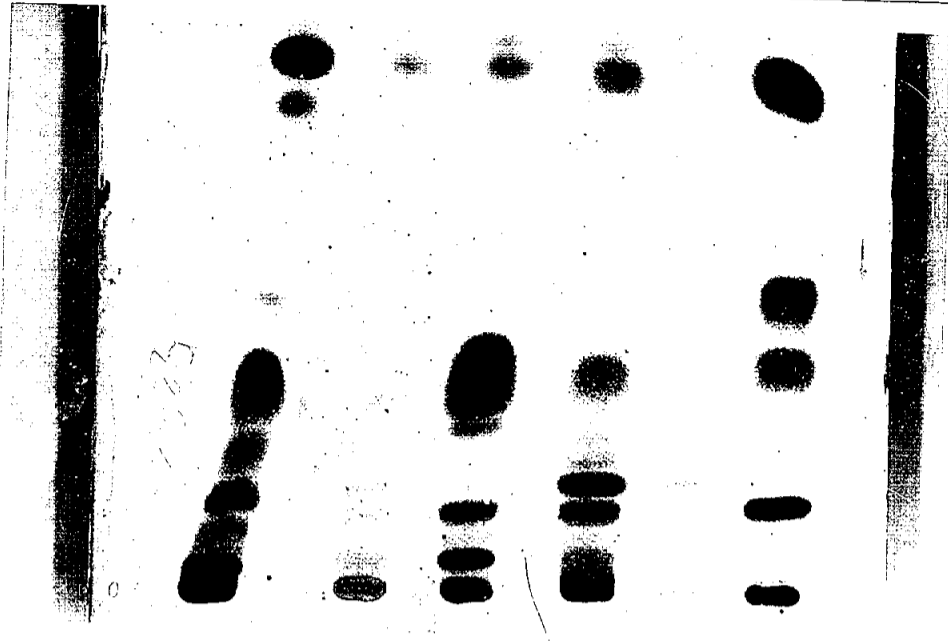


DESARROLLO CROMATOGRÁFICO DE LÍPIDOS NEUTROS (H-39)

Se observa colesterol y coprostanol con predominio del primero. Ácidos grasos libres muy aumentados. No se observan triglicéridos. Esteroles esterificados en proporción normal.

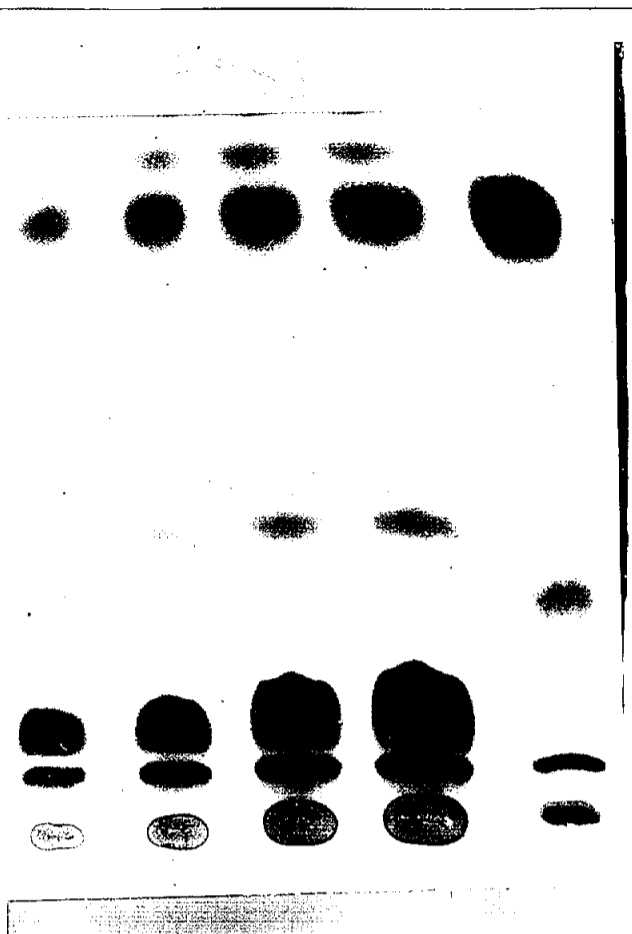
Esta enferma M^ªE.Z., presentaba unos lípidos totales en heces de 12,75 gr./24 horas.

Diagnostico.- Enfermedad celíaca.



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS

- H-76.- Se observa un aumento del colesterol respecto del coprostanol. Acidos grasos libres en proporci3n normal. Indicios de triglic3ridos. Esteroles esterificados en proporci3n normal.
- H-77.- Claro predominio del colesterol sobre el coprostanol. Acidos grasos libres ligeramente aumentados. No se observan triglic3ridos. Esteroles esterificados discretamente disminuidos. Se observa una fracci3n no identificada.
- H-78.- Predominio del colesterol sobre el coprostanol. Fracci3n no identificada por encima del colesterol. Acidos grasos libres disminuidos. Indicios de triglic3ridos. Esteroles esterificados disminuidos.

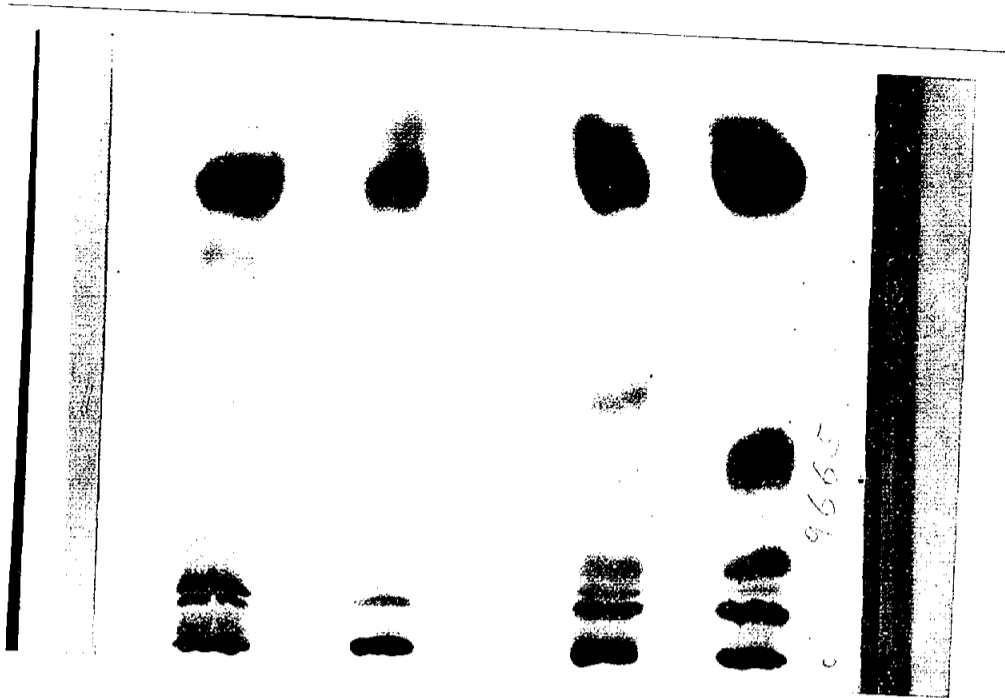


DESARROLLO CROMATOGRÁFICO DE LÍPIDOS NEUTROS (H-70)

No se observa coprostanol y sí colesterol discretamente aumentado. Ácidos grasos libres aumentados. Indicios de triglicéridos. Esteroles esterificados en proporción normal.

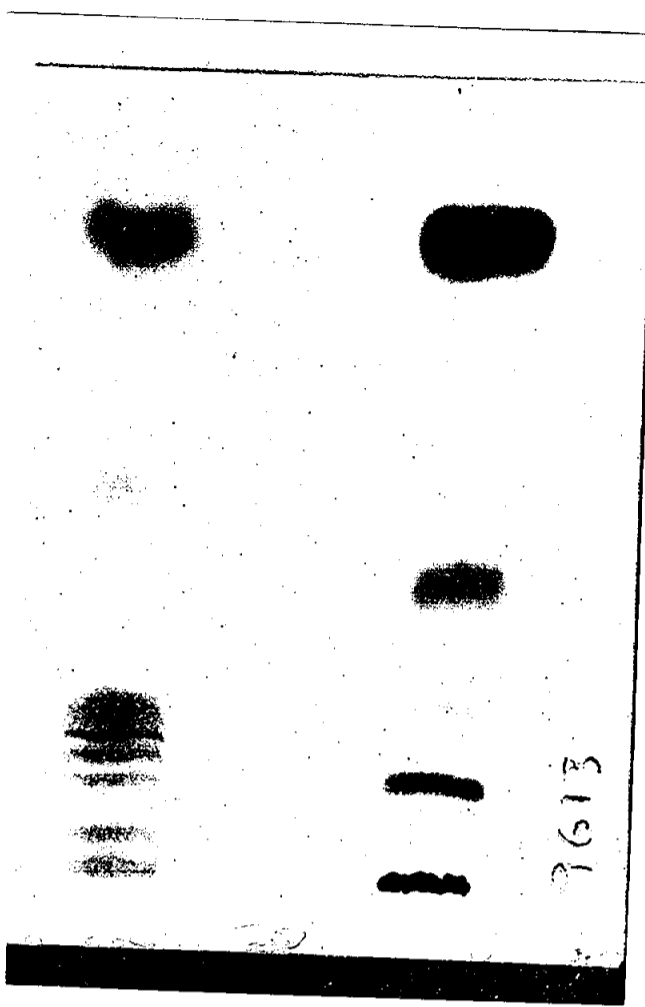
Esta enferma A.F. presentaba unas diarreas crónicas cuya etiología no pudo ser aclarada.

Eliminación fecal de lípidos en 24 horas = 13,72 grs.



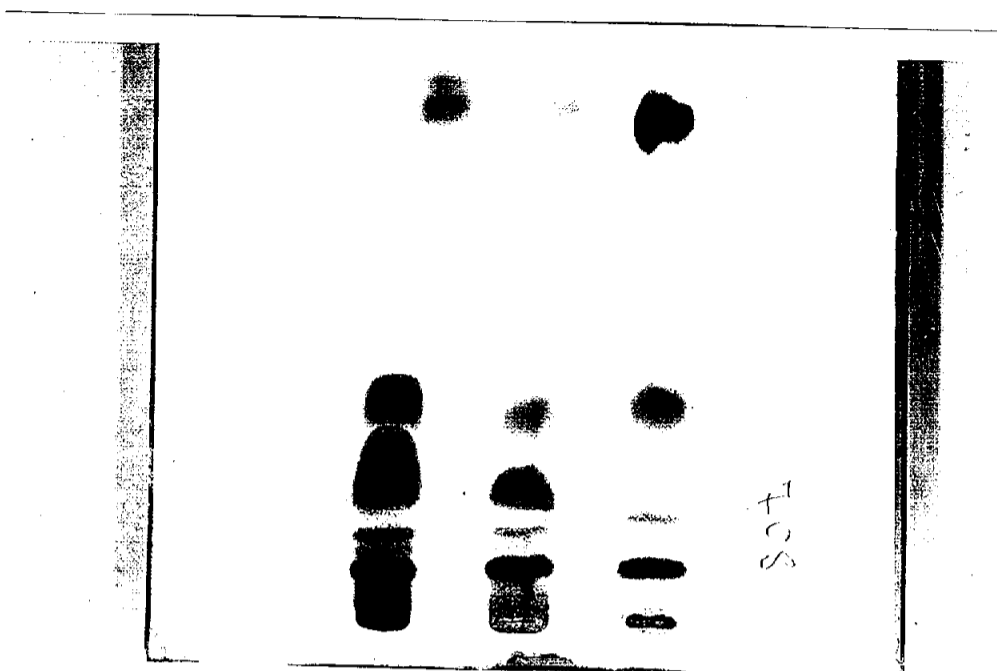
DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-83)

Se observa colesterol y discretos indicios de coprostanol.
Acidos grasos libres disminuidos. Indicios de triglicéridos.
Esteroles esterificados discretamente aumentados.



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-85)

Se observa colesterol y coprostanol sin que exista predominio. Acidos grasos libres en proporción normal. Indicios de triglicéridos. Se observan esteroles esterificados.

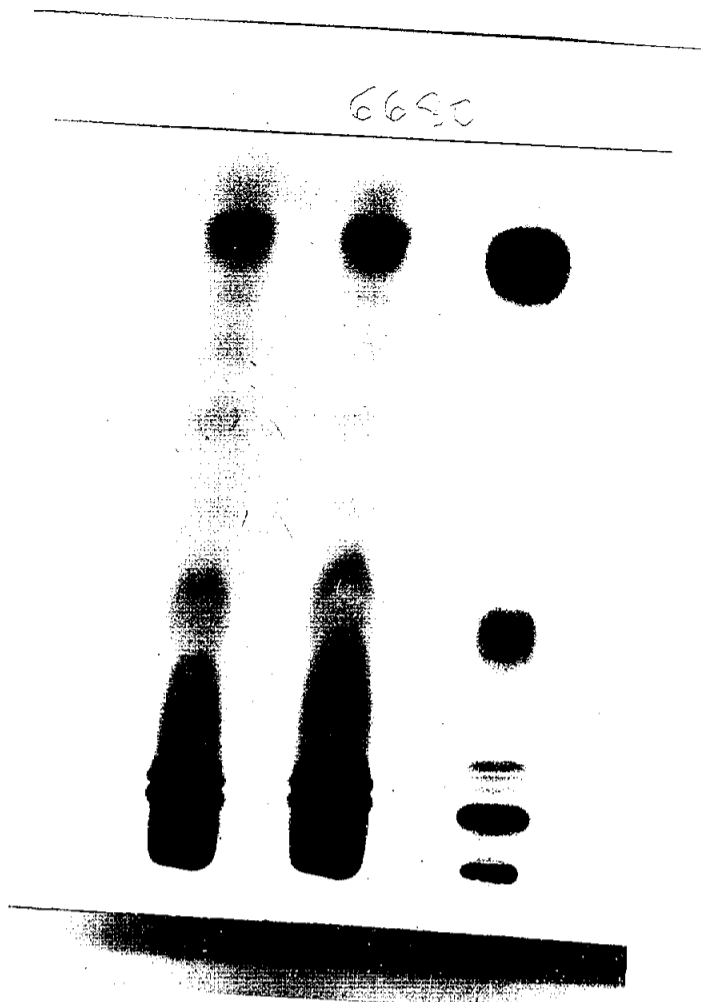


DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-21-N)

Se observa colesterol y solo ligeros indicios de coprostanol. Aparece una fracción no identificada por encima del coprostanol. Acidos grasos libres en proporción normal. Triglicéridos muy aumentados. Esteroles esterificados disminuidos.

Esta enferma M.G. presentaba unos triglicéridos fecales de 453,16 mgs./24 horas.

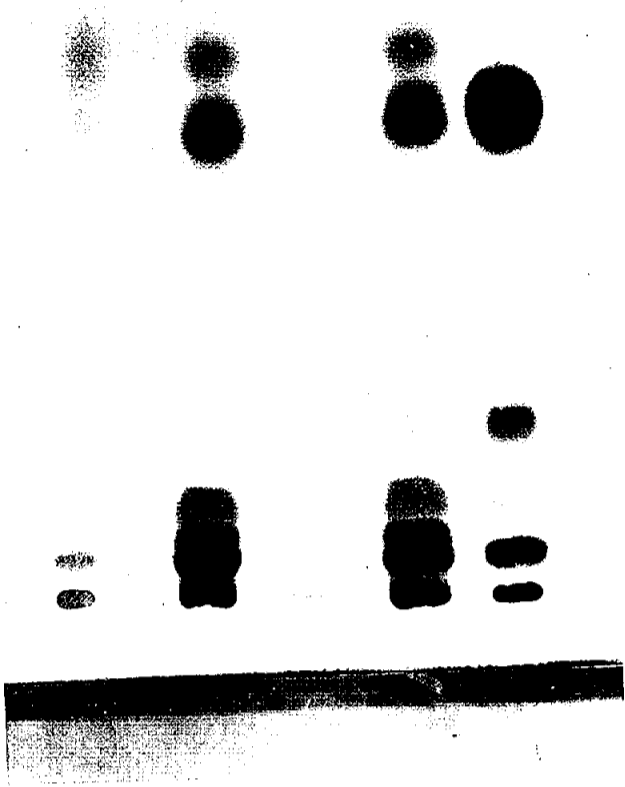
6690



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-58)

Se observa colesterol y coprostanol en proporciones normales, sin predominios. Aumentó de los ácidos grasos libres y de los triglicéridos. Se ven esteroides esterificados en proporción normal

259 A 259 A 259 A 259 A



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-59)

Se observa colesterol y coprostanol con predominio de aquel. Acidos grasos libres en proporci3n normal. Indicios de triglic3ridos. Aparecen esteroides esterificados en proporci3n normal.

4A 59A R59 B 79 E
6780

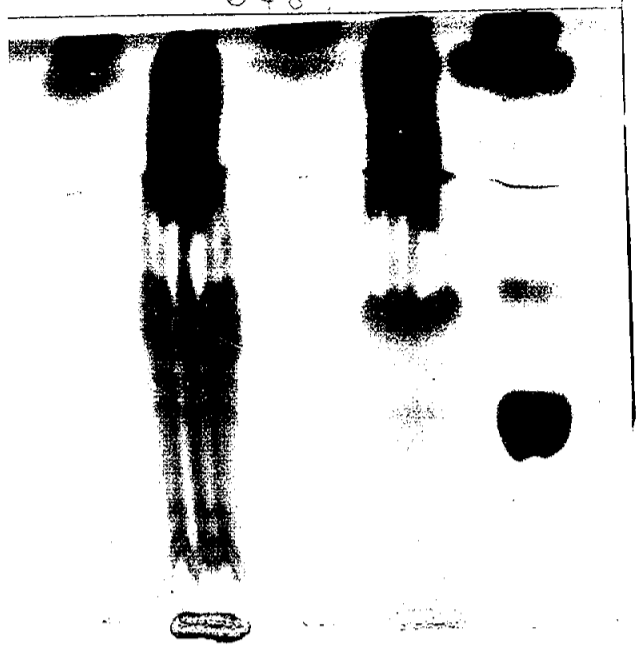
DESARROLLO CROMATOGRAFICO

DE FOSFOLIPIDOS (H-59)

(Fotografia superior)

Lípidos neutros en la parte superior de la placa.

Arrastre de pigmentos.



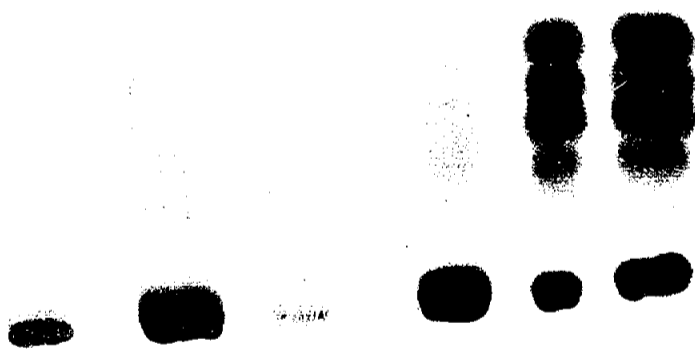
DESARROLLO CROMATOGRAFICO

DE ESTERES DEL COLESTEROL

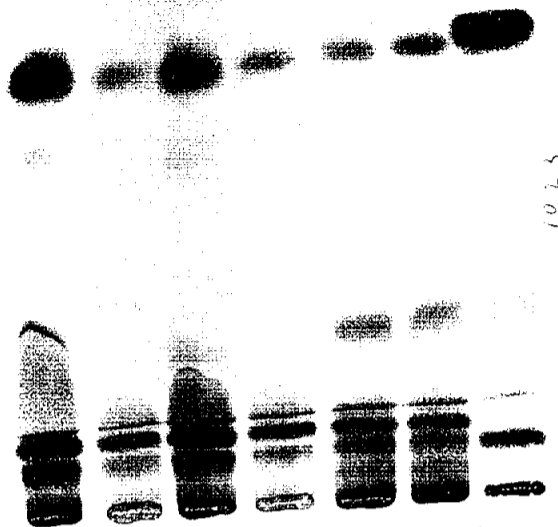
(H-59)(Fotograf. inferior)

Se observan indicios de las distintas fracciones.

6791



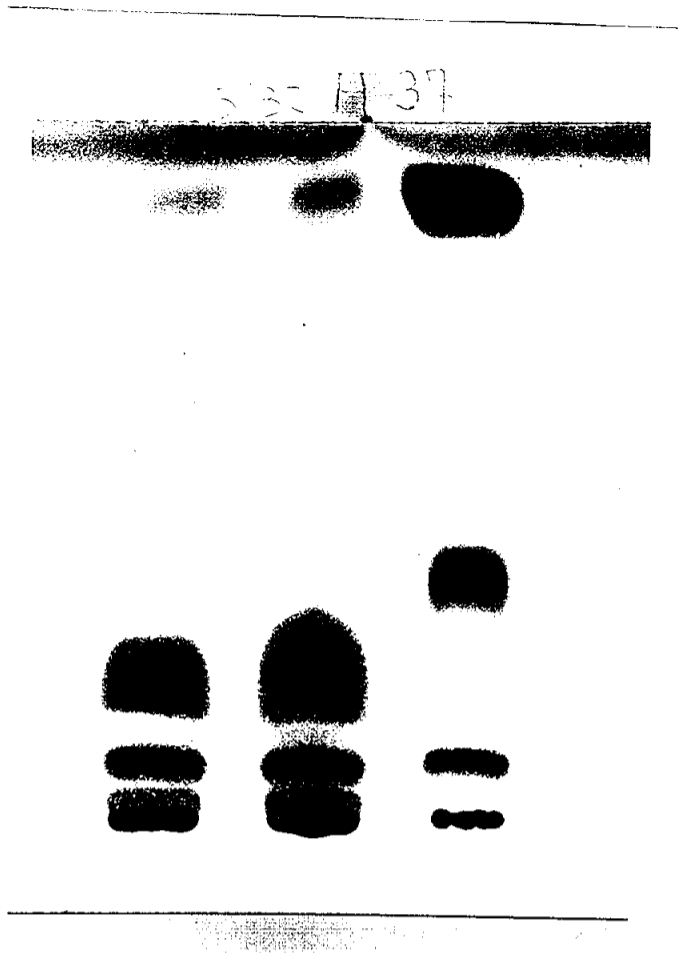
H-26-N A-8-2-55



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-26-N)

Se observa colesterol y coprostanol con predominio de este.
Acidos grasos libres aumentados. Triglicéridos aumentados,
Esteroles esterificados en proporción normal.

Esta enferma M.M. era portadora de un Linfoma Intestinal Primitivo Difuso. La eliminación de lípidos totales por las heces en 24 horas era de 9,31 grs. y la de triglicéridos de 1013,07 mgs.

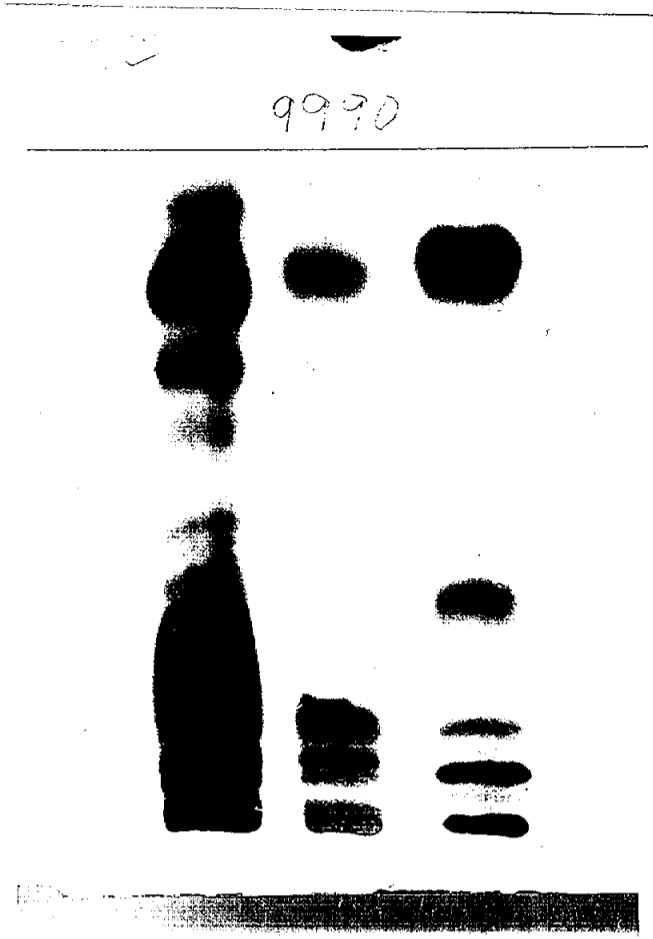


DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-37)

Se observa colesterol y indicios de coprostanol. Acidos grasos libres aumentados. No se ven triglicéridos ni esteroides esterificados.

DESARROLLO CROMATOGRAFICO
DE LIPIDOS NEUTROS (H-90)
(Fotograf.Superior)

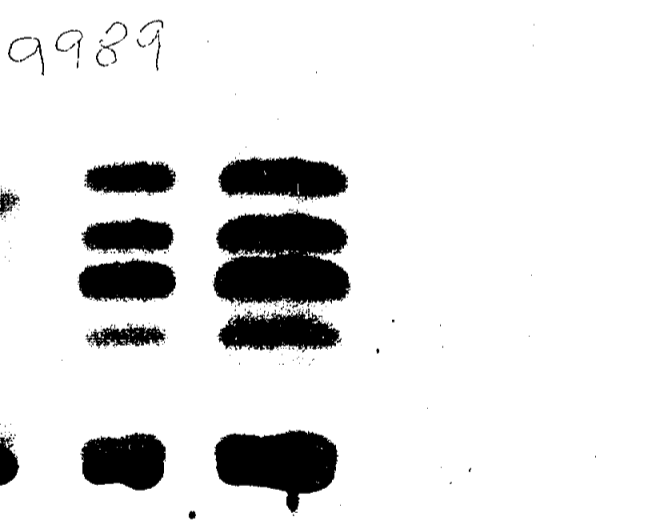
Colesterol y coprostanol
sin predominios.Acidos gra-
sos libres aumentados.Indi-
cios de triglicéridos.Se
observan esteroles esteri-
ficados.

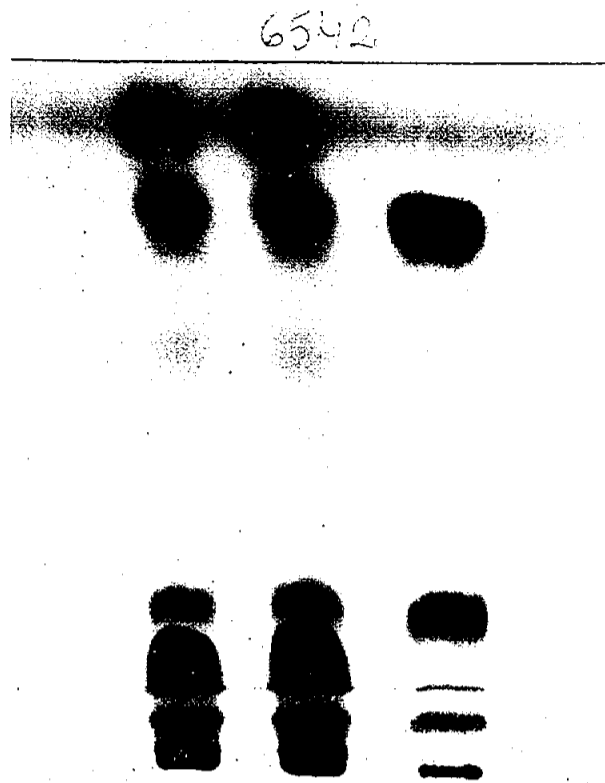


DESARROLLO CROMATOGRAFICO
DE ESTERES DE COLESTEROL
(Fotograf. Inferior)

Se observan las distintas
fracciones discretamente
aumentadas.

Enferma portadora de un
Linfoma Intestinal Primiti-
vo Difuso.

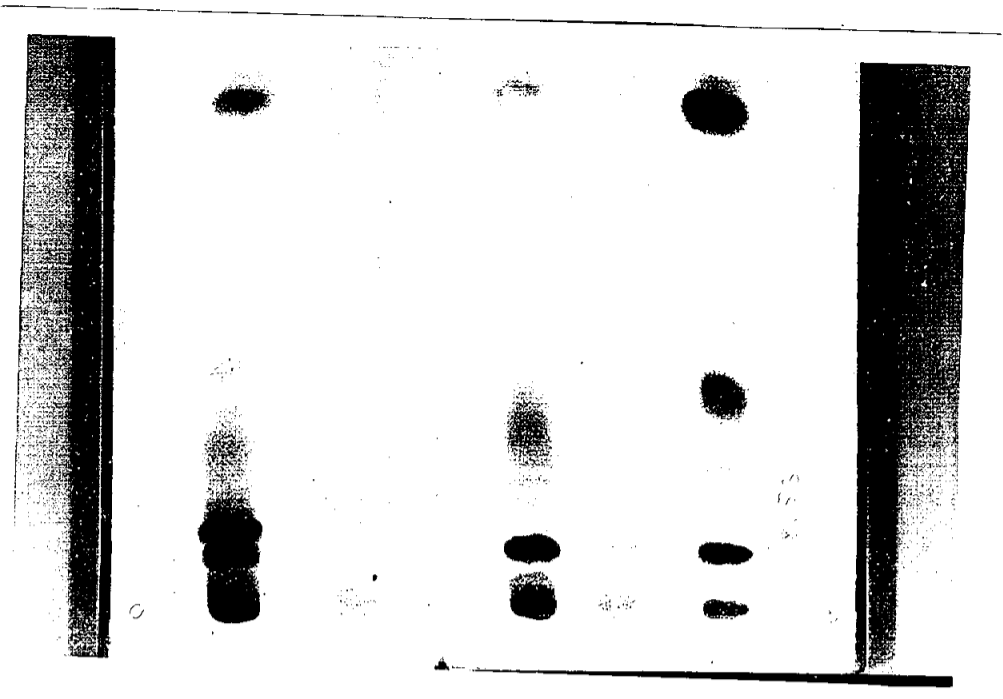




DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-56)

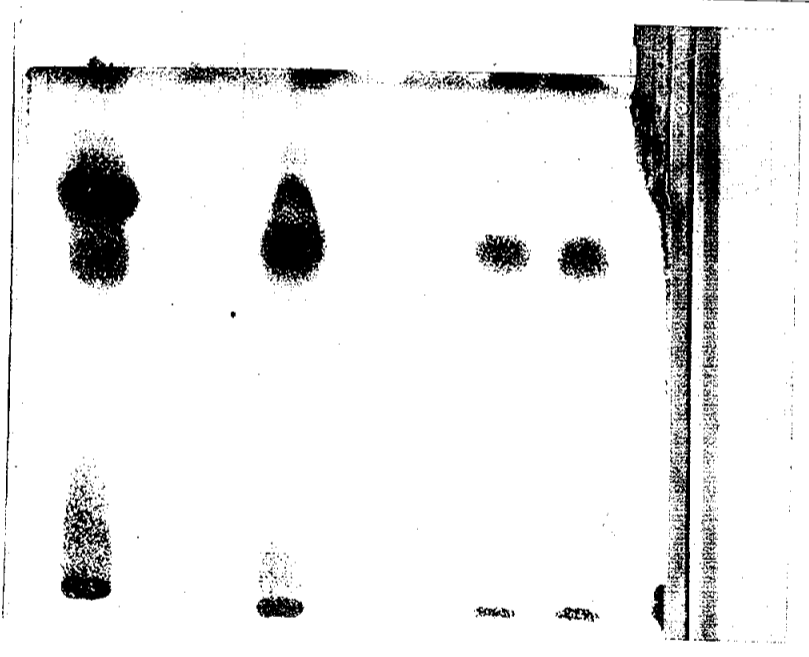
Se observa colesterol y no coprostanol. Acidos grasos libres aumentados. Triglicéridos muy aumentados. No se ven esteroides esterificados.

El varon J.M.G. se diagnosticó de Fibrosis Quística del Páncreas.



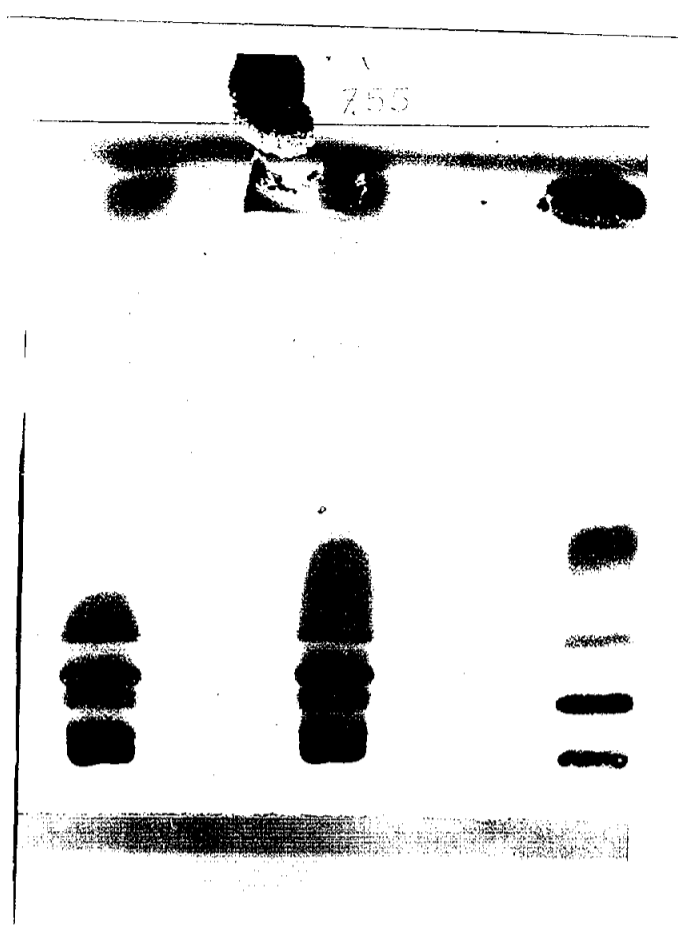
DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-74)

Coprostanol aumentado respecto del colesterol. Acidos grasos libres y triglicéridos discretamente aumentados. Se observan esteroides esterificados en proporción normal.



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE ESTEROLES (H-74)

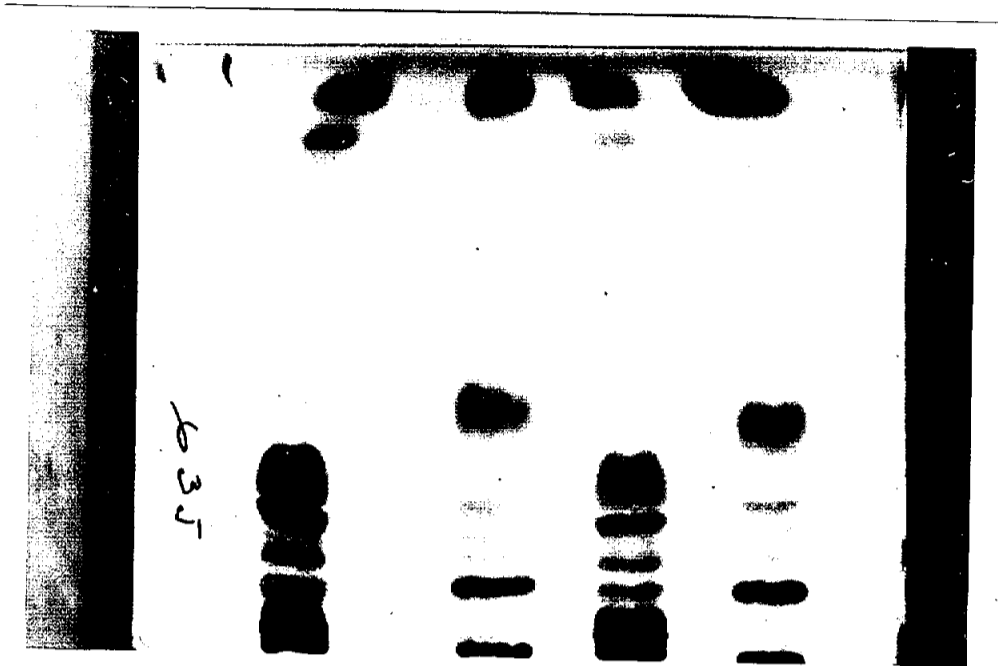
Se observa colesterol v coprostanol. con predominio de este



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-23)

CIRROSIS HEPATICA.-

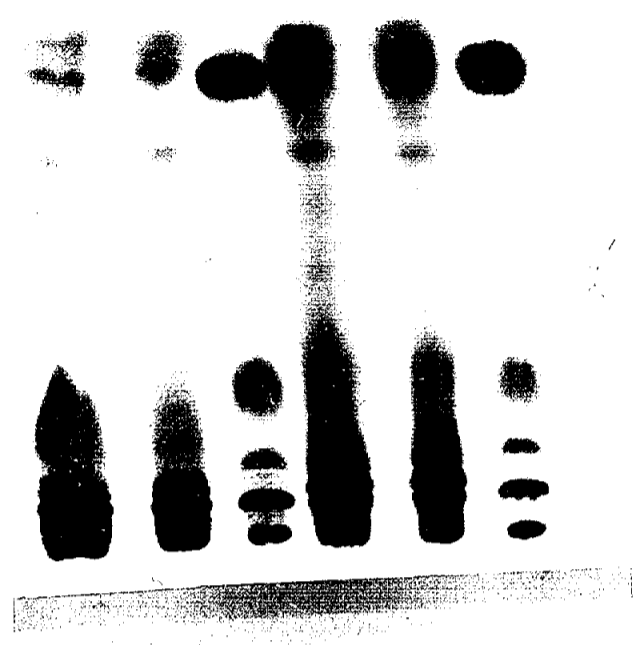
Aparecen manchas de colesterol y coprostanol, con predominio de este. Acidos grasos libres discretamente aumentados. Indicios de triglicéridos. Esteroles esterificados en proporción normal.



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-15)

CIRROSIS HEPATICA--

Colesterol y coprostanol en proporciones normales. Acidos grasos libres discretamente aumentados. Indicios de triglicéridos. Se observan esteroides esterificados.

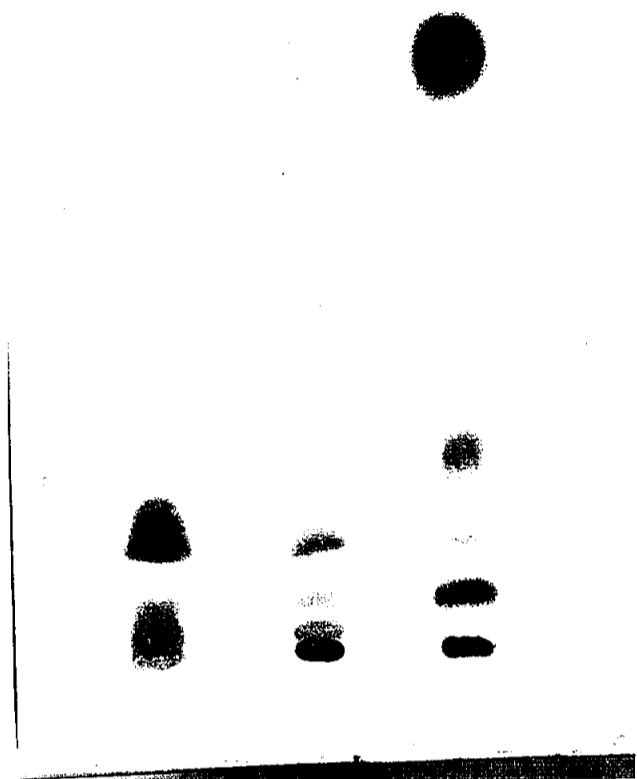


DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-43)

CIRROSIS HEPATICA.-

Se observa colesterol y coprostanol con ligero predominio de aquel. Acidos grasos libres discretamente aumentados. Indicios de triglicéridos. Aparecen diversos esteroles esterificados.

6818



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-61)

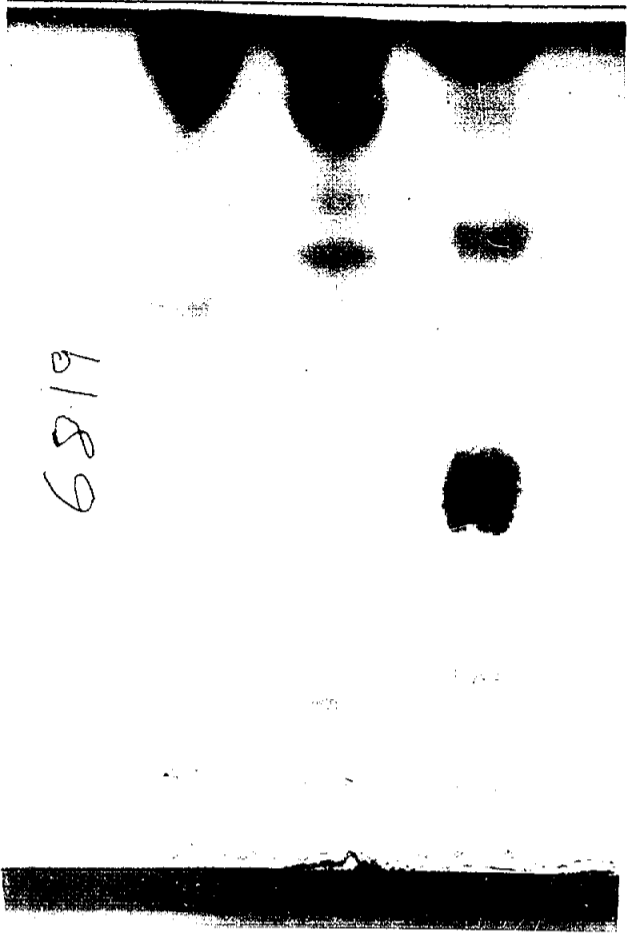
CIRROSIS BILIAR PRIMITIVA.-

Se observa colesterol pero no coprostanol. Acidos grasos libres en proporción correcta. Aumento franco de los triglicéridos. Muy discretos indicios de esteroides esterificados.

Eliminación fecal de lípidos en 24 horas = 18,80 grs.

DESARROLLO CROMATOGRAFICO
DE FOSFOLIPIDOS (H-61)

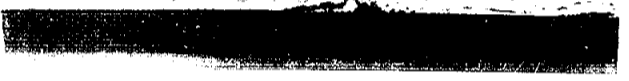
Se observan lípidos neutros en la parte superior de la placa y fracciones posiblemente debidas a pigmentos.



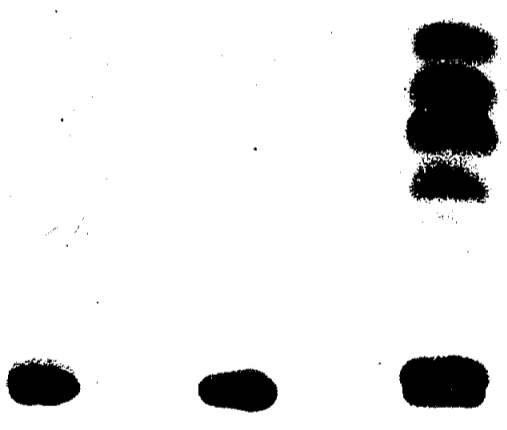
DESARROLLO CROMATOGRAFICO
DE ESTERES DE COLESTEROL

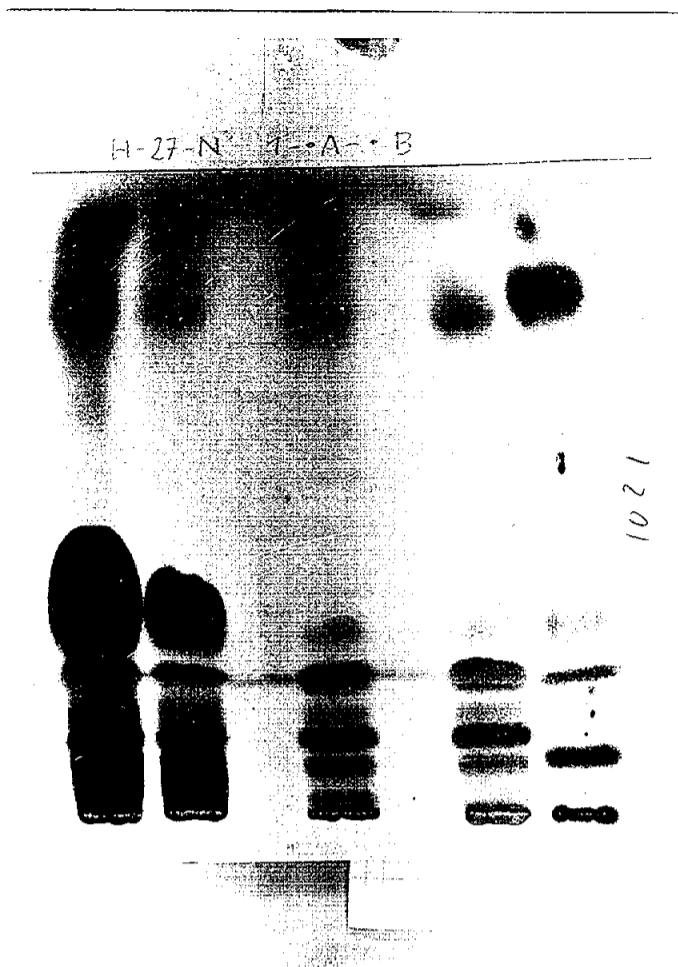
Cirrosis Biliar Primitiva.

Aparecen muy discretos indicios de las distintas fracciones.



6820





DESARROLLO CROMATOGRÁFICO DE LÍPIDOS NEUTROS (H-27)

CIRROSIS HEPÁTICA.-

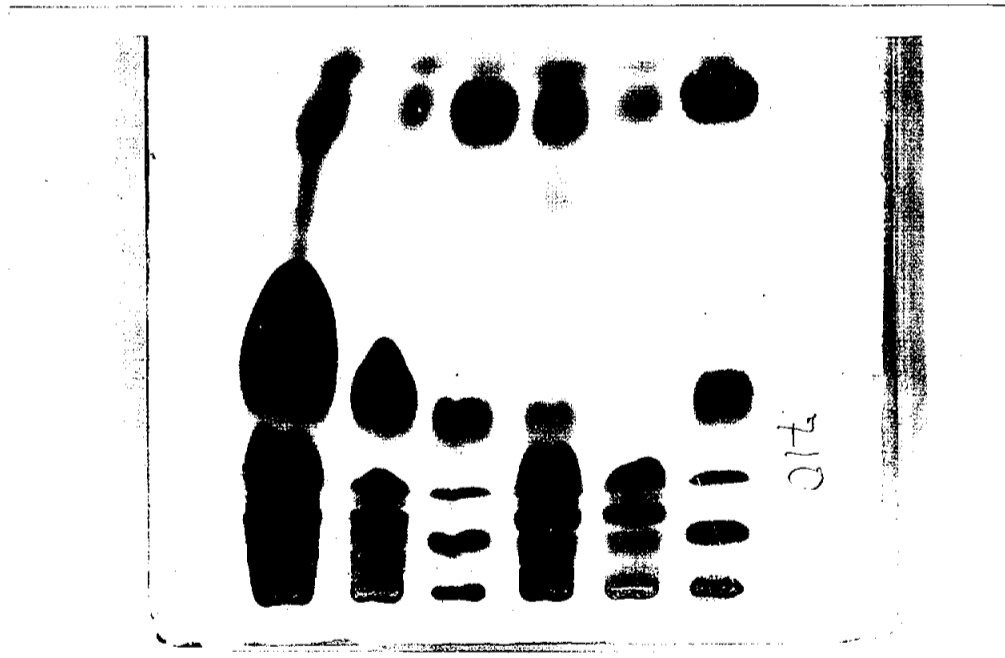
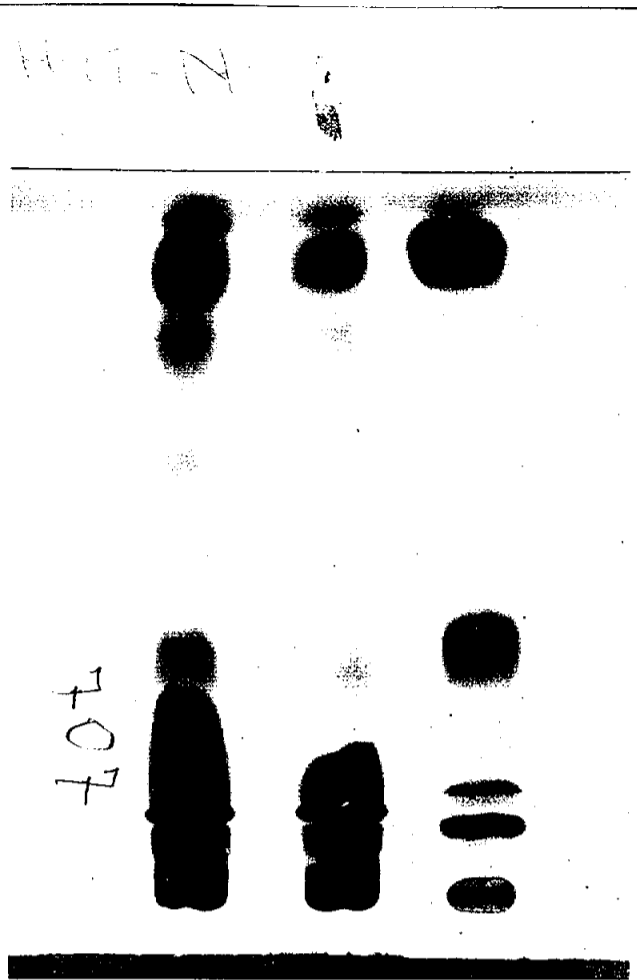
Aparece colesterol y coprostanol con predominio de este. Ácidos grasos libres en proporción normal. Triglicéridos discretamente aumentados. Se observan ésteres del colesterol

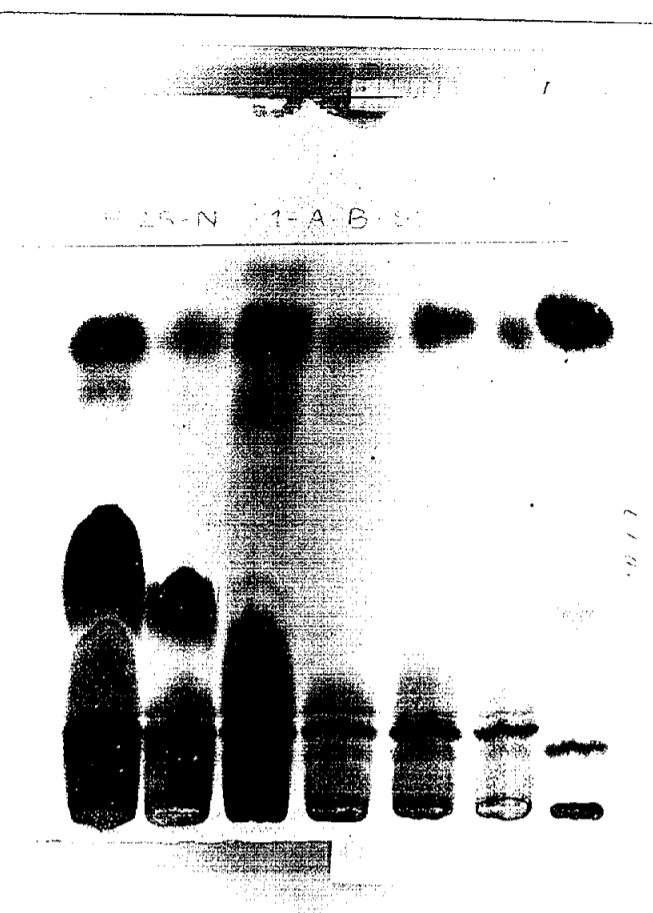
DESARROLLO CROMATOGRAFICO
DE LIPIDOS NEUTROS (H-19)

Cirrosis Hepatica.-

Colesterol y coprostanol
con predominio de este.
Acidos grasos libres en
proporción normal. Discre-
to aumento de los trigli-
céridos.

En la fotografia inferior
puede observarse el desa-
rrollo del extracto lipí-
dico sin acidificar(B) y
tras adición de triglicé-
ridos (1).





DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-25)

CIRROSIS HEPATICA.-

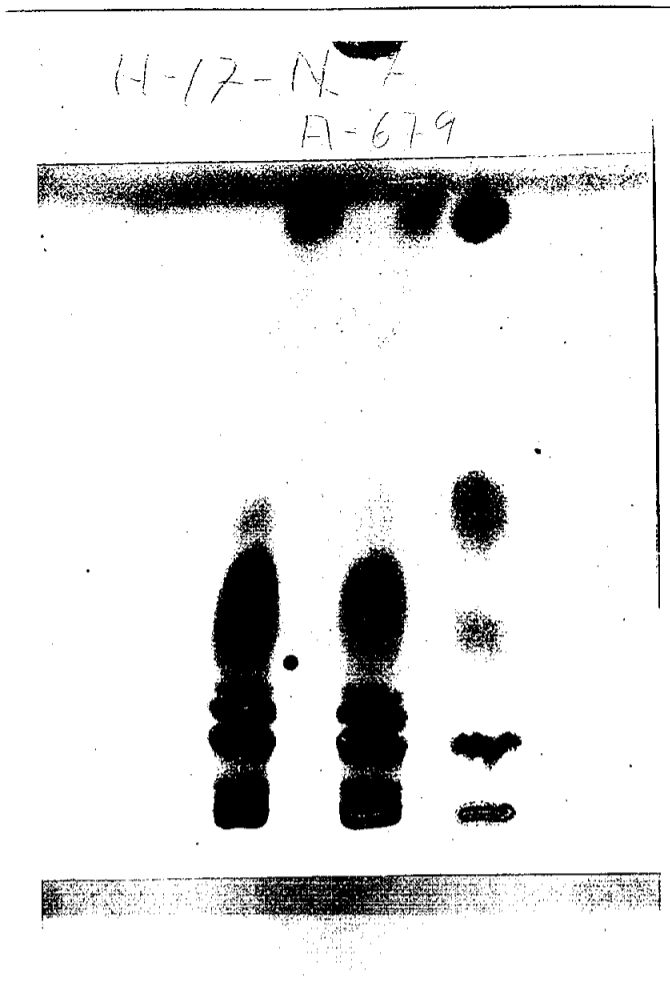
Se observa colesterol y coprostanol con predominio de este. Acidos grasos libres en proporción normal. Indicios de triglicéridos. Aparecen algunas discretas fracciones de esteroleos esterificados.



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-24)

CIRROSIS HEPATICA.-

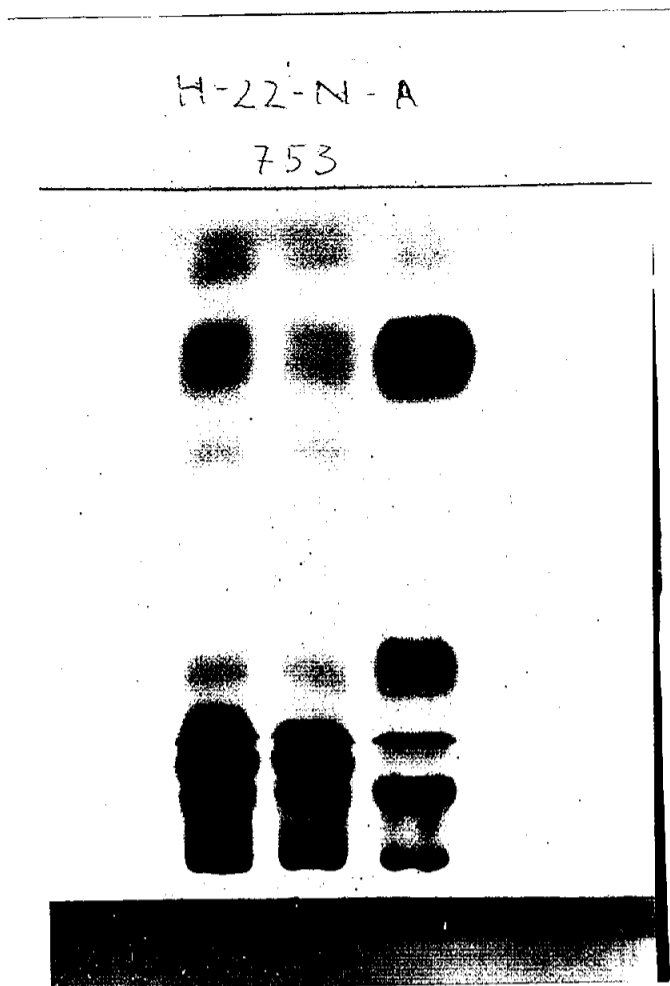
Se observa colesterol y coprostanol sin que exista predominio de uno sobre otro. Aparece una fracción no identificada por encima del coprostanol. Acidos grasos libres discretamente disminuidos. Triglicéridos muy aumentados. Se observan esteroides esterificados.



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-17)

CIRROSIS HEPATICA.-

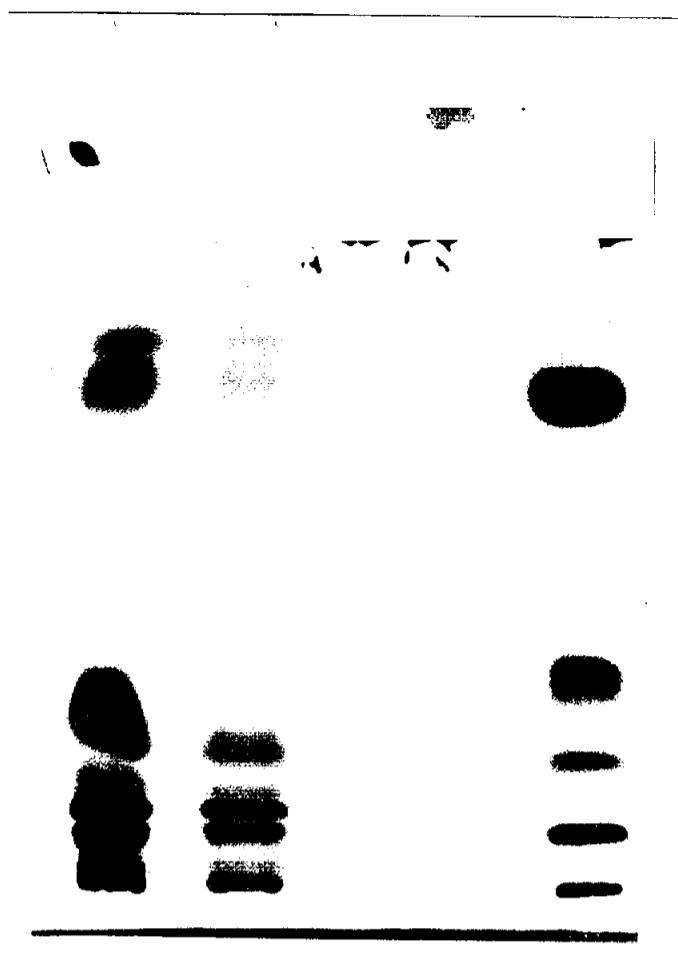
Colesterol y coprostanol, sin predominios. Se observa una fracción no identificada por encima del coprostanol. Acidos grasos libres en proporción normal. Indicios de triglicéridos. Aparecen esteroides esterificados.



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-22)

CIRROSIS HEPATICA.-

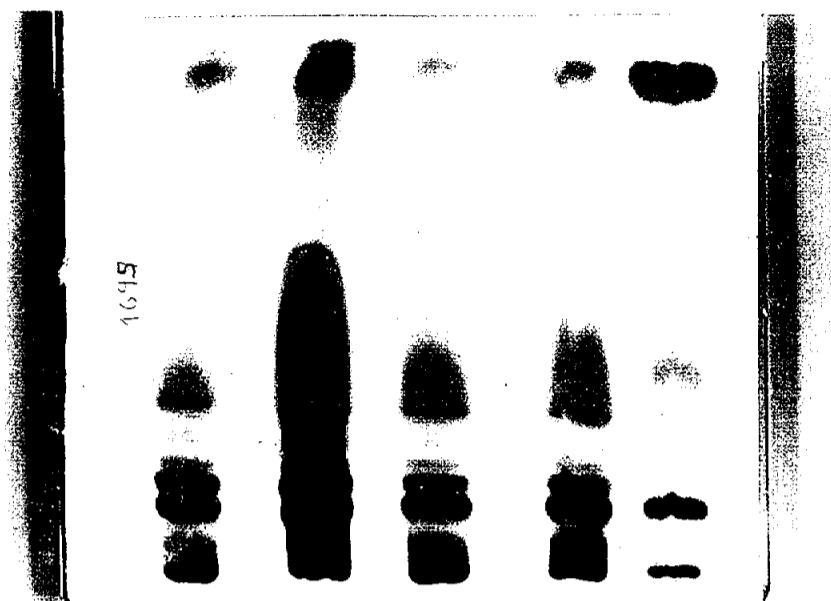
Colesterol y coprostanol con predominio de este. Acidos grasos libres disminuidos. Triglicéridos discretamente aumentados. Se observan diversas fracciones de esteroides esterificados.



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-110)

CIRROSIS HEPATICA.-

Colesterol y coprostanol con discreto predominio de este. Fracción no identificada por encima del coprostanol. Acidos grasos libres en proporción normal. No se observan triglicéridos.

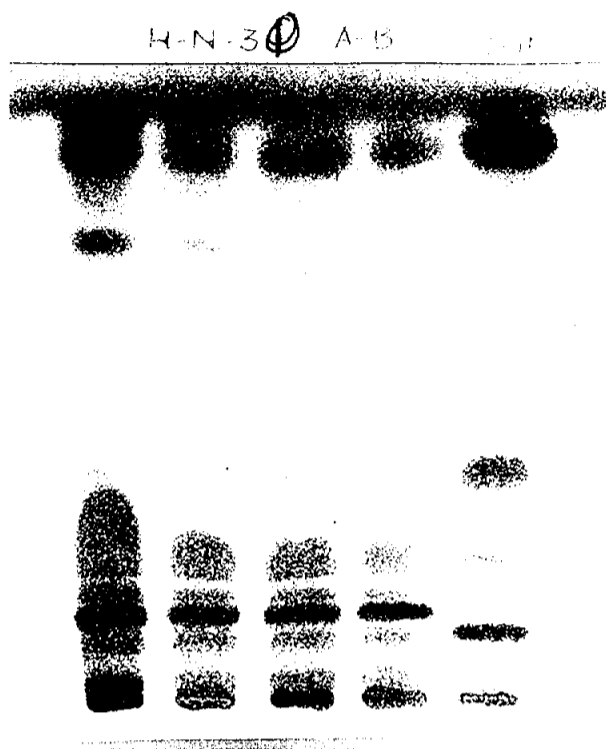


DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS

CIRROSIS HEPATICA.-

(H39).-Colesterol y coprostanol con discreto aumento de aquel. Fracción no identificada por encima del coprostanol. Discreto aumento de los ácidos grasos libres. Indicios de triglicéridos.

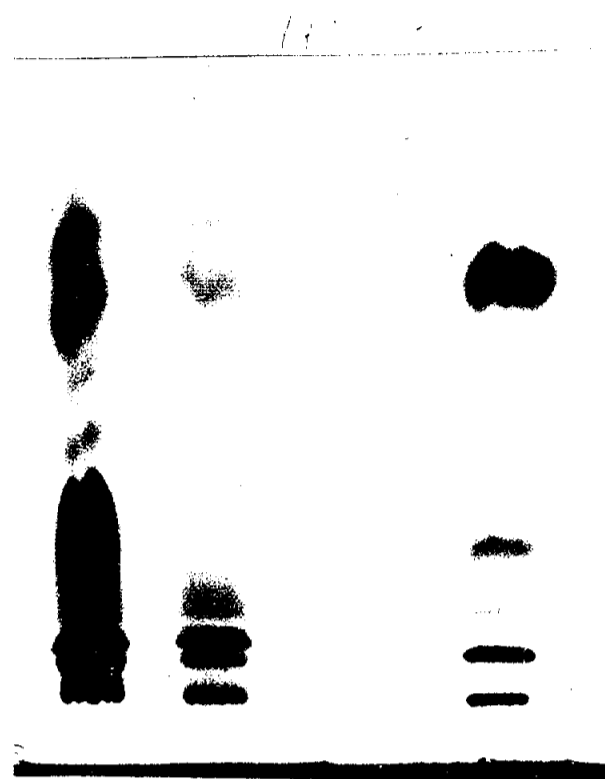
(H-40).-Colesterol y coprostanol sin predominios. Fracción no identificada por encima del coprostanol. Ácidos grasos libres en proporción normal. Indicios de triglicéridos. Se observan esteroides esterificados.



DESARROLLO CROMATOGRÁFICO DE LÍPIDOS NEUTROS (H-30)

CIRROSIS HEPÁTICA.-

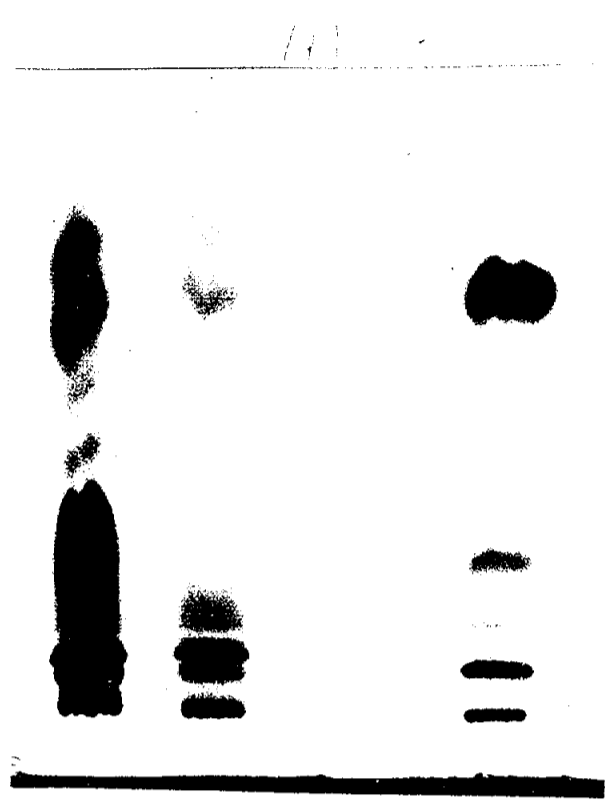
Se observa colesterol y coprostanol, con predominio de este. Fracción no identificada por encima del coprostanol. Ácidos grasos libres en proporción normal. Indicios de triglicéridos. Aparecen diversas fracciones de esteroides esterificados.



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-109)

CIRROSIS HEPATICA.-

Coolesterol y coprostanol, predominando este último. Acidos grasos libres en proporción normal. Indicios de triglicéridos. Se observan diversas fracciones de esteroles esterificados.



DESARROLLO CROMATOGRAFICO DE LIPIDOS NEUTROS (H-109)

CIRROSIS HEPATICA.-

Coolesterol y coprostanol, predominando este último. Acidos grasos libres en proporción normal. Indicios de triglicéridos. Se observan diversas fracciones de esteroides esterificados.

CUANTIFICACION DE TRIGLICERIDOS

La cuantificación de los triglicéridos fecales, de innegable importancia en el estudio de las esteatorreas, se realiza cuantificando las manchas que aparecen en una cromatografía de lípidos fecales. Tres son los métodos descritos mas utilizados:

- Valoración tras rascado de la mancha
- Valoración por densitometría
- ⊕ Comparación con patrones.

Estos métodos, sin embargo, no son de gran exactitud y no pueden considerarse totalmente cuantitativos.

Con el Dr. PASCUAL MOSTAZA hemos puesto en marcha una técnica original de cuantificación de triglicéridos fecales basada en el método de EGGSTEIN (90) y que a continuación exponemos.

Los triglicéridos se valoran en un extracto de lípidos - fecales obtenidos por el método de SOBEL, mediante la misma metodología empleada para la valoración de los triglicéridos séricos, pero prescindiendo de la adición de ácido clorhídrico, dado que éste produce una hidrólisis parcial de los triglicéridos, que se traduce en un descenso de los valores encontrados (nosotros hemos experimentado este punto, pudiéndose constatar en algunos casos diferencias considerables entre los extractos obtenidos como sin acidificación). Si el contenido en lípidos es normal, se puede averiguar por pesada del erlenmeyer que contiene el extracto, se disuelve el residuo en 3 ml. de cloroformo y se toman 0,5 ml. que se transfieren a un tubo de 0,7 x 8 cm aproximadamente y seguidamente se procede a la evaporación del disolvente en atmósfera de nitrógeno (esta operación debe efectuarse con sumo cuidado para que no se produzcan pérdidas). Una vez evaporado el disolvente se añaden 0,2 ml. de suero fisiológico (para conservar las mismas diluciones que si se tratara de una determinación en suero) y 0,5 ml. de potasa alcohólica. Se agita para disolver el extracto y se lleva al baño maria a 70°C, durante 30 minutos, para saponificar

(si en frio la disolución no es perfecta se conseguirá ésta agitando unos minutos, despues de introducido el tubo en el baño). A continuación se enfrian los tubos, se añade sulfato magnésico, se centrifuga y, en el sobrenadante, se procede a determinar el glicerol por el método de EGGSTEIN.

Con objeto de comprobar esta adaptación de la técnica de EGGSTEIN a la valoración de los triglicéridos fecales, hemos procedido al estudio de la recuperación de tripalmitina añadida a un homogenizado de heces. Los resultados se recogen en el siguiente cuadro:

Concentración inicial en las heces	Tripalmitina añadida gr%	Cantidad recuperada gr%	% de error	Error absoluto E.A.
0,0085	1,7060	1,7790	104,27	+ 4,27
0,0085	0,8530	0,8445	99,00	- 1,00
0,0085	3,4120	3,4025	99,75	- 0,25
0,0340	1,7060	1,6720	98,00	- 2,00
0,0844	2,5590	2,4910	97,3	- 2,7
0,0847	1,5590	1,6200	102,3	+ 2,3
0,1300	3,1560	3,1700	100,4	+ 0,4
0,1300	3,1560	3,2100	101,1	- 1,1

Rango del error absoluto: de -2,7 a + 4,27
 Media de los porcentajes de recuperación: 100,26
 D.S. de las medias: 2,28

Estos resultados comprenden las etapas de extracción, hidrólisis y valoración por la técnica de EGGSTEIN (90).

Cálculos: Dado que se parte de 1 gr. de heces para efectuar el extracto y teniendo en cuenta los factores utilizados para el suero y las diluciones que hemos empleado, tenemos:

$$\text{mg de TG/gr de heces} = \frac{\Delta E \times 149 \times 9,61 \times 0,2 \times 3}{100 \times 0,5}$$

$$\text{ó mg de TG/gr de heces} = \boxed{\Delta E \times 17,4}$$

ΔE = Incremento de extinción.

Observaciones:

- a) El extracto obtenido por el método de SOBEL no debe desecarse, dado que durante este proceso se podrían producir pérdidas de triglicéridos.
- b) Teniendo en cuenta que en las heces conservadas a temperatura ambiente o en nevera se produce hidrólisis de los triglicéridos, deben conservarse congeladas a -20 grados, y una vez descongeladas manipularse con rapidez.
- c) Si la determinación de triglicéridos no se efectúa el mismo día que la extracción de los mismos, deben conservarse en el congelador a -20 grados.
- d) No es preciso valorar el glicerol libre ya que, según hemos podido comprobar, no está presente en el extracto obtenido por el método de SOBEL.
- e) Los resultados se expresarán en triglicéridos eliminados durante 24 horas,

TRIGLICERIDOS EN HECES DE ADULTOS SANOS

Nombre	Edad	Sexo	Valor en mg/gr heces	Valor en mg/24 h
G.V.	32	H	0,602	30,11
J.C.	41	V	1,560	89,27
A.M.	52	V	0,750	52,88
M.A.	28	V	0,602	119,53
R.V.	34	H	0,970	78,57
L.G.	36	H	3,000	76,50
A.B.	44	V	2,250	167,85
C.L.	53	H	0,372	7,81
N.M.	29	V	0,253	9,29
L.S.	36	H	0,430	19,03
C.H.	22	W	0,344	18,85
E.M.	48	H	0,510	42,04
R.P.	44	V	1,540	14,63
A.M.	38	H	1,200	30,60
E.G.	18	V	0,595	124,36
F.B.	23	W	1,147	143,37
M.C.	45	H	0,722	67,50
R.M.	17	H	0,340	30,12
J.B.	23	H	0,289	61,84
J.LL	23	HI	0,935	44,59
A.P.	19	H	0,170	13,72
A.M.	21	H	0,238	26,66
M.S.	18	HI	0,270	16,86
R.B.	19	V	0,270	15,28
J.N.	17	HI	0,390	52,00
E.R.	22	H	0,590	167,70
I.C.	18	V	0,930 (I)	106,50 (II)

(I) Valor medio 0,787 mg/gr de heces; D.S. 0,662.
 Límites 95% población 0-2 111 mg/gr

(II) Valor medio 57,95 mg/24 h.; D.S. 47,44;
 Límites 95% población 0-152 mg/24 h.

Hemos procedido al estudio de la eliminación de triglicéridos en heces por 24 horas en un grupo de 29 adultos sanos (13 varones y 16 mujeres) cuyas edades oscilaban entre 18 y 53 años . Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

- a) Resultado expresado en mg/gr. de heces
 Valor medio: 0,787 mg/gr de heces
 Límites del 95% para la población y 2,111 mg/gr heces
- b) Resultado expresado en función del peso de las heces eliminadas en 24 horas:
 Valor medio: 57,95 mg/24 horas
 Límites del 95% para la población 0 y 152,7 mg/24 h.

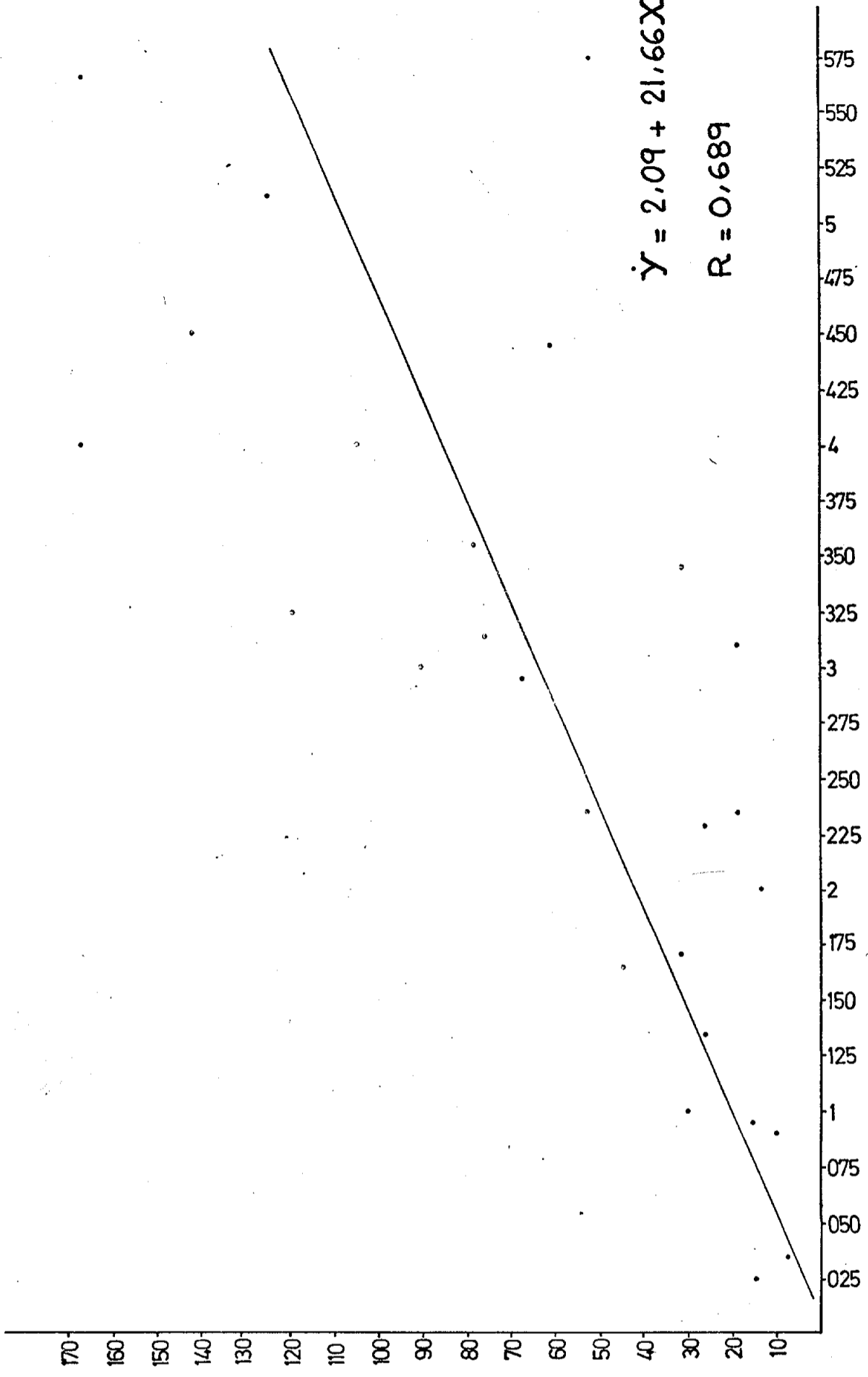
Hemos estudiado la relación entre los lípidos totales eliminados en 24 horas y los triglicéridos excretados en el mismo periodo de tiempo, dándonos un coeficiente de regresión $R = 0,689$ y la ecuación de regresión

$$Y = 2,094 + 21,663 x$$

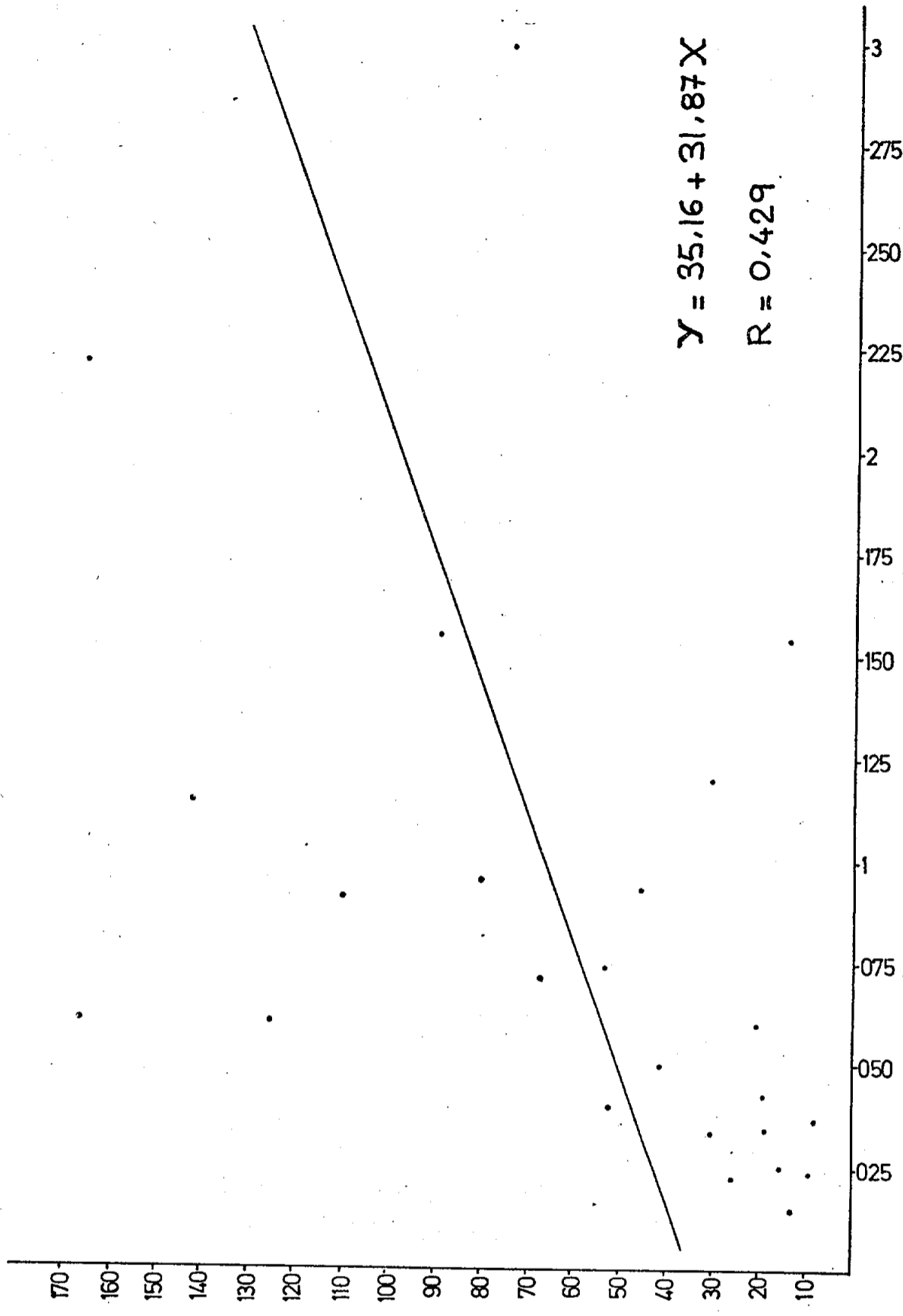
Con objeto de analizar la relación existente entre la eliminación de triglicéridos por gr. de heces y los eliminados en 24 horas, hemos efectuado el cálculo de la R, encontramos un valor de 0,429; la ecuación de regresión es la siguiente:

$$Y = 35,16 + 31,87 x.$$

El valor encontrado para R nos indica que la relación entre ambos es pequeña, por lo cual es muy importante la forma en que se expresan los resultados.



CORRELACIÓN ENTRE LOS LÍPIDOS TOTALES
Y LOS TRIGLICÉRIDOS ELIMINADOS EN 24 HORAS -



CORRELACIÓN ENTRE LOS TRIGLICÉRIDOS EXCRETADOS POR GRAMO DE HECE

Y LOS ELIMINADOS EN 24 HORAS -

$$Y = 35.16 + 31.87X$$
$$R = 0.429$$

Estamos, en estos momentos, realizando un estudio de la eliminación fecal de triglicéridos por 24 horas en un grupo de enfermos cirróticos, escogidos al azar entre la población hospitalaria. Hemos excluido 2 casos de cirrosis biliar primitiva ya que es bien conocido el trastorno en la eliminación fecal de lípidos que presentan estos enfermos.

En estos momentos llevamos estudiados 18 pacientes, cuyas edades oscilan entre 41 y 68 años, de los que 11 son mujeres y 7 varones. Seis de ellos son alcohólicos.

La cifra media de eliminación fecal de triglicéridos/24 horas es de 131,246 mg. con una desviación standard de 171,801 mg./24 h.

Si comparamos estos resultados con los obtenidos en el grupo control, antes citado, aplicando el test de Student obtenemos una $t = 2,052$; la cual tiene significación estadística a nivel del 95% de los casos ($p < 0,05$).

Por otro lado, vemos que ninguno de los 18 enfermos de este grupo presentaba una cifra de lípidos totales en heces por 24 horas superior al límite normal. Este dato no lo hemos hallado descrito en la literatura. Creemos que es muy importante el estudio en estos enfermos del metabolismo de las sales biliares y de su funcionalismo pancreático. Estamos, en estos momentos, poniendo en marcha estas técnicas.

ELIMINACION FECAL DE TRIGLICERIDOS-24 HORAS EN CIRROTICOS

Enfermo	Edad	Sexo	Lípidos Totales grs./24 h.	Triglicéridos mg./24 h.
A.B.	58	H	1,23	34,0
J.B.	47	V	2,95	96,9
H.G.	68	V	6,10	67,94
J.G.	41	V	4,78	183,82
M.C.	45	V	1,08	8,47
L.N.	48	H	1,09	8,48
F.M.	57	H	1,71	476,35
M.G.	61	H	2,26	453,16
A.B.	58	H	1,40	107,50
C.A.	64	H	3,08	88,57
A.M.	43	V	4,79	34,21
M.B.	67	H	4,21	52,24
D.M.	65	V	3,16	46,11
E.M.	59	H	2,96	49,92
L.H.	47	H	2,99	599,56
J.M.	66	H	2,16	74,58
R.O.	59	H	3,00	39,52
J.G.	54	V	5,09	32,91

Cantidad média eliminada por 24 horas = 131,264 mg.

Desviación standard = 171,801 mg.

Número de casos con eliminación superior a 57,950 mg./24 horas =
9 (50%).

ESTUDIO DE LOS LIPIDOS FECALES POR CROMATOGRAFIA DE GASES:

WATSON y GORDON (91) observaron que la acción laxante del ácido ricinoleico tenía efecto en la luz del intestino delgado. La similitud química entre el ácido ricinoleico y el 10-Hidroxiesterato, llevó a estos autores a investigar la posible existencia de acciones farmacológicas similares; pudo establecerse la "dosis única umbral", con efecto purgante, de aceite de castor. Cuando se administraba la citada dosis, se recogían en las heces el 90% de los productos no absorbidos de la lipólisis del citado aceite. Sin embargo, si se administraba una dosis "no purgante" la absorción era casi completa y su excreción menor del 1% (92).

Este fenómeno puede explicar las marcadas diferencias en las cifras de hidroxiácidos grasos entre los pacientes con diarrea y los que no la presentaban; algunos autores pensaron que esta teoría podría explicarse por la mayor afinidad de los grupos hidróxilo por el agua del intestino (93). No obstante, la relación entre las cifras medias diarias de eliminación fecal de hidroxiácidos grasos y las del peso de las heces húmedas no es lineal. SOONG y cols. (94) explican este hecho diciendo que el ácido ricinoleico se absorbe al máximo cuando su concentración intraluminal no excede la dosis umbral, y mínima cuando la excede.

La consecuencia inmediata de este proceso, es la evacuación del contenido intestinal, incluidos los hidroxiácidos grasos; es por este motivo que después de una dosis única suficiente, una nueva dosis no tiene efecto purgativo adicional.

Parece evidente que el factor determinante de la aparición de hidroxiácidos grasos en las heces, es la flora bacteriana intestinal (SOONG y cols., 94); para estos autores, existen factores determinantes de los que depende el contenido

fecal de hidroxiácidos grasos:

- 1.- Cantidad de intestino comprometida por la colonización bacteriana.
- 2.- Rapidez de reproducción de los microorganismos capaces de sintetizar hidroxiácidos grasos.
- 3.- Dilución de los hidroxiácidos grasos con otros elementos contenidos en el intestino delgado.
- 4.- Cantidad de ácidos grasos no saturados, utilizables en la zona de asentamiento de las colonias bacterianas.
- 5.- La rapidez de síntesis de los hidroxiácidos grasos para concentraciones intraluminales suficientes que alcancen el umbral purgante, teniendo en cuenta la eficiente absorción de éstos antes de alcanzarlo.
- 6.- La evacuación de los dos elementos principales, las bacterias intestinales y los hidroxiácidos grasos. De ello debería resultar una disminución temporal de las bacterias intestinales productoras de hidroxiácidos grasos y, a su vez, de los hidroxiácidos. Este hecho podría estimarse por las variaciones diarias del peso de las heces húmedas y de los niveles de hidroxiácidos grasos en ellas.

JAMES, WEBB y cols. encontraron hidroxiácidos grasos de cadena larga, en cantidad muy aumentada, en pacientes con esteatorrea (104).

BRIGHT-ASARE y BINDER (95) hallaron, después de perfundir con ácido ricinoleico el colon de rata, un aumento significativo de la secreción de agua.

SOONG y cols. (94) han descrito que el más frecuente de los hidroxiácidos en las heces humanas es el hidroxiestérico, con el grupo hidroxilo en o junto al C-12.

Como anteriormente hemos citado, parece evidente que los hidroxiácidos grasos son producidos por las bacterias in-

testinales transformando los ácidos grasos de cadena larga. Aerobios y anaerobios intestinales (por ejemplo pseudomonas, clostridium, estreptococo fecal) pueden convertir rápidamente el ácido oleico en 10-hidroxiesteárico.

La eliminación quirúrgica de un asa ciega y la administración de tetraciclinas hacen desaparecer los hidroxiácidos grasos de las heces en los perros (96).

Está demostrado el incremento de las colonizaciones bacterianas anormales en el yeyuno después de la cirugía gástrica (vaguectomía y piloroplastia, Billroth I y Billroth II) (97,98). Parece que tras el Billroth II la incidencia es más elevada (96,100).

En algunas enfermedades del intestino delgado, es conocida la aparición de flora intestinal anómala; tal es el caso de la enteritis post-irradiación (101), resección ileal (102), enteritis regional y en el esprue tropical (103).

Dado el interés de esta investigación en el estudio de las diarreas, la hemos iniciado mediante cromatografía de gases de los lípidos fecales con la técnica que a continuación describimos; este estudio está aun en sus inicios y no poseemos en estos momentos resultados con los que obtener conclusiones, pero si podemos mostrar algunos de los cromatogramas que hemos obtenido.

Preparación de columnas.

Se emplean columnas de vidrio preparadas en la forma que a continuación se indica: Se toma la cantidad de soporte (Chromosorb WEW DMCS 80-100 mesh) necesaria para el llenado de dos columnas, añadiendo un 20% para compensar las posibles pérdidas que puedan tener lugar durante el proceso. Se lleva a una estufa a 100°C durante dos horas, removiendo perio-

dicamente con el fin de eliminar la humedad presente. Simultáneamente se procede a pesar la fase estacionaria (succinato de dietilen-glicol) en cantidad suficiente para obtener una impregnación del 5% aproximadamente, seguidamente la fase estacionaria se disuelve en 15-20 ml. de cloruro de metileno y se transfiere a un matraz de fondo redondo provisto de cuello esmerilado. Se agrega al matraz el chromosorb y se homogeniza; el homogenizado debe quedar como una "sopa clara"; si toma un aspecto pastoso se añade mas cloruro de metileno. El matraz se lleva al rotavapor, operando con vacío débil y velocidad de rotación lenta; transcurrido un tiempo, se observa que el chromosorb ya impregnado queda suelto. Conseguido este punto se pasa el contenido del matraz a una cápsula de porcelana y se lleva a la estufa a 120°C durante una hora, con objeto de eliminar las trazas de disolvente que aun no se han evaporado; transcurrido este tiempo, se puede proceder al llenado de la columna.

Las columnas han de someterse a un proceso de lavado previo antes de llenarlas; éste se efectúa pasando sucesivamente agua, detergente, agua destilada, alcohol etílico, acetona y cloruro de metileno. Seguidamente, se seca la columna en estufa a 120°C; una vez seca la columna se introduce en uno de sus extremos lana de vidrio, conectándose el mismo a una trompa de vacío; el otro extremo se une mediante una goma a un embudo y se procede al llenado, agregando lentamente el relleno y golpeando suavemente la columna con una varilla de vidrio cuyo extremo se ha recubierto con goma. Es conveniente examinar detenidamente la columna una vez llena, con objeto de cerciorarse que la operación se haya realizado correctamente (el relleno no debe presentar huecos). Finalizada la operación se coloca lana de vidrio en el otro extremo y, si no se emplea inmediatamente, se cierra por sus dos extremos para preservar-

la del medio ambiente. La cantidad de fase estacionaria introducida se determina por diferencia entre la columna vacia y tras el llenado.

Acondicionamiento de la columna.

Con objeto de eliminar las trazas de disolvente que quedan del proceso de preparaci3n y otras impurezas volatiles que posee el relleno, asi como para que este quede suficientemente activado, se procede al acondicionamiento de la columna; este consiste en un aumento progresivo de la temperatura hasta alcanzar un valor algo superior al del r3gimen de trabajo.

Para realizar esta operaci3n, se dispone la columna con un extremo conectado a la entrada del gas portador y el otro a la atm3sfera, es decir, desconectado del detector (para evitar que se ensucie)). Se abre la fuente de gas portador y se procede al acondicionamiento.

Se han obtenido buenos resultados con las temperaturas y tiempos que a continuaci3n indicamos:

3	horas	100°C
3	"	120°C
12	"	140°C
3	"	160°C
3	"	170°C
18	"	180°C

Condiciones cromatogr3ficas empleadas.

Hemos utilizado un cromat3grafo PERKIN ELMER, modelo F 11, equipado con doble detector de ionizaci3n de llama; columnas de vidrio de 2 metros de longitud y 3 mm de di3metro interior rellenas de DEGS al 5% sobre chromosorb WIAW DMGS 80-100 mesh; presi3n de hidr3geno 140 K p/m2; presi3n de aire a 160 K p/m2; gas portador de nitr3geno, ajust3ndose el flu-

jo hasta la obtención del número máximo de platos de acuerdo con la ecuación de Van Deenter. Temperaturas de trabajo: horno a 170°C y detectores a 300°C. Velocidad de registro: 10 mm/minuto. Cantidad de muestra inyectada: 0,2 a 0,9 microlitros.

Identificación de ácidos grasos.- (105)

Hemos empleado los siguientes sistemas de identificación de ácidos grasos:

- a) Mediante el empleo de patrones de Láurico, Mirístico, Palmítico, Estearico, Oleico, Linoleico, Araquídico y Behénico.
- b) Mediante el empleo de las longitudes de cadena equivalentes (ECL), método propuesto por MIWA y cols. (106).
- c) Por el método de la longitud de cadena equivalente morificada (MECL) ACKMAN (107)

Cálculo de los cromatogramas

Los cromatogramas han sido calculados por rectangulación. Este método no mide el área de los picos, sino una superficie proporcional a esta área y, por tanto, proporcional a la cantidad de sustancias. El resultado se expresa en tanto por ciento de cada uno de los componentes.

Métodos usados para la hidrólisis de lípidos y metilación de ácidos grasos utilizados.

El extracto lipídico obtenido según el método de SOBEL (86) se somete a hidrólisis para liberar los ácidos grasos; hemos utilizado dos métodos de hidrólisis:

Método 1.-

Para hidrolizar, inicialmente partimos del propuesto por FANSTAD (108) consistente en tratar el extracto lipídico con 0,75 mililitros de potasa acuosa 10 N, mas 7,5 ml. alcohol absoluto, durante 30 minutos a 37°C, utilizando es-

ta temperatura no conseguimos hidrolizar los ésteres del colesterol, por lo cual la aumentamos hasta 45°C. A esta temperatura hemos conseguido la hidrólisis de todos los componentes lipídicos, pero no logramos standarizar la metódica, probablemente debido a que pequeñas variaciones del agua presente en el medio afectan el proceso; por este motivo decidimos emplear otro procedimiento.

Método 2.-

Las condiciones propuestas por KERKUNT (109) nos han proporcionado buenos resultados. La hidrólisis se efectua con 10 ml. de una solución de potasa metanólica al 5% durante 180 minutos a reflujo. Nosotros, con objeto de disolver los ésteres de colesterol y triglicéridos, añadimos 0,25 ml. de cloroformo al extracto seco y a continuación procedemos a la hidrólisis como se indicó mas arriba.

Obtenido la hidrólisis se procede a la exteacción de los ácidos grasos operando en la forma siguiente: el contenido del matra, de hidrólisis se pasa a un embudo de decantación, añadiéndose 20 ml. de agua y otros 20 de hexano. La fase acuosa contiene sales potásicas de los ácidos graaos, mientras que el hexano contiene el insaponificable; éste se elimina, ya que puede interferir en la cromatografía (118-119).

La fase acuosa se pasa a otro embudo de decantación y se acidifica con ácido clorhídrico hasta pH 2, procediéndose a continuación a la extracción de los ácidos grasos con hexano (agitar la fase acuosa con 20 ml. de hexano durante un minuto y recogerlo con un erlenmeyer; repetir el proceso dos veces mas).. Añadir al erlenmeyer, con objeto de eliminar el agua que ocasionalmente haya podido recogerse, sulfato sódico anhidro,, filtrar a través de papel de filtro deslipidizado y evaporar mediante rotavapor hasta que queden unos 3 ml.. apro-

85

ximadamente. Transferir éstos a un tibo de centrífuga, lavar con 3 ml. de hexano el erlenmeyer y recogerlos en el tubo. Repetir el lavado y evaporar a sequedad bajo atmósfera de nitrógeno. Dado que la cromatografía de gases de los ácidos grasos libres es difícil, se acude a cromatografiarlos en forma de derivados termicamente mas estables.

Metilación.

La metódica utilizada para la metilación ha sido la siguiente: se añaden a los ácidos grasos contenidos en un tubo de cierre hermético, 0,5 ml. de una solución de eter etílico y metanol (9:1). Se agita y se alade a continuación 1 ml. de solución de diazometano; se tapa el tubo y se deja 30 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se evapora a sequedad bajo atmósfera de nitrógeno. Todas las operaciones descritas deben realizarse en vitrina.

Al poner a punto la técnica descrita, hemos tenido en cuenta los trabajos de SCHDENK (110), quien observó que al metilar el ácido esteárico con solución eterea de diazometano y trabajando a 20°C., el proceso no se había completado despues de una hora. Esto se intenta corregir añadiendo metanol.

Una de las principales objeciones que han sido formuladas a este agente metilante es la de existir la posibilidad de reaccionar con los dobles enlaces; no obstante, segun STEIN (111), esto no ocurre en las condiciones en las que trabajamos.

Obtención del diazometano.

Para la obtención del diazometano partimos de la N-tolilsulfonil-(4)-N-metilnitrosamida (Merck) siguiendo la técnica facilitada por la misma forma. El diazometano se obtiene en forma de solución etérea y debe conservarse en recipiente hermético en congelador a -20°C. Por su elevada toxicidad, de-

be manejarse con precaución evitando su inhalación y el contacto con la piel.

Metilación con trifloruro de boro.

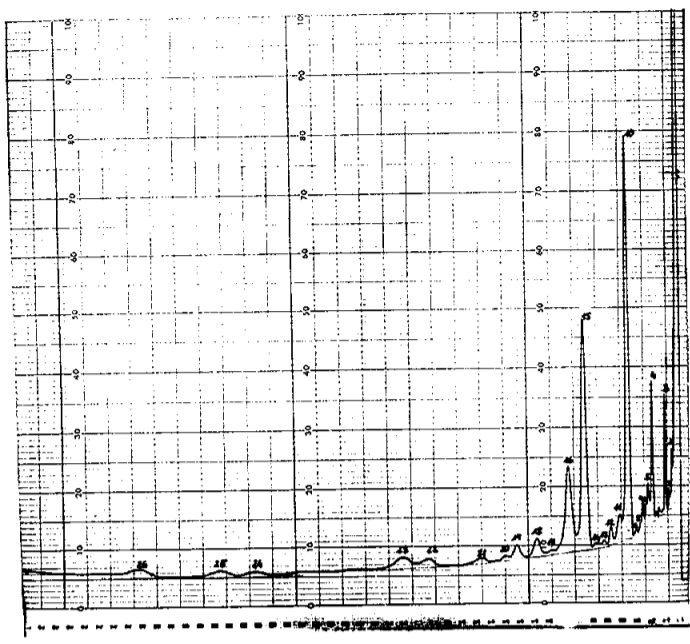
Este método de metilación ha sido poco utilizado debido a la agresividad y toxicidad del trifloruro de boro, del que debe partirse para la obtención del complejo metanólico utilizado para la esterificación metílica. Sin embargo, recientemente, EKTROPENSTEIN (115) ha comprobado que puede utilizarse el complejo trifloruro de boro-metanol que suministran diversas firmas comerciales con idénticos resultados a los obtenidos al metilar con el reactivo preparado recientemente. En nuestro trabajo hemos utilizado la solución metanólica al 14% Merck. Las condiciones utilizadas para la metilación han sido las de METCALFE y SCHMITZ (112-113). A los ácidos grasos contenidos en un tubo provisto de tapón de rosca, se añade un ml. de solución de trifloruro de boro metanólica y se lleva al baño maria en ebullición durante dos minutos, transcurridos los cuales se retira del baño y se deja enfriar. La extracción se verifica del siguiente modo: añadir un ml. de agua y 3 ml. de hexano, agitar un minuto y recoger el hexano mediante una pipeta (repetir la operación tres veces). Tras eliminar el agua que ocasionalmente pudimos tomar con el sulfato sódico anhidro, se pasa la solución a un tubo de fondo cónico y se lleva a sequedad bajo atmósfera de nitrógeno.

Artefactos.

Durante nuestro trabajo hemos tropezado con dos tipos de artefactos, unos debido a impurezas y otros formados durante el proceso de metilación.

Respecto al primero, diremos que es necesario emplear reactivos de grado analítico y recién destilados; no obs

tante esta precaución, pueden observarse en los cromatogramas algunas impurezas que no interfieren; éstas se encuentran principalmente en la cola del disolvente. Hemos podido observar, y posteriormente constatar en la bibliografía (114), que el diazometano puede originar artefactos que interfieren en la cromatografía de gases de los ésteres metílicos de los ácidos grasos; estos artefactos son polímeros y otros productos de estructura desconocida (114) que se producen espontáneamente en la solución de diazometano y aumentan al envejecer ésta. La formación de estos artefactos no ha sido descrita cuando el diazometano se usa inmediatamente después de generado. Estos artefactos pueden eliminarse por cromatografía en capa fina de absorción. Nosotros hemos estudiado mediante patrones de ésteres metílicos de los ácidos grasos láurico, mirístico, palmítico, esteárico, oleico, linoleico y araquírico, las recuperaciones de estos al cromatografiarlos en placas de 400 micras de Silicagel G., pudiendo observar que los resultados obtenidos eran satisfactorios, por lo cual hemos eliminado estos artefactos por este procedimiento.

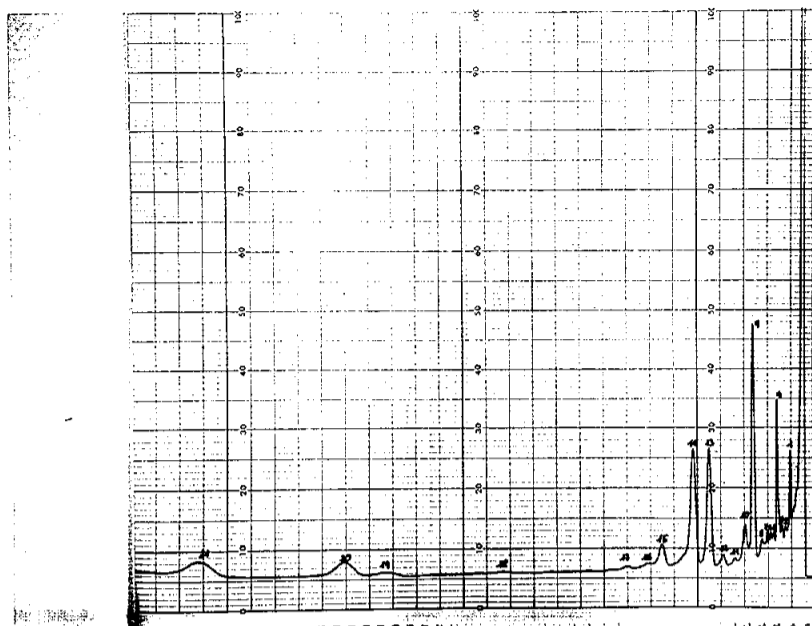


Cromatografía de gases nº 1

- | | |
|---------------------|----------------------|
| 1.- C-10 - 0,50% | 14.- N.I. - Trazas |
| 2.- N.I. - Trazas | 15.- C-18 - 24,56% |
| 3.- C-12 - 2,88% | 16.- C-18:1 - 10,83% |
| 4.- C-14 - 5,29% | 17.- N.I. - Trazas |
| 5.- C-14:1 - 0,91% | 18.- C-18:2 - 2,95% |
| 6.- N.I. - Trazas | 19.- C-18:3 - 2,5% |
| 7.- C-15 - 1,19% | 20.- C-20? - 0,94% |
| 8.- N.I. - Trazas | 21.- C-20? - 1,26% |
| 9.- N.I. - Trazas | 22.- (1) - 2,7% |
| 10.- C-16 - 24,9% | 23.- N.I. - 3,22% |
| 11.- C-16:1 - 1,90% | 24.- N.I. - 2,10% |
| 12.- C-17:1 - 1,64% | 25.- N.I. - 3,16% |
| 13.- N.I. - Trazas | 26.- N.I. - 4,5% |

N.I. = No Identificado

(1) = 20 carbonos poliendícos o 22 mono, di o poliendícos.



Cromatografía de gases nº2

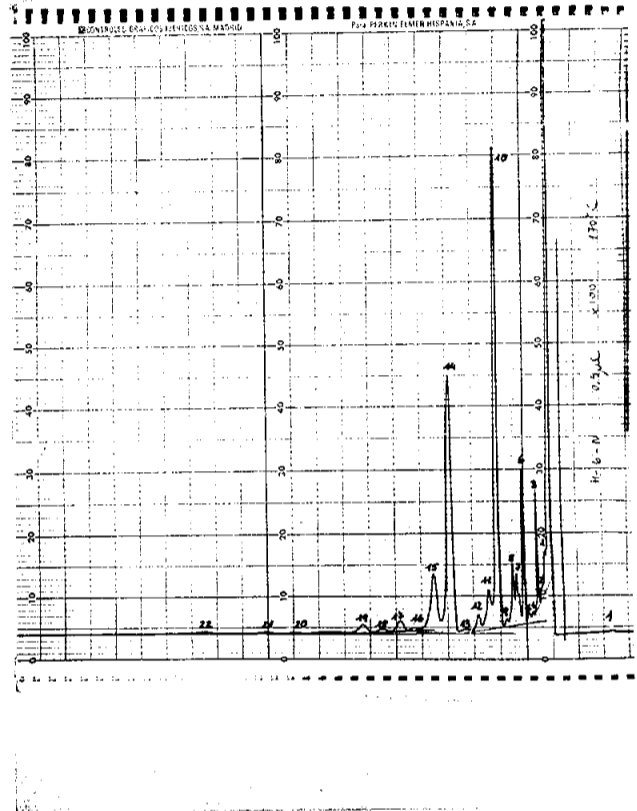
1.- C-12 - 1,68%	12.- N.I. - 1,46%
2.- Impureza - Trazas	13.- C-18 - 15,30%
3.- " "	14.- C-18:1 - 17,80%
4.- C-14 - 5,7%	15.- C-18:2 - 4,25%
5.- C-14:1 - 0,5%	16.- C-18:3 - 1,0%
6.- N.I. - Trazas	17.- C-20 - 1,0%
7.- C-15 - 1,0%	18.- N.I. - 0,81%
8.- N.I. - Trazas	19.- C-20 ó C-22 - 2,28%
9.- C-16 - 16,35%	20.- C-20 ó C-22 - 9,29%
10.- C-16:1 - 3,6%	21.- C-20 ó C-22 - 15,36%
11.- C-17 - 0,65%	

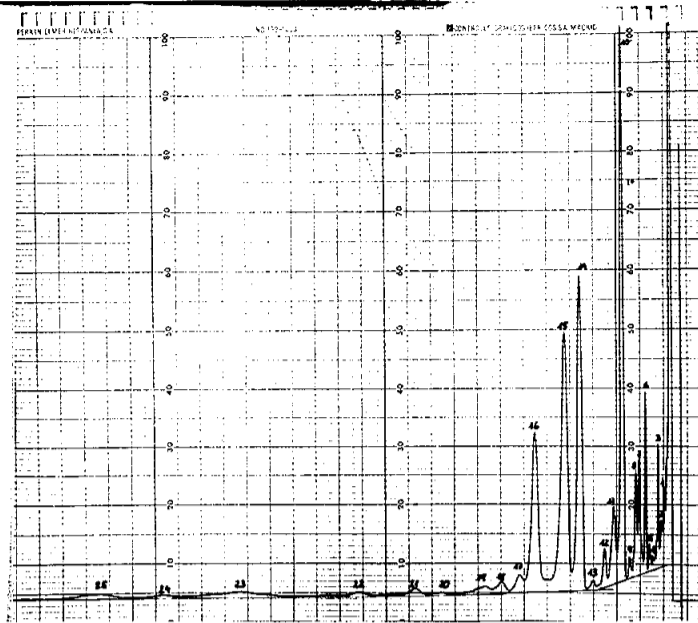
N.I.= No Identificado

Cromatografía de gases nº3

- 1.- N.I. - Trazas
- 2.- Impureza - Trazas
- 3.- C-12 - 3,17%
- 4.- Impureza - Trazas
- 5.- " "
- 6.- C-14 - 645%
- 7.- C-14:1 - 2,51%
- 8.- C-15 - 3,35%
- 9.- N.I. - Trazas
- 10.- C-16 - 32,82%
- 11.- C-16:1 - 3,13%
- 12.- C-17 - 1,51%
- 13.- N.I. - Trazas
- 14.- C-18 - 30,6%
- 15.- C-18:1 - 8,06%
- 16.- N.I. - Trazas
- 17.- C-18:2 - 1,92%
- 18.- C-18:3 - 0,64%
- 19.- C-20 - 1,93%
- 20.- N.I. - Trazas
- 21.- C-20:2? - 0,74%
- 22.- C-20:4 ó C-22 - 0,90%

N.I. = No Identificado

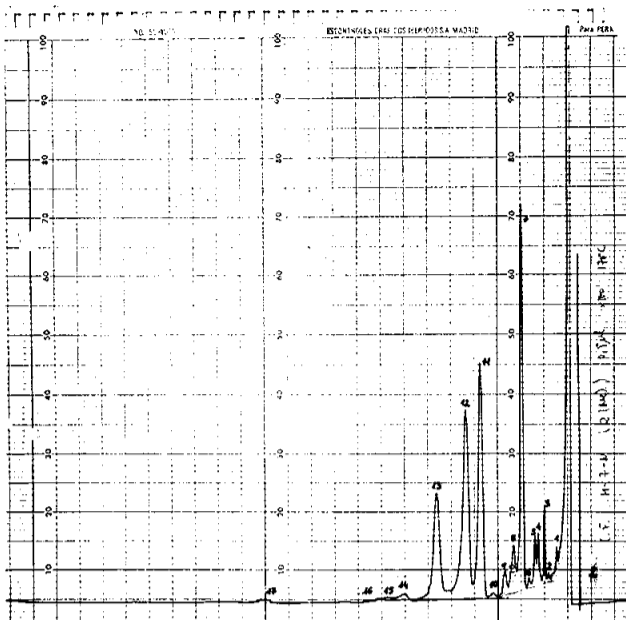




Cromatografía de gases nº 4

1.- C-10 - Trazas	14.- C-18 - 19,0%
2.- N.I. - Trazas	15.- C-18:1 - 18,15%
3.- C-12 - 1,44%	16.- C-18:2 - 14,15%
4.- Impurezas - Trazas	17.- C-18:3 - 1,75%
5.- " "	18.- C-20 - 1,40%
6.- C-14 - 3,85%	19.- N.I. - 0,96%
7.- C-14:1 - 2,96%	20.- Nil. - Trazas
8.- C-15 - 2,85%	21.- N.I. - 1,3%
9.- N.I. - 0,66%	22.- C-20:4 ó C-22 - 0,97%
10.- C-16 - 19,28%	23.- N.I. - 1,58%
11.- C-16:1 - 3,18%	24.- N.I. - 1,0%
12.- C-17 - 1,82%	25.- C-24? - 1,65%
13.- N.I. - Trazas	

N.I. = No Identificado



Cromatografía de gases nº 5

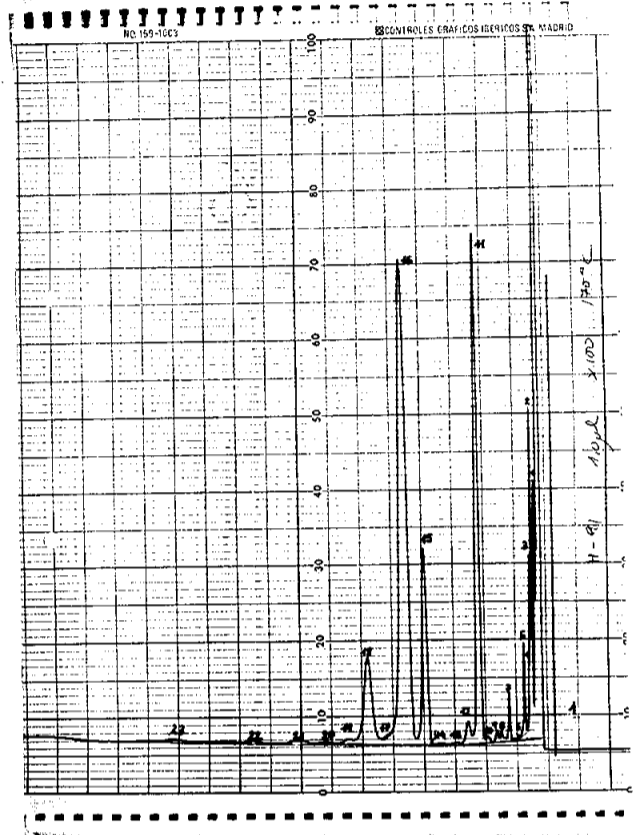
- | | |
|-----------------------|----------------------------|
| 1.- C-12 - Trazas | 10.- N.I. - Trazas |
| 2.- Impureza - Trazas | 11.- C-18 - 23,53% |
| 3.- C-14 - 2,80% | 12.- C-18:1 - 21,98% |
| 4.- C-14:1 - 2,30% | 13.- C-18:2 - 16,02% |
| 5.- C-15 - 2,36% | 14.- C-20 - 1,07% |
| 6.- N.I. - Trazas | 15.- N.I. - 0,61% |
| 7.- C-16 - 22,16% | 16.- " - Trazas |
| 8.- C-16:1 - 2,54% | 17.- C-20:4 ó C-22 - 0,71% |
| 9.- C-17 - 1,67% | |

N.I. = No Identificado

Cromatografía de gases nº 6

- 1.- N.I. - 0,9%
- 2.- C-10 - 2,6%
- 3.- N.I. - 1,18%
- 4.- N.I. - Trazas
- 5.- C-12 - 1,55%
- 6.- N.I. - Trazas
- 7.- C-14 - 1,26%
- 8.- Impureza - Trazas
- 9.- " "
- 10.- " "
- 11.- C-16 - 22,09%
- 12.- C-16:1 - 1,2%
- 13.- C-17 - Trazas
- 14.- N.I. - Trazas
- 15.- C-18 - 14,59%
- 16.- C-18:1 - 41,89%
- 17.- N.I.-Trazas
- 18.- C-18:2 - 9,44%
- 19.- C-18:3 - 0,6%
- 20.- C-20 - Trazas
- 21.- C-20:1 - 0,6%
- 22.- N.I. - 0,56%
- 23.- N.I. - 0,71%

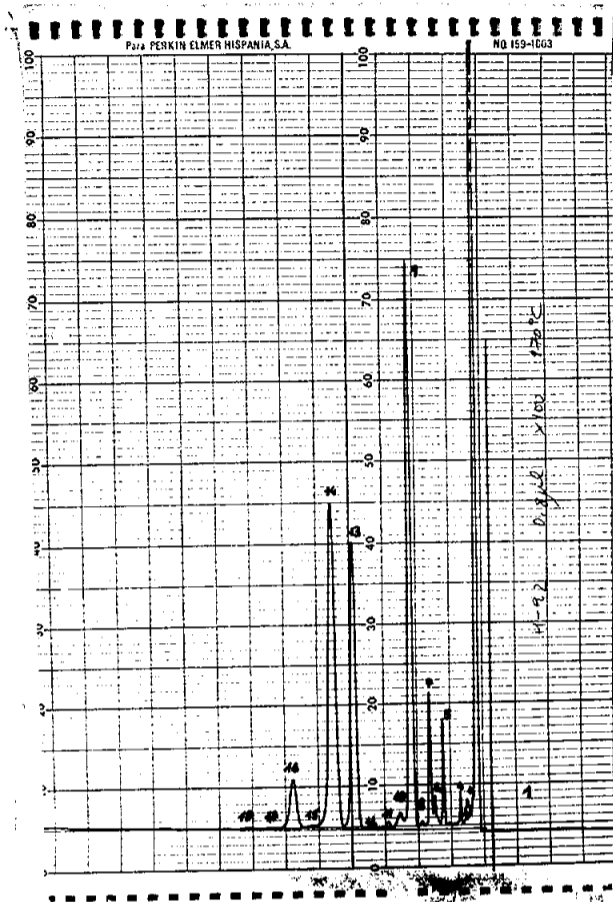
N.I. = No Identificado

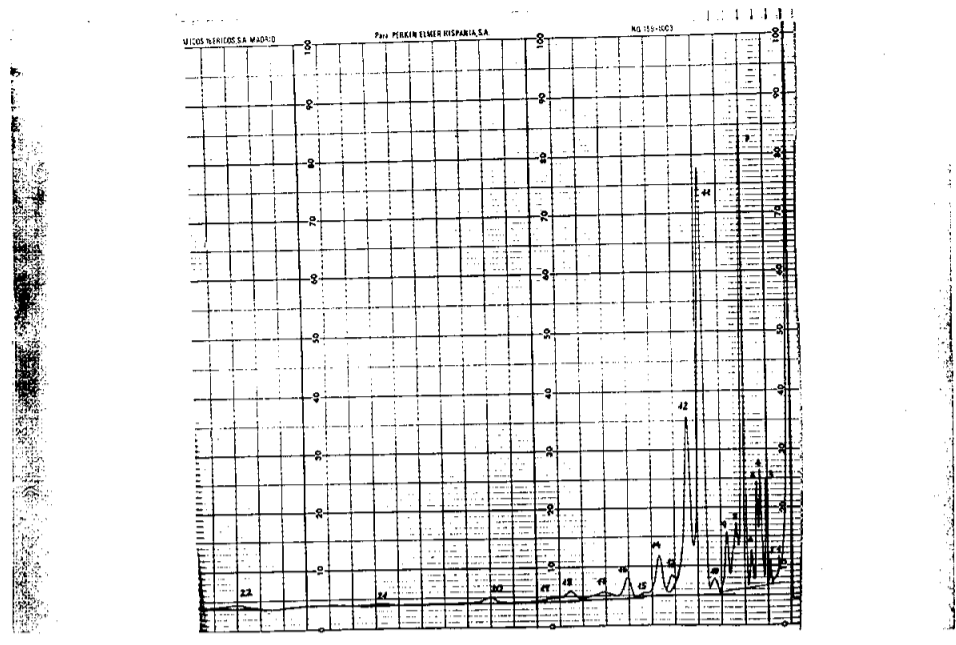


Cromatografía de gases nº 7

- 1.- N.I. - Trazas
- 2.- C-10 - Trazas
- 3.- N.I. - Trazas
- 4.- C-12 - 0,6%
- 5.- C-14 - 3,21%
- 6.- N.I. - 0,8%
- 7.- C-15 - 4,94%
- 8.- N.I. - Trazas
- 9.- C-16 - 27,42%
- 10.- C-16:1 - 0,83%
- 11.- C-17 - Trazas
- 12.- N.I. - Trazas
- 13.- C-18 - 23,46%
- 14.- C-18:1 - 30,83%
- 15.- N.I. - Trazas
- 16.- C-18:2 - 5,42%
- 17.- C-18:3 - Trazas
- 18.- C-20 - Trazas

N.I. = No Identificado

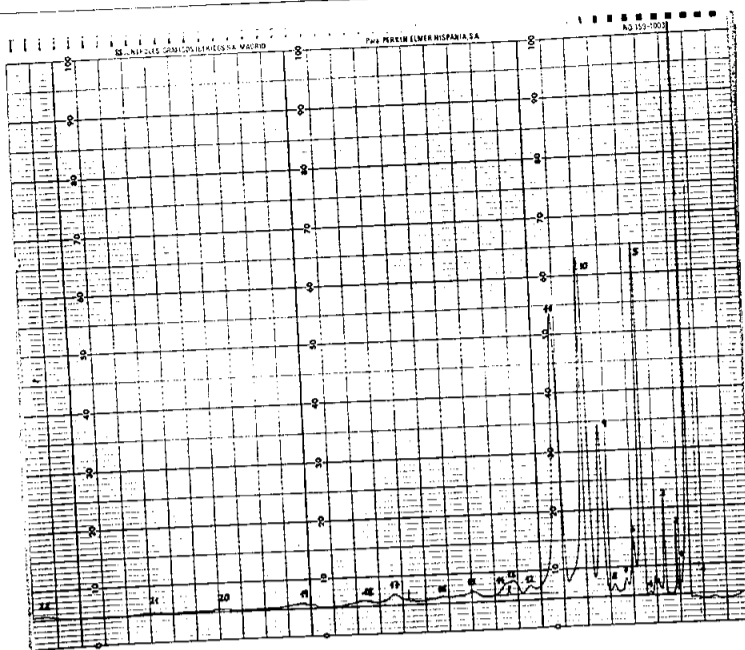




Cromatografía de gases nº 8

- | | |
|--------------------|----------------------------|
| 1.- C-12 - Trazas | 12.- C-18:1 - 15,10% |
| 2.- N.I. - 0,6% | 13.- N.I. - 1,35% |
| 3.- C-14 - 2,75% | 14.- C-18:2 - 4,30% |
| 4.- N.I. - 3,56% | 15.- C-18:3 - 0,55% |
| 5.- C-15 - 3,47% | 16.- C-20 - 2,62% |
| 6.- N.I. - 1,36% | 17.- N.I. - 1,01% |
| 7.- C-16 - 19,29% | 18.- N.I. - 1,55% |
| 8.- C-16:1 - 3,24% | 19.- N.I. - Trazas |
| 9.- C-17 - 3,28% | 20.- C-20:4 ó C-22 - 1,16% |
| 10.- N.I. - 1,01% | 21.- C-22:2? - Trazas |
| 11.- C-18 - 31,0% | 22.- C-24 - 1,58% |

N.I. = No Identificado



Cromatografía de gases nº 9

- | | |
|----------------------|----------------------------|
| 1.- N.I. - Trazas | 12.- C-18:3 - 0,97% |
| 2.- C-12 - 1,12% | 13.- C-20 - 1,81% |
| 3.- C-14 - 2,32% | 14.- N.I. - 1,57% |
| 4.- N.I. - Trazas | 15.- N.I. - 1% |
| 5.- C-16 - 13,80% | 16.- N.I. - 0,78% |
| 6.- C-16:1 - 2,80% | 17.- C-20:4 & C-22 - 2,02% |
| 7.- C-17 - 0,77% | 18.- N.I. - 1,04% |
| 8.- N.I. - 0,52% | 19.- C-22:2 - 1,32% |
| 9.- C-18 - 11,37% | 20.- N.I. - 1,06% |
| 10.- C-18:1 - 26,09% | 21.- C-24 - 0,85% |
| 11.- C-18:2 - 27,45% | 22.- N.I. - 1,45% |

N.I. = No Identificado

ESTUDIO DE LA BIOPSIA INTESTINAL

Esta técnica, que fué la que revitalizó el interés por las enfermedades del intestino delgado, ha abierto un gran campo para su diagnóstico. Sin embargo, a pesar de lo mucho que se ha avanzado en él queda una gran zona oscura de la que podemos darnos idea el hecho de que TRIER y RUBIN (116, 117) consideran que en muy pocas ocasiones, la biopsia intestinal es definitiva en el diagnóstico de las enteropatías.

A continuación, exponemos qué enfermedades presentan o no biopsia intestinal diagnóstica, y en cuales las alteraciones que presenta apoyan o no el diagnóstico clínico.

a) En cierto número de casos la biopsia intestinal es siempre diagnóstica, tal es el caso de:

- Esprue celíaca
- Enfermedad de Whipple
- Abetalipoproteinemia
- Agammaglobulinemia

Ante la sospecha de alguna de estas enfermedades, la existencia de una biopsia normal excluye totalmente el diagnóstico, mientras que una biopsia patológica lo establece (116).

b) En otras ocasiones, la biopsia puede o no tener valor diagnóstico específico:

- Linfoma intestinal
- Linfangiectasia intestinal
- Mastocitosis sistémica
- Inestaciones intestinales parasitarias
 - Giardiasis
 - Coecidiosis
 - Astrongilosis
 - Capilariasis

- Amiloidosis
- Enteritis regional
- Hipogamma y disgammaglobulinemia

En este grupo puede existir una afectación difusa o irregular de la mucosa intestinal; la biopsia puede o no ser diagnóstica, según la toma se haya realizado en una zona afecta o no. La obtención de una biopsia normal nunca excluye el diagnóstico y obliga a la obtención de varias muestras a distintos niveles (116, 117, 120, 121, 122).

c) En este apartado incluimos los desórdenes en los que la biopsia puede ser anormal, pero no diagnóstica.

- Esprue tropical
- Deficit de ácido fólico
- Déficit de vitamina B 12
- Enteritis post-irradiación
- Síndrome de Zollinger-Ellison
- Estasis con excesivo crecimiento bacteriano
- Lesiones producidas por drogas (antimetabolitos, neomicina)
- Malnutrición.

En estas enfermedades existen lesiones difusas e irregulares en la mucosa intestinal pero son, generalmente, inespecíficas. Pueden ayudar al diagnóstico, pero no son definitivas (123, 124).

d) Por último, enumeraremos los desórdenes en los que la biopsia intestinal es normal.

- Malabsorción post-gastrectomía, sin enfermedad intestinal.
- Insuficiencia pancreática exocrina
- Enfermedad funcional del intestino (colon irritable, diarreas inespecíficas).

Entre estos dos últimos grupos, cabalga la cirrosis hepática de la que comentaremos ciertos aspectos mas adelante.

1.- Metódica de estudio.

El incremento del uso de este medio de exploración, hace posible el conocimiento de la estructura normal de este órgano; la fragilidad del epitelio de la mucosa intestinal lo hace difícilmente asequible en los estudios necrópsicos, ya que en estos casos las vellosidades aparecen desnudas de células epiteliales (125), de aqui el interés que tiene su estudio en los individuos vivos.

1.-1.- Obtención

Usamos la cápsula de Watson (modificación de la de Crosby) por ser de facil montaje y poseer sonda radio-opaca; de esta forma podemos seguir correctamente su recorrido por el tramo digestivo.

Estando el enfermo sentado, se hace que trague la cápsula que, por su propio peso, cae hasta el estómago. Una vez en él, colocamos al enfermo en decúbito ventral durante un minuto, para que la cápsula resbale por la cara anterior del estómago, pasando luego a colocarse en decúbito lateral derecho. El paciente no debe sugetar con los labios o dientes la sonda que va unida a la cápsula, para dejar que progrese por si misma. Inmediatamente se administran, por via endovenosa, 20 mg. de metoclopramida con lo que, además de aliviar las náuseas que pueda presentar, impulsa, por las contracciones del antro, el paso de la cápsula por el píloro. La cápsula debe llegar, en caso de una biopsia única, rutinaria, no múltiple, a unos 10 cm. por debajo del ángulo duodeno yeyunal (125). El tiempo que se tarda en alcanzar dicha zona es variable según los individuos; en nuestros casos, el tiempo mínimo ha sido una hora y el máximo cuatro

horas.

Una vez localizada la cápsula en el lugar deseado, debe procederse a limpiarla interiormente, inyectando 20 cc. de suero salino isotónico; inmediatamente se aspira de manera brusca (con la jeringa vacía) dos veces para conseguir, medianamente el vacío, el cierre de la cápsula. Se comprobará si está cerrada, intentando inyectar nuevamente 20 cc. de suero salino isotónico; si está cerrada, se notará una gran resistencia al paso del líquido.

La recuperación de la cápsula debe hacerse mediante una tracción continua, no muy intensa, pero constante. Normalmente se encuentran dificultades discretas al pasar el píloro, cardias y esfínter esofágico superior; el tiempo de recuperación de la cápsula no debe ser superior a 3 minutos ya que el epitelio de la mucosa intestinal podría sufrir alteraciones importantes (126). Sin embargo, no deben realizarse tracciones intensas ni violentas ante una dificultad en la recuperación; se esperará 30-40 segundos sin forzar la tracción y normalmente puede extraerse sin problemas.

1.-2.- Estudio al microscopio de disección:

Es conocido que existen diferencias en la mucosa intestinal según las razas; si estos cambios son debidos a diferencias raciales o a distintos tipos de alimentación, es un concepto que debe ser aun aclarado (125). El estudio de las vellosidades en diferentes regiones habitadas por la raza blanca presenta notables diferencias al microscopio de disección (127).

En duodeno y yeyuno podemos observar las vellosidades con aspecto "digitiforme"; es tambien normal encontrar, en esta zona, otras de diámetro transversal mas ancho, en forma de "hoja" o de "pala". En el duodeno, ocasionalmente, adoptan forma "convoluta" (143); amenudo puede observarse claramente el ar-

co vascular en el seno de la lámina propia.

Es posible, con cierto entrenamiento, llegar a familiarizarse con la normal apariencia de las vellosidades intestinales y evaluar la mayor parte de las variaciones que presentan en los síndromes de malabsorción intestinal. De todas, formas creemos que no se puede, en muchos casos, valorar el grado de atrofia de las vellosidades, lo cual solo se conseguirá cortando la pieza y estudiándola al microscopio de luz.

La presencia de numerosas vellosidades en forma de hoja o de pala, en especial en el duodeno, no es necesariamente, como algunos pretendían, evidencia de esteatorrea idiopática, ya que pueden ser vistos en otras condiciones. Así, en algunas razas como portorriqueños, asiáticos y africanos, muestran estas variaciones en gran parte del duodeno y porción alta del yeyuno (128, 129). Por último, debemos decir que la microscopía de disección es elemento fundamental para orientar la pieza de biopsia y obtener así unos cortes correctos para su estudio al microscopio de luz.

1.-3.- Estudio al microscopio de luz.

Estas consideraciones previas creemos que son esenciales; su cumplimiento estricto nos llevará a realizar en las mejores condiciones el estudio de la biopsia al microscopio de luz. Es fundamental, en la histopatología del intestino delgado, el estudio del epitelio de revestimiento individualmente, considerando después, en conjunto, la vellosidad.

Para el estudio cuidadoso de las células epiteliales del intestino delgado, es necesario que la pieza sea obtenida "in vivo". MORSON (125) y WHITEHEAD (126) no están de acuerdo en que tenga el mismo valor el material obtenido "post mortem", aunque, recientemente, existan técnicas para preservar el material intestinal obtenido tras la muerte del paciente y, podría

ser de ayuda en el diagnóstico (130).

La importancia de la orientación correcta de los cortes es imprescindible, ya que la mas frecuente causa de error diagnóstico es el examen de cortes oblicuos.

La célula epitelial ha sido objeto de intensa investigación desde el advenimiento de la biopsia peroral y de la microscopía electrónica. Cada una de estas células epiteliales posee un nucleo oval, situado hacia la base de la célula; en el polo apical, la célula presenta una capa bien individualizada de material refringente: el ribete en cepillo. Esta célula está incluida en una membrana que parece ser continua, sin poros u otras aberturas (131). El citoplasma contiene una red de fino material filamentososo que encierra pequeñas vesículas, gránulos y unidades estructurales denominadas organelas. Estas últimas están representadas por las mitocondrias (132)), en forma de bastón y que presentan dimensiones variables y son mas numerosas en las vecindades de la membrana basal y en la región apical de las células.

El nucleo y las mitocondrias están en íntima relación con el retículo endoplásmico con el que, se cree, existe una relación dinámica. La naturaleza dinámica del retículo endoplásmico es evidente, dado que la cantidad y disposición de retículo granuloso varían con el estado de absorción. En ayunas, se encuentra muy aumentado y adquiere una disposición ordenada en forma de canales y cisternas, pero despues de la absorción de cantidades apreciables de líquidos aparecen en forma de pequeñas vesículas diseminadas (133).

Otra estructura de extraordinaria importancia es el "ribete en cepillo". Se implanta en la superficie apical de la célula epitelial y está formado por numerosas microvellosidades que se disponen paralelamente unas a otras y de manera regular;

estas estructuras son muy numerosas y se ha calculado que la superficie de una sola célula epitelial del intestino de rata, se encuentra cubierta por casi 1000 de estas microvellosidades (133). En el hombre, miden alrededor de 0,1 micrón de ancho por 0,8 a 1,6 de largo (133). Normalmente se hallan dispuestas de manera regular, lo cual se ha atribuido a la presencia, en su interior, de finas fibrillas que corren paralelas al eje mayor de las microvellosidades y que se extienden hacia el citoplasma, mezclándose para formar una malla con las fibrillas existentes en éste (132)). Estas microvellosidades son consideradas como un medio para aumentar la superficie efectiva de absorción del intestino delgado; se ha calculado que aumentan 24 veces la superficie de absorción (134).

Aunque esta podría ser una de las principales finalidades de las microvellosidades, en realidad no ha sido aclarado aún su papel exacto en lo que a la absorción se refiere. Poco es lo que se sabe acerca de la relación entre las células epiteliales adyacentes, salvo el hecho de su acción conjunta para constituir una barrera intestinal. La microscopía electrónica ha revelado la existencia de interdigitaciones en las superficies laterales de las células intestinales, que parecen desempañar un papel en la unión intercelular. PALAY y KARLIN (133) creen que las mencionadas interdigitaciones sirven solo como barrera transitoria debido a que, a menudo, se encuentran alteradas por cambios en la morfología de la célula. Estos autores atribuyen mayor importancia a una zona particularmente mas densa, la "barrera terminal", que abraza la porción apical de la célula a modo de anillo, lo cual representaría una zona de fuerte adhesión celular.

El estudio del epitelio de la mucosa intestinal nos permite observar un tipo de células morfológicamente distinto

y en diversos estadios de su función: es la célula caliciforme; se la distingue fácilmente, cuando se halla en fase productiva, de la epitelial cilíndrica. Casi siempre parece estar llena de moco o vaciando su secreción a la luz intestinal; es su base, delgada, la que contiene al núcleo, mientras que la mitad superior, que se encuentra distendida por el moco, vendría a ser la concavidad de la copa. El núcleo es redondo u oval, y su cromatina es mucho más densa y se tiñe más intensamente que la de los núcleos de las células cilíndricas; la célula caliciforme en reposo, o la que ha vaciado ya toda su secreción, está casi desprovista de gránulos secretorios, pero, al igual que las otras, posee su borde apical, estriado provisto de microvellosidades (135). Cuando la célula caliciforme comienza su ciclo secretor, se acumulan los gránulos en la región del aparato de Golgi, aumentan de tamaño y terminan formando un conglomerado de gotitas de mucina que hincha la célula dándole su aspecto característico. Al ser impulsadas hacia la periferie las estructuras internas de la célula, las gotitas de mucina se fusionan y constituyen masas mayores. Gradualmente, las microvellosidades se acortan a medida que las superficies apical y laterales de la célula se expanden, y finalmente, la primera se rompe liberando el contenido celular en la luz intestinal.

Es probable que sean varias las funciones de este moco en el interior del intestino delgado, pero su relación con el epitelio es tan incierta como su ciclo vital. MOE (136) cree que la célula caliciforme realiza un solo ciclo secretor; este desconocimiento se hace extensivo a los factores implicados en la regulación del ciclo secretor de la mencionada célula, a su origen y, aun, si su secreción es un mero lubricante de la superficie del intestino o constituye un elemento primariamente protector. SHEEHY (137) cree que la célula caliciforme podría

y en diversos estadios de su función: es la célula caliciforme; se la distingue facilmente, cuando se halla en fase productiva, de la epitelial cilíndrica. Casi siempre parece estar llena de moco o vaciando su secreción a la luz intestinal; es su base, delgada, la que contiene al nucleo, mientras que la mitad superior, que se encuentra distendida por el moco, vendría a ser la concavidad de la copa. El nucleo es redondo u oval, y su cromatina es mucho mas densa y se tiñe mas intensamente que la de los nucleos de las células cilíndricas; la célula caliciforme en reposo, o la que ha vaciado ya toda su secreción, está casi desprovista de gránulos secretorios, pero, al igual que las otras, posee su borde apical, estriado provisto de microvellosidades (135). Cuando la célula caliciforme comienza su ciclo secretor, se acumulan los gránulos en la región del aparato de Golgi, aumentan de tamaño y terminan formando un conglomerado de gotitas de mucina que hincha la célula dándole su aspecto característico. Al ser impulsadas hacia la periferie las estructuras internas de la célula, las gotitas de mucina se fusionan y constituyen masas mayores. Gradualmente, las microvellosidades se acortan a medida que las superficies apical y laterales de la célula se expanden, y finalmente, la primera se rompe liberando el contenido celular en la luz intestinal.

Es probable que sean varias las funciones de este moco en el interior del intestino delgado, pero su relación con el epitelio es tan incierta como su ciclo vital. MOE (136) cree que la célula caliciforme realiza un solo ciclo secretor; este desconocimiento se hace extensivo a los factores implicados en la regulación del ciclo secretor de la mencionada célula, a su origen y, aun, si su secreción es un mero lubricante de la superficie del intestino o constituye un elemento primariamente protector. SHEEHY (137) cree que la célula caliciforme podría

derivar de la epitelial cilíndrica, aunque no aporta razonamientos ni datos concluyentes.

En la base de las vellosidades y en el espesor de la lámina propia se encuentran las criptas de Galeazzi y Lieberkúnn, que están rodeadas y mantenidas en cohesión por una red de tejido conectivo. El aspecto de las células epiteliales que recubren las criptas es similar al de las que tapizan las vellosidades, pero PALADE (138) afirma que la célula indiferenciada de las criptas posee una morfología propia cuando se la observa al microscopio electrónico. Son numerosas las mitosis que se pueden apreciar en estas células, fenómeno que se presenta especialmente claro en preparaciones teñidas con hematoxilina férrica. Dichas mitosis, aunque son mas frecuentes en las criptas es posible que no se limiten solo a este area. ASTALDI (139) las encuentra, ocasionalmente, en las células epiteliales que recubren las vellosidades. Otros autores han llegado a la conclusión de que el proceso de proliferación es necesario y exclusivamente función de las criptas (140).

Entre las células epiteliales del intestino delgado, se hallan las enterocromacines, de KULTSCHITZKY y las de PANETH. Las primeras son argentafines, es decir, que se tiñen con la plata al reducir la plata amoniaca a la forma metálica. Estas células se encuentran a todo lo largo del tracto gastrointestinal. pero es mas comun hallarlas entre las criptas o entre las células epiteliales que tapizan las vellosidades; sus gránulos, que están localizados en el polo basal de la célula, son mucho mas finos si los comparamos con las granulaciones, mucho mas gruesas, de las células de PANETH. Se ha demostrado que las células de KULTSCHITZKY contienen serotonina, que se encontraría dentro de los gránulos. Se supone que de estas células se originan los tumores carcinoides (141). Las células de PANETH se si-

tuan en cantidad limitada en el fondo de las criptas, y sus grandes gránulos secretorios están en la mitad apical de la célula. Dichos gránulos contienen polisacáridos, aminoácidos y proteínas, además de un material no identificado; se ha sugerido que su misión sería la de proporcionar energía suficiente a las células de la cripta y a las del epitelio, y su ausencia puede producir un epitelio anormal, con disminución de su actividad mitótica. Sin embargo, su verdadera función es aun desconocida (126).

En la lámina propia pueden observarse unas células con núcleo excéntrico y que contienen inclusiones eosinófilas de forma esférica en su citoplasma; son el llamado "leucocito globular". Son móviles y atraviesan la mucosa intestinal en su camino hacia la luz. Se ha sostenido que son de origen leucocitario, pero ASTALDI (139) cree que probablemente sean de origen mesenquimático (histiocito linfoide), originadas en la lámina propia y que emigran luego hacia la luz del tubo intestinal.

La lámina propia, en condiciones normales, se halla infiltrada por células plasmáticas, histiocitos macrófagos, eosinófilos y linfocitos.

METODICA DE ESTUDIO DE LA BIOPSIA INTESTINAL.-

- 1.- Obtención de la pieza mediante la cápsula adecuada, previa localización radiológica.
- 2.- Proceso que sigue el fragmento obtenido:
 - 2.1.- Observación al microscopio de disección, estando la pieza inmersa en suero salino isotónico.
 - 2.2.- Orientación de la muestra obtenida, para poder obtener cortes adecuados.
 - 2.3.- Cortar la pieza según el eje axial de la vellosidad.
 - 2.4.- Debe cortarse y estudiarse la totalidad de la muestra obtenida.

3.- Estudio al microscopio de luz.

- 3.1.- Seguridad de que no existen cortes oblicuos y, si los hay, valorarlos adecuadamente.
- 3.2.- Asegurar la existencia de muscularis mucosae.
- 3.3.- Comprobar la relación entre la altura de la vellosidad y la profundidad de las criptas que debe ser de 3/1 aproximadamente.
- 3.4.- Estudiar la morfología de las células epiteliales de revestimiento que deben ser cilíndricas, con sus núcleos ovalados, a la misma altura aproximadamente y debe verse el límite entre ellas.
- 3.5.- Es necesario asegurar la indemnidad del ribete en cepillo.
- 3.6.- Estudiar la relación numérica entre las células caliciformes y las epiteliales, que debe ser, aproximadamente, de una por cada 5-8.
- 3.7.- Indemnidad de la membrana basal.
- 3.8.- Comprobar la presencia de células de PANETH.
- 3.9.- En la lámina propia deben evaluarse los siguientes parámetros:

I.- Vasos sanguíneos (congestión)

II.- Vasos linfáticos (dilatación)

III:- Infiltrado celular

- Células plasmáticas (ausentes en el recién nacido)
- Histiocitos
- Eosinófilos
- ⊗ Linfocitos
- Mastocitos

Un infiltrado en la lámina propia en el que predominen polinucleares y linfocitos, y que se acompañe de edemas, congestión

ti6n vascular y necrosis, podr6 ser catalogado de agudo. En cambio, un marcado aumento de linfocitos y c6lulas plasm6ticas apoyara mas la posibilidad de una inflamaci6n cr6nica. Sin embargo, es dif6cil ser rotundo en la valoraci6n de estos par6metros en el intestino, ya que no sigue, de manera cl6sica, los conceptos de inflamaci6n..

Hemos realizado un estudio de la biopsia intestinal en una poblaci6n general de cirr6ticos hospitalizados; este estudio forma parte de nuestra tesis doctoral.

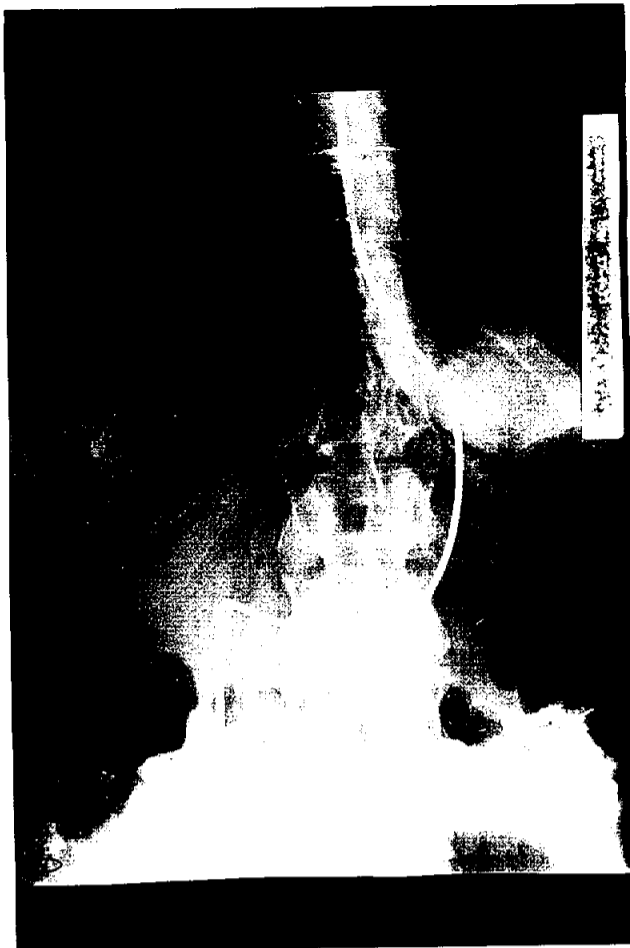
ASTALDI y STROSSELLI en 1960 (142) describieron unas alteraciones, en el intestino de estos enfermos a las que consideraron responsables del s6ndrome malabsortivo que presentaban; consist6an en la presencia de despegamientos de la membrana basal del epitelio, dilataciones vasculares a nivel de los vasos de la l6mina propia y aumento del infiltrado linfocitario..

En los casos que hemos estudiados y de los que mostraremos algunos ejemplos, hemos hallado las siguientes alteraciones:

- a) La altura de las vellosidades ha sido normal en el 94,7% de los casos; en los 3 casos hemos encontrado vellosidades ensanchadas o adoptando la llamada forma "en porra".
- b) Despegamiento de la membrana basal, lo hemos hallado en el 68,4% de los casos estudiados.
- c) Dilataciones del linf6tico central de la vellosidad estaban presentes en el 42,1% de los caaos.
- d) Con mucha frecuencia hemos observado hematies extravasados en el extremo de la vellosidad y, en algunas ocasiones, situada entre las c6lulas del epitelio y la membrana basal (47,3%).
- e) El infiltrado celular fu6 normal en el 31,5% de los casos y en el resto estaba discretamente aumentado predominando las c6lulas plasm6ticas sobre los lonfocitos.

Debido a estos hallazgos estamos realizando el estudio de un grupo control, para descartar la posibilidad, muy verosímil, de que estas alteraciones puedan deberse a la acción aspirativa que la mucosa intestinal recibe al realizar el vacío en la cápsula para obtener la biopsia. Al mismo tiempo estamos realizando un estudio con microscopía electrónica de las biopsias de los enfermos cirróticos y de los individuos del grupo control que mas adelante expondremos.

Cápsula de Watson para
biopsia intestinal en
tránsito por el duodeno.

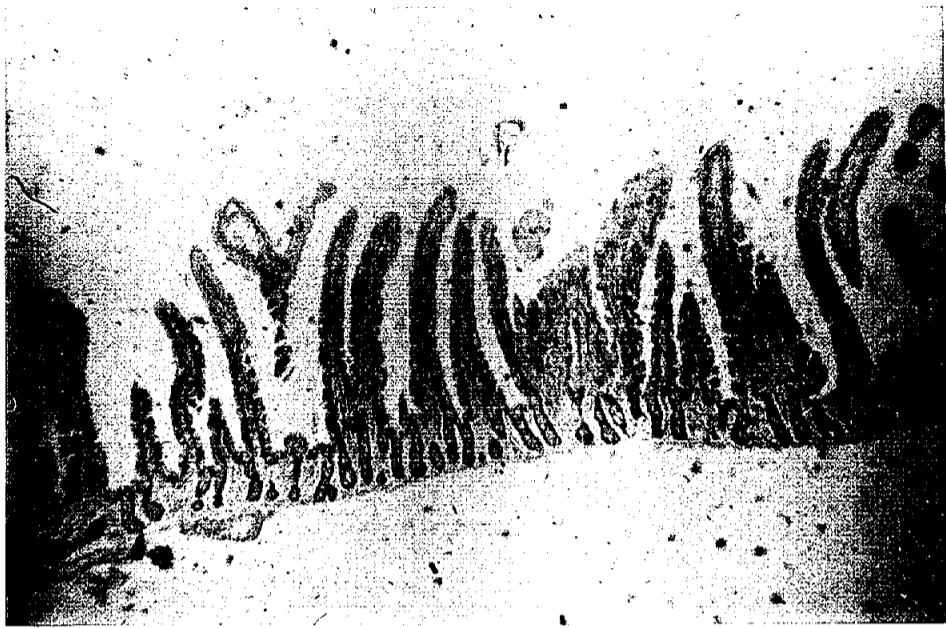


Cápsula de Watson para
biopsia intestinal situ-
ada en la primera porción
del yeyuno.

Aspecto de la mucosa
intestinal por el micros-
copio de disección.
(Pequeño aumento)



Pueden observarse las
vellosidades en forma
de dedo o de hoja.



Vellosidades intestinales de características normales.



Vellosidades intestinales normales. Tinción con PAS. Se observan teñidos el ribete en cepillo y las células caliciformes.

Fotografía superior.-

Detalle de una vellosidad intestinal (Tinción PAS). Células epiteliales cilíndricas, núcleos basales, células caliciformes, ribete en cepillo.



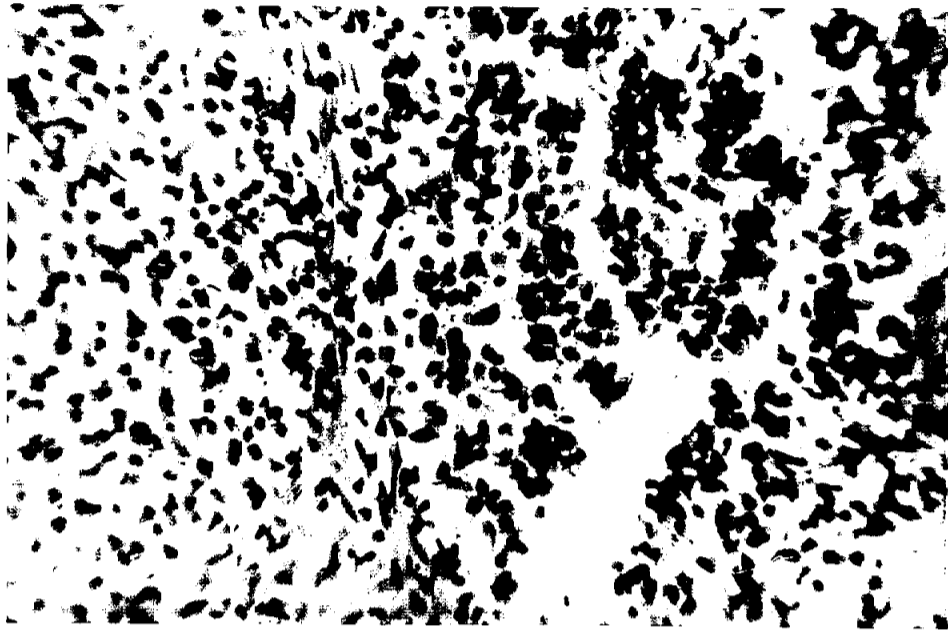
Fotografía inferior.-

Detalle del fondo de una cripta. Células de Paneth, con su citoplasma granuloso.

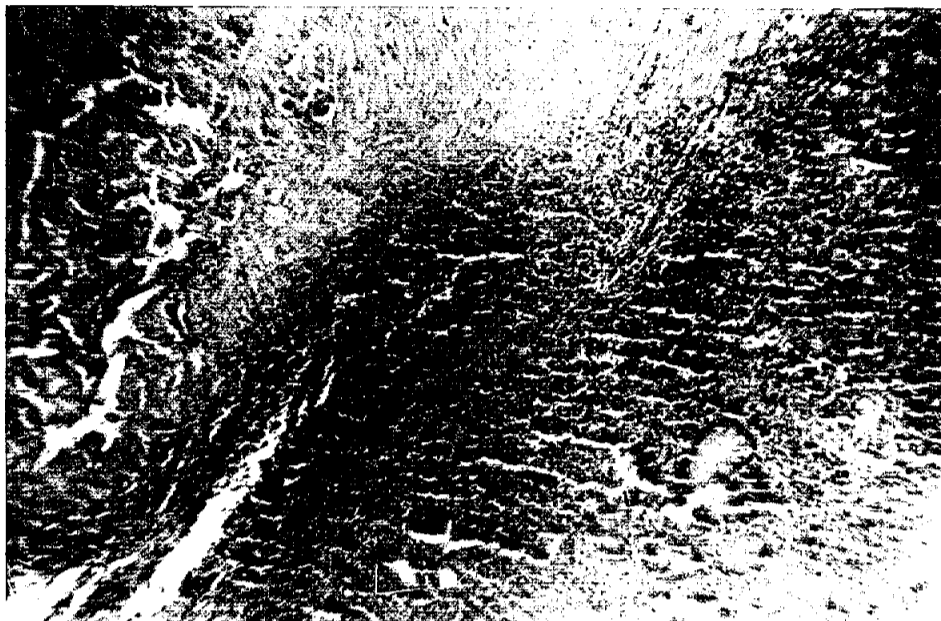




Microfotografía en un caso de Linfoma Intestinal Primitivo Difuso, en una mujer de 47 años. Se observa la disminución de altura de la vellosidad. La lámina propia está densamente infiltrada, siendo rechazadas las criptas por este infiltrado que, a su vez, rebasa la muscularis mucosae.



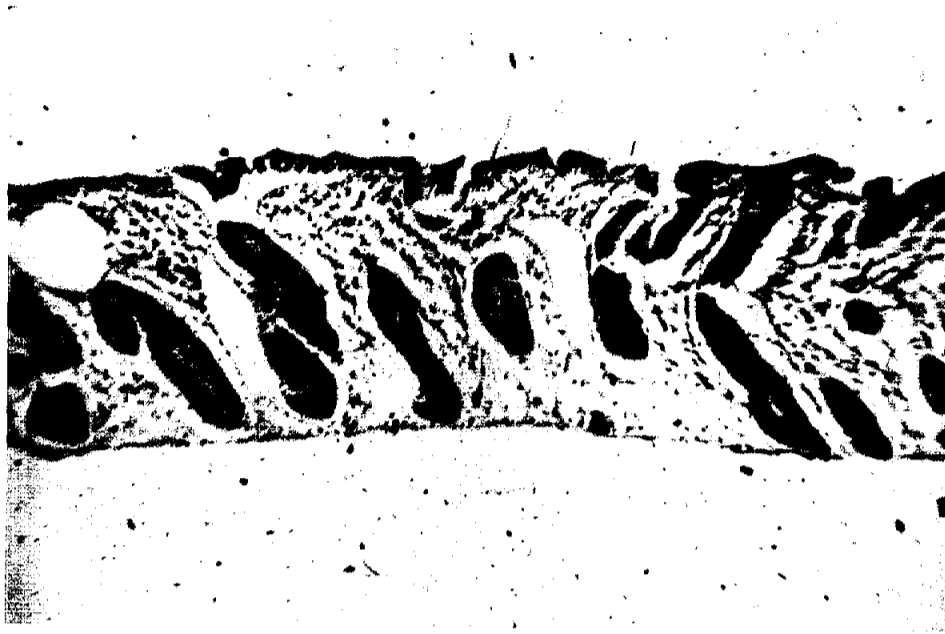
Detalle del infiltrado linfocitario
del mismo caso de Linfoma Intestinal
Primitivo Difuso. Se observa como re-
basa la muscularis mucosae.



Microfotografía de un caso de
Linfoma Intestinal Primitivo
Difuso, en una niña de 14 años.
Se observa que el infiltrado
rechaza las criptas y rebasa
la muscularis mucosae.



Enfermedad Celiaca. Enfermo de 18 años.
Se observa la importante atrofia de las
vellosidades.



Linfangiectasia intestinal, en un niño de 3 años. Puede observarse junto a la gran dilatación de los linfáticos, una atrofia subtotal de las vellosidades.



Biopsia intestinal de un enfermo con cirrosis hepática. Se observan dilataciones en el extremo apical de las vellosidades que pueden corresponder al linfático central. En la lámina propia, junto a la muscularis mucosae, gran dilatación vascular.



Biopsia intestinal de un enfermo cirrótico. En el extremo de la vellosidad más ancha, se observa una gran dilatación del linfático central. Así mismo en alguna de ellas puede verse el trayecto del mismo. En la punta de alguna vellosidad vemos un despegamiento de la membrana basal del epitelio.



Biopsia intestinal de una enferma afecta de cirrosis hepática alcohólica. La altura de las vellosidades es normal. En sus extremos se observan despegamientos de la membrana basal del epitelio y extravasaciones hemáticas.



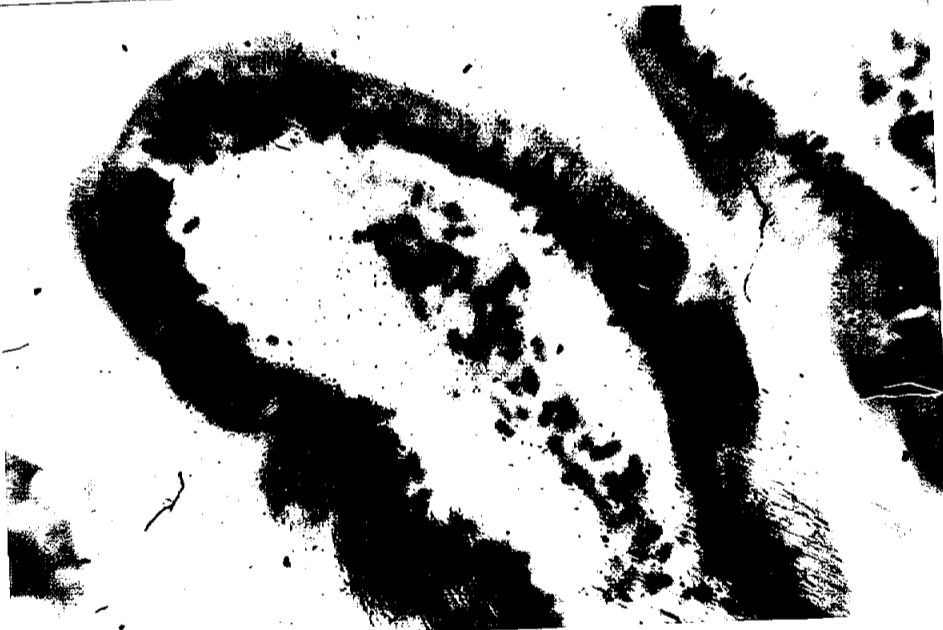
En ambas fotografías podemos observar despegamientos de la membrana basal del epitelio y dilataciones del linfático central. La altura de las vellosidades es normal.

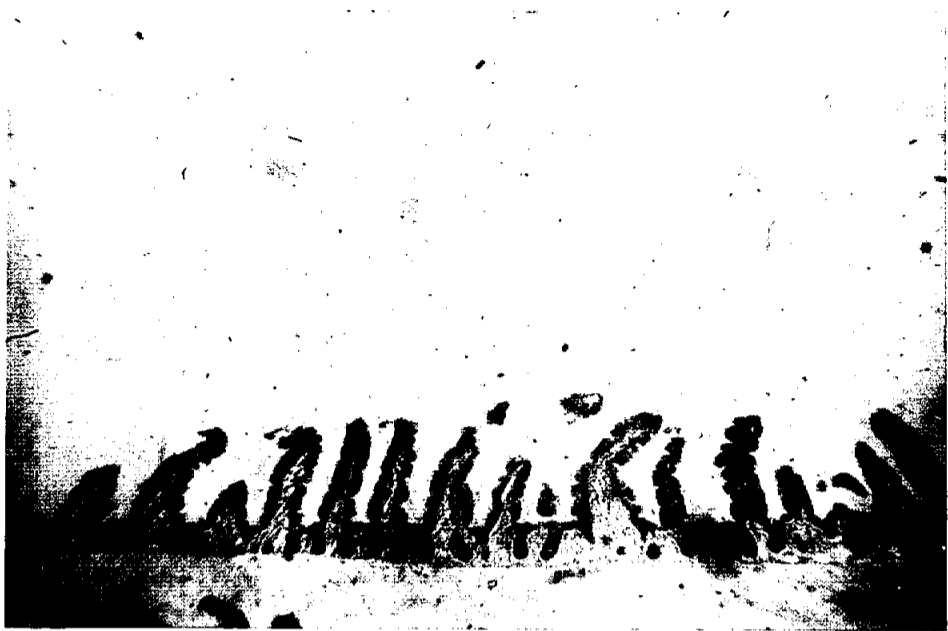


Fotografía superior.-
Células epiteliales nor-
males y lámina propia con
infiltrado normal, en una
caso de cirrosis hepática.



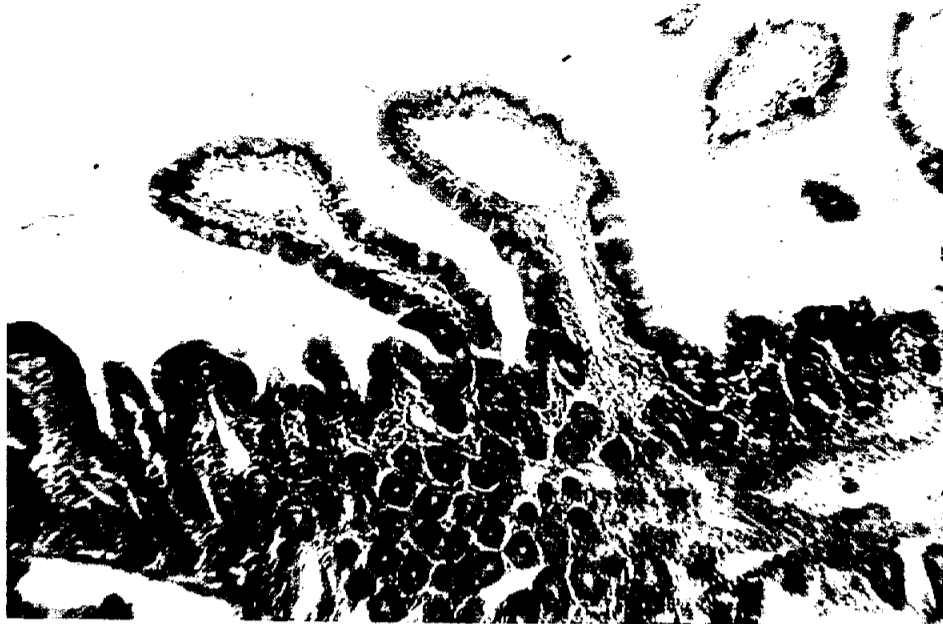
Fotografía inferior.-
Detalle del despegamiento
de la membrana basal del
epitelio. Se observan
algunas células epiteliales
alteradas, mientras que
otras son totalmente nor-
males.





Junto a una biopsia intestinal de aspecto normal de un enfermo c rrtico, otra presenta vellosidades engrosadas con claras dilataciones del linfático central.





Evidentes dilataciones del linfático central de la vellosidad. (Fotografía superior). Hematíes extravasados en el extremo de una vellosidad intestinal, ambos en enfermos con cirrosis hepática.



ESTUDIO DE LA MUCOSA DEL INTESTINO DELGADO AL MICROSCOPIO ELECTRONICO
EN LA CIRROSIS HEPATICA.-

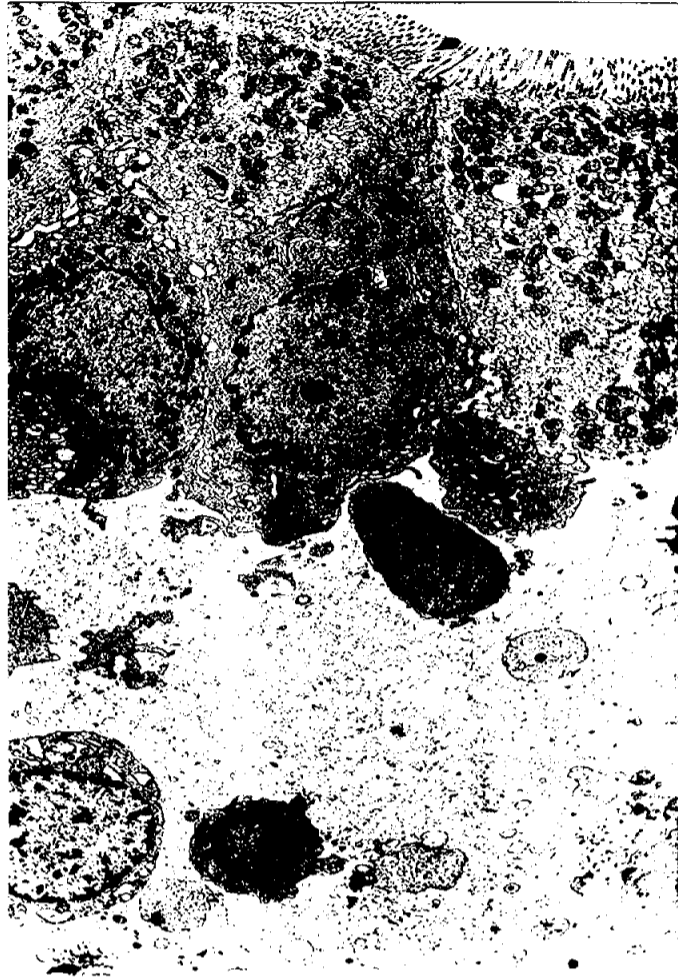
En este apartado se muestran algunos ejemplos del estudio de las alteraciones halladas en la mucosa del intestino delgado en pacientes afectos de cirrosis hepática que se exponen en el apartado anterior, y forma parte del estudio de la biopsia intestinal en adultos sanos y en cirróticos que estamos realizando.

Una vez obtenida la muestra se fija en Glutaldehído al 2% en tampón fosfato pH 7,4, durante 2 horas. Transcurrido este tiempo se lava en tampón fosfato-sacarosa. Postfijación en Tetroxido de Osmio en solución de Dalton. Deshidratación en acetonas e inclusión en Araldit.

Se realizan cortes semifinos y ultrafinos en un ultramicrotomo Reichert OM-3.

El contraste de las rejillas se realiza en Acetato de Urano y Citrato de plomo, según la técnica de Reynolds.

La observación de las preparaciones se ha realizado en un microscopio electrónico HITACHI HU-12 a un voltaje de aceleración de 75 kilovoltios.



MICROSCOPIA ELECTRONICA DE LA MUCOSA INTESTINAL.-

CIRROSIS HEPATICA.-

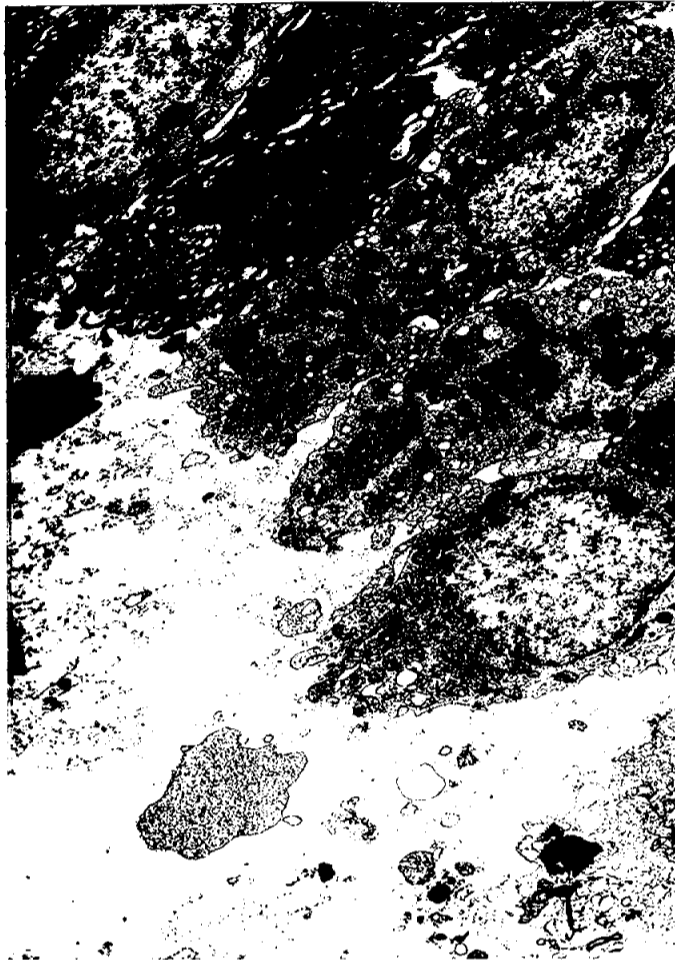
Epitelio cilíndrico de la mucosa intestinal con el microvilli bien conservado y con dilatación de las cisternas del retículo endoplásmico. Abundantes mitocóndrias. Esta banda epitelial limita directamente con el espacio extracelular, sin interposición de la membrana basal. (3500 aumentos)



MICROSCOPIA ELECTRONICA DE LA MUCOSA INTESTINAL.-

CIRROSIS HEPATICA.-

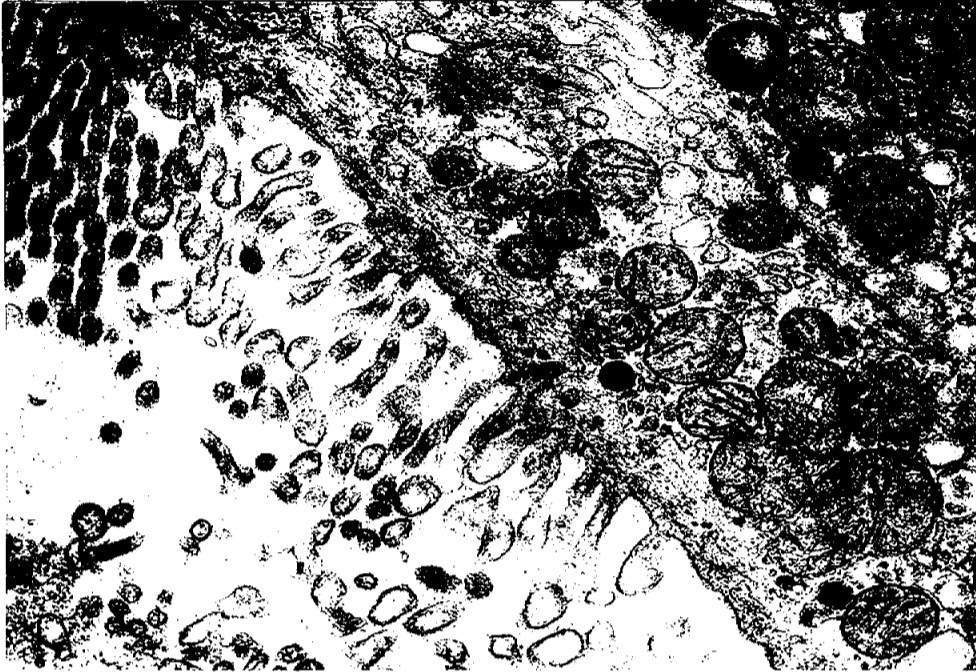
En esta banda de células epiteliales cilíndricas del intestino delgado se observan cambios degenerativos tales como: marcada dilatación del retículo endoplásmico, desprendimiento nuclear y una célula mas oscura con abundantes lisosomas y cuerpos residuales en vias de necrobiosis. Microvilli conservado. (3.500 aumentos)



MICROSCOPIA ELECTRONICA DE LA MUCOSA INTESTINAL.-

CIRROSIS HEPATICA.-

Detalle del límite basal, "desnudo", de las células epiteliales de la mucosa intestinal. Se observan los mismos cambios que en la fotografía anterior. (4000 aumentos)



MICROSCOPIA ELECTRONICA DE LA MUCOSA INTESTINAL.-

CIRROSIS HEPATICA.-

Dilatación y pérdida de las unidades fundamentales del microvilli de la célula cilíndrica del epitelio intestinal. (12000 aumentos)

BIBLIOGRAFIA

- 1 .- Greaves J.D.,Schmidt C.L.A.:On the absorption of carotene and Vitamin A in choledochocolonostomized rats.
Am.J.Physiol.1935,111:492
- 2 .- Frazer A.C.,Steward H.C.:Ultramicroscopic particles in normal human blood.
J.Phisiol.:1937,90:18
- 3 .- Klaber J.A.,Atwood W.H.Jr.,Schilling R.F.:Serum turbidity following a fat meal as a test of malabsorption.
J.Lab.Clin.Med.1959,54:427
- 4 .- Van de Kamer J.H.,Ten Bokkel Huinink H.,Weigers H.A.:Rapid method for determination of fat in faeces.
J.Biol.Chem.:1949,177:347
- 5 .- Stanley M.M.,Thannhaver S.J.:Absorption and disposition of administren I-131,labeled neutral fat in man.
J.Lab.Clin.Med.,1949,34:1634
- 6 .- Wollaeger E.E.,Comofort M.W.,Osterberg A.E.:Total solids fat and nitrogen in the feces: III. A study of normal persons taking a moderate amount of fat;comparison with results obtained with normal persons taking a test diet.
Gastroenterology 1947,9:272
- 7 .- Baylin G.J.,Sanders A.B.,Isley J.K.,Shingleton W.W.,Hymans J.C.,Johnston D.H.,Ruffin J.M.: I-131 blood levels correlated with gastric emptying determined radiographically.
Proc.Soc.Exper.Biol.Med.,1955,89:51-54.(citado por Seehy)
- 8 .- Beres P.,Wenger J.,Kirsner J.B.:Use of I-131 Triolein in the study of absorptive disorders in man.
Gastroenterology,1957,32:1

- 9 .- Isley J.K., Sanders A.P., Baylin G.J., Sharge K.W., Hymans J., Ruffin J.M., Shingleton W.W., Wilson J.R.Jr.: Use of I-131, oleic acid in study gastrointestinal function.
Proc.Soc.Exper.Biol.Med., 1957, 94:807 (citado por Seehy)
- 10.- Ruffin J.M., Keever I.C., Cheers C., Shingleton W.W., Baylin G.J., Isley J.K., Sanders A.B.: Further observations in the use of I-131 labeled lipids in the study of disease of the gastrointestinal tract.
Gastroenterology, 1958, 34:484.
- 11.- Crane J.H.: Intestinal absorption of sugars.
Physiol.Rev. 1960, 40:789.
- 12.- Santini R.Jr., Pérez-Santiago E., Martínez de Jesús J., Butterworth C.E.Jr.; Evidence of increased intestinal absorption of molecular sucrose in sprue.
Amer.J.Dig.Dis., 1957, 2:663
- 13.- Santini R.Jr., Aviles J., Seehy T.W.: Sucrase activity in the intestinal mucosa of patients with sprue and normal subjects.
Am.J.Dig.Dis., 1960, 5:1059.
- 14.- Christiansen P.A., Kirsner J.B., Ablanza J.: D-xylose absorption and its use in the diagnosis of malabsorption states.
Am.J.Med., 1959, 27:443
- 15.- Benson J.A.Jr., Culver P.J., Ragland S., Jones C.M., Drummey E. P., Bougas E.: D-xylose absorption test in malabsorption syndromes.
New.Engl.J.Med., 1957, 256:335
- 16.- Anfanger H., Heavenrich R.M.: Aminoacid tolerance tests in children.
Am.J.Dis.Child., 1959, 77:425

- 17.- Gordon R.S.Jr.:Exudative enteropathy:Abnormal permeability of the gastrointestinal tract demonstrable with labeled polyvinylpyrrolidone.
Lancet.1959;1:325
- 18.- Jeejeebhoy S.,Schwartz M.:Hypoalbuminemia in gastric carcinoma.
Gastroenterology,1960,38:769.
- 19.- Waldman T.A.:Gastrointestinal protein loss demonstrated by Cr-51 labeled albumin. (citado por Frazer)
- 20.- Crane R.K.:Enzymes and malabsorption:A concept of brush border membrane disease.:
Gastroenterology,1966,50:254-262
- 21.- Crane R.K.:Annual Review of Med.Citado por Truelove en:
Diseases of the digestive system. 2ª Ed.1972.Blakwell Scientific Publications.Oxford,London,Edinburgh,Melbourne.
- 22.- Rosenberg I.H.,Streiff R.R.:Intestinal Folic Acid Conjugase.
Gastroenterology,1967,52:1117 (abstracts)
- 23.- Cooke A.R.,Grossman M.I.:Studies an the secretion and motility of Brunner's glands pouches.
Gastroenterology,1966,51:506-514
- 24.- Love J.W.,Wolder A.I.,Bingham C.:Effect of pure and synthetic secretin on Bruner's gland secretion in dogs.
Nature,1968,219:731-732
- 25.- Gardner J.D.,Peskin G.W.,Cerde J.J.:Alterations of in vitro fluid and electrolyte absorption by gastrointestinal hormone.
Am.J.Surg.,1967,113:57-64

- 26.- Moritz M., Finkelstein G., Meshkinpour H., Fingerut J., Lorber S.H.: Effect of secretin and cholecystokinin of the transport of electrolyte and water in human jejunum. *Gastroenterology*, 1973, 64, 1:76-80.
- 27.- Bynum T.E., Hartsuck J., Jacobson E.D.: Gastric Ulcer. *Gastroenterology* 1972, 62, 5:1052-1060.
- 28.- Rhodes J., Barnardo D.E., Phillips S.F., Ruvelstad R.A., Hofmann A.F.: Increased reflux of bile into the stomach in patients with gastric ulcer. *Gastroenterology* 1969, 57:241-252.
- 29.- Mc.Cutcheon, A.D.: A fresh approach to the pathogenesis of pancreatitis. *Gut*, 1968, 9:296-310.
- 30.- Burkitt D.P.: Epidemiology of cancer of the colon and rectum. *Cancer* 1971, 28:3-13.
- 31.- Theodor E., Spritz N., Sleisenger M.H.: Metabolism of intravenously injected isotopic cholic acid in viral hepatitis. *Gastroenterology* 1968, 55:183-190.
- 32.- Heaton K.W.: Bile salts in health and disease; pags. 173-176. Ed. Churchill Livingstone. Edinburgh and London 1972
- 33.- Tomasi T.B. Jr., Bienestock J.: Secretory immunoglobulins. *Advenc. Immunol.*, 1968, 9:1-96.
- 34.- Tomasi T.B. Jr.: Structure and function of mucosal antibodies. *Ann. Rev. Med.* 1970, 21:281-298.
- 35.- Waldmann T.A., Wochner R.D., Strober W.: The role of the gastrointestinal tract in plasma protein metabolism. Studies with Cr-51-albumin. *Amer. J. Med.*, 1969, 46:275-285.

36.- Waldmann T.A.:Protein-losing enteropathy.
Gastroenterology 1966,50:422-443

37.- Strober W.,Wochner R.D.,Carbone P.P.,Waldmann T.A.:Intestinal lymphangiectasia:a protein-losing enteropathy with hypogammaglobulinemia,lymphocytopenia and impaired homograft rejection.
J.Clin.Invest.1967,46:1643-1656.

38.- Waldmann T.A.,Steinfeld J.L.,Dutcher T.F.,Davidson J.D.,Gordon R.S.Jr.:The role of the gastrointestinal system in "idiopathic hypoproteinemia".
Gastroenterology 1961,41:197-

39.- Laster L.,Waldmann T.A.,Fenster L.F.,Singleton J.W.:Albumin metabolism in patients with Whipple's disease.
J.Clin.Invest,1966,45:637-644.

40.- Riva G.,Barandun S.,Koblet H.,Nussle D.,Witschi H.P.:Protein-verlierende gastroenteropathien:Klinik und pathophysiologie. Protides biol.fluids.,1964,11:168-192.(citado por Jones E.)

41.- Vesin P.,Roberti A.,Bismuth V.,Desprez-Curely J.P.,Disbucquois G.,Biguie R.:Protein and calcium losing enteropathy with lymphatic fistula into the small intestine.
Proceedings of the Third Symposium on the Physiology and Pathophysiology of plasma protein metabolism.pag.179-185.
Huber.Berne.(citado por Jones E.)

42.- Jimenez Diaz C.,Linazasoro J.M.,Lopez Garcia E.,Ramirez Guedes J.,:Sobre la hipoalbuminemia en las pericarditis: Mecanismo y repercusiones.Estudios con proteinas marcadas de la rapidez de pérdidas y renovación de la albúmina del plasma.
Rev.Clin.Esp.,1960,77:252-256

- 43.- Strober W.,Cohen L.S.,Waldmann T.A.,Braunwald E.:Tricuspid regurgitation.A newly recognized cause of protein-losing enteropathy,limphocytopenia and immunologic deficiency.
Am.J.Med.1968,44:842-850
- 44.- Steinfeld J.L.,Davidson J.D.,Gordon R.S.Jr.,Greene F.E.:
The machanism of hypoprotrinema in patients with regional enteritis and ulcerative colitis.
Amer.J.Med.1960,29:405-415
- 45.- Jarnum S.,Schwartz M.:Hypoalbuminemia in gastric carcinoma.
Gastroenterology 1960,38:769-776.
- 46.- Barandun S.,Aebersold J.,Bianchi R.,Kluthe R.,von Muralt G.,
Poretti G.,Riva G.:"Proteindiarrhöe".Zugleich ein Beitrag zur Frage der sogenannten essentialen Hypoproteinämie.
Schweiz.Med.Wschr.1960,90:1458-1467.
- 47.-Vesin P.,Troupel S.,Acar J.,Renault H.,Desbuquois G.,Cattan R.
Entéropathie avec pete de protéines et stéatorrhée.Etude par le PVP-I-131 et la trioleine-I-131.Action du regime sans gluten.
Bull.Soc.Med.Hop.(Paris).,1960,76:261-271.
- 48.- Waldmann T.A.,Laster L.:Abnormalities of albumin metabolism in patients with hypogammaglobulinemia.
J.Clin.Invest.,1964,43:1025-1035.
- 49.- Jarnum S.,Jensen K.B.:Plasma protein turnover (albumin,transferrin,IgA,IgM) in Menetrier's disease (giant hypertrophic gastritis):evidence of non-selective protein loss.
Gut,1972,13:128-137.

- 50.- Jones E.A., Young W.B., Morson B.C., Dawson A.M.: A study of six patients with hypertrophy of the gastric mucosa, with particular reference to albumin metabolism.
Gut, 1972, 13:270-277.
- 51.- Citrin Y., Sterling K., Halsted J.A.: Mechanism of hypoproteinemia associated with giant hypertrophy of gastric mucosa.
New.Engl.J.Med., 1957, 257:906-912.
- 52.- Waldmann T.A., Wochner R.D., Laster L., Gordon R.S.Jr.: Allergic gastroenteropathy. A cause of excessive gastrointestinal protein loss.
New.Engl.J.Med., 1967, 276:761-769.
- 53.- Seligmann M., Danon F., Hurez D., Mihaesco E., Preud'homme J.L.: Alpha-chain disease: a new immunoglobulin abnormality.
Science 1968, 162:1396-1397.
- 54.- Seligmann M., Rambaud J.C.: IgA abnormalities in abdominal lymphoma (alpha-chain-disease)
Israel J.Med.Sci., 1969, 5:151-157
- 55.- Booth C.C.: Enterocyte in coeliac disease.
Brit.Med.J., 1970, 3:725-731
- 56.- Hobbs J.R.: Immunoglobulins and malabsorption.
Proc.Roy.Soc.Med., 1969, 62:982-985
- 57.- Thomson R.A., Asquith P., Cooke W.T.: Secretory IgA in the serum
Lancet 1969, 2:517-519.
- 58.- Hobbs J.R., Hepner G.W.: Deficiency of gamma-M-globulin in coeliac disease.
Lancet, 1968, 1:217-220
- 59.- Asquith P., Thompson R.A., Cooke W.T.: Serum immunoglobulins in adult coeliac disease.
Lancet 1969, 2:129-131.

- 138
- 60.- Blencher T.E., Ajdukiewicz A.R., Mc.Carthy C.F., Read A.E.:
Serum immunoglobulins and lymphocyte transformation studies in coeliac disease.
Gut 1969,10:57-62.
 - 61.- Soltoft J., Weke B.: Immunoglobulins in the serum and jejunal
mucosal biopsies in non-tropical sprue.
Acta.Med. Scand., 1969,186:459-464
 - 62.- Jones A.E.: Progress report. Immunoglobulins and the gut.
Gut 1972,13:825-835.
 - 63.- Creamer B.: Variations in small intestinal villous shape
and mucosal dynamics.
Brit.Med.J., 1964,2:1371-1973.
 - 64.- Dawson A.M.: A review of fat transport. En: Transport across the
intestine (a GLAXO symposium) pag.210-217. Editado por W.L.
Burlend y Pamela D.Samuel. Churchill Livingstone. Edinburgh
London 1972
 - 65.- Cohen M., Morgan R., Hormann A.: Lypolytic activity of human
gastric and duodenal juice against medium and long chain
triglycerides.
Gastroenterology 1971,60:1.
 - 66.- Morrison W.R.: Milk lipids. En: "Topics in lipid chemistry"
Ed. F.D.Gunstone. Logos pag.51. 1970
 - 67.- Borgstrom B.: Studies of intestinal digestion and absorption
in the human.
J.Clin.Invest., 1960,39:809
 - 68.- Borgstrom B., Lundh G., Hofmann A.: The site of absorption of
conjugate bile salts in man.
Gastroenterology, 1963,45:229

- 69.- Hofmann A.F.:The intraluminal phase of fat digestion in man:the lipid content of the micellar and oral phases of intestinal content obtained during fat digestion and absorption.
J.Clin.Invest.,1964,43:274
- 70.- Guy-Grand B.,Bour H.:Enzymes intestinaux de la digestion des graises.
Sem.Hop.(Paris),1968,26 oct,,pag.2678.
- 71.- Johnston J.M.:An in vitro study of fatty acid absorption.
Proc.Soc.Exp.Biol.(N.Y.),1958,98:836
- 72.- Johnston J.M.:The absorption of fatty acids by the isolated intestine.
J.Biol.Chem.1959,234:1065
- 73.-Besnuelle P.: Citado por Johnston J.M. en Intestinal absorption of fats:Lipid Metabolism. pag.3.
Ed.Florkin y Stotz. Elsevier.Amsterdam 1970
- 74.- Senior J.R.,Isselbacher K.J.:Demonstration of an intestinal monoglyceride lipase:An enzyme with a possible role in the intracellular completion of fat digestion.
J.Clin.Invest.1963,42:167
- 75.- Mattson F.H.,Volpenheim R.A.:The digestion and absorption of triglycerides.
J.Biol.Chem.,1964,239:2772
- 76.- Groenberg A.,Norton J.:Absorption of medium and long chain triglycerides:Factors influencing their hydrolysis and transport.
J.Clin.Invest.,1966,45:217

- 77.- Shapiro B.:Biochemistry of triglycerides.Lipids and Lipidases.
Ed. Sheffler pag.58. Springer-Verlog;Berlin 1967.
- 78.- Mc. Kay D.G.,Kaunitz H.,Csavossy I.,Jonhson R.E.:Electron
microscope studies of the absorption of lipids I:Oxidized
cod liver oil.
Metabolism 1967.16:111.
- 79.- Mc. Kay D.G.,Kaunätz H.,Csavossy I.,Jonhson R.E.:Electron
microscope studies of the absorption of lipids II:Medium
chain saturated triglycerides.
Metabolism 1967,16:127.
- 80.- Mc. Kay D.G.,Kaunitz H.,Csavossy I.,Jonhson R.E.:Electron
microscope studies of the absorption of lipids III:Long
chain saturated triglycerides.
Metabolism 1967,16:137
- 81.- Johnston J.M.,Borstrom B.:Intestinal uptake of micellar solu-
tions of fatty acids and monoglycerides.
Acta. Chem. Scand.,1963,17:905
- 82.- Paris R.,Clement G.,:Citados por Marinette en:Biosyntesis of
triglycerides. Lipid Metabolism.Comprehensive biochemist.
Ed. Florkin y Stotz,vol.12,pag.138.Elsvier. Amsterdam 1970
- 83.- Wood P., Shoda R.,Kinsell L.W.:Dietary regulation of choles-
terol metabolism.
Lancet 1966,2:604.
- 84.- Wilson J.D.,Lindsey C.A.:Studies on the influence of dietary
cholesterol on metabolism in the isotopic steady state in man.
J. Clin.Invet.,1965,44,1805
- 85.- Borgstrom B.,Radner S.,Werner B.:Lymphatic transport of choles-
terol in the human being effect of dietary cholesterol.
Scand.J.Clin.Lab.Invest.,1970,26:227

- 86.- Sobel C.:Determinación de lípidos fecales.Citado por Henry en:
Quimica clinica: bases y principios.Ed.JIMS,pag.1074, Barce-
lona 1969.
- 87.- Pascual Mostaza C.,Corominas Vilardell A.,Pou Clavé L.,Gassiot
Mata M.,Gassull Duro M.A.:Lípidos fecales I: Métodos de valo-
ración.
Med.Clin. (pendiente de publicación).
- 88.- Saunders D.R.:Medium chain triglycerides an Van de Kamer
method.
Gastroenterology 1967,52:135.
- 89.- Gassull Duro M.A.,Pascual Mostaza C.,Vilar Bonet J.,Corominas
Vilardell A.,Garcia Puges A.M.,Guarner Aguilar M.L.,Bruguera
Cortada M.:Lípidos fecales II:Estudio en adultos normales y
en cirroticos.
Med.Clin. (pendiente de publicación)
- 90.- Eggstein W.,Kreutz F.M.:Eine neue Bestimmung der Neutralfette
im Blutserum und Gewe.
Klin. Wschr.,1966,44:262
- 91.- Watson W.C.,Gordon R.S.Jr.:Studies on the digestion,absorption
and metabolism of castor oil.
Biochem.Pharmacol,1962,11:229
- 92.- Watson W.C.,Gordon R.S.Jr.,Karmen A.:The absorption and excre-
tion of castor oil in man.
J.Pharm.Pharmacol.1963,15:183.
- 93.- Diamond J.M.,Wright E.M.:Molecular forces governing non-electro-
lyte permeation through cell membranes.
Proc.Roy.Soc.Biol.,1969,172:273.
- 94.- Soong C.S.,Thompson J.B.,Poley J.R.,Hess D.R.:Hydroxy fatty
acids in human diarrhea.
Gastroenterology,1972,63,5:748.

95.- Bright-Asare P., Binder H.J.: Stimulation of colonic secretion of water and electrolytes by hydroxy fatty acids.
Gastroenterology 1973,64,1:81

96.- Kim Y.S., Spritz N.: Metabolism of hydroxy fatty acids in dogs with steatorrhea secondary to experimentally produced intestinal blind loop.
J.Lip.Res.,1968,9:487.

97.- Hamilton J.D., Dyer N.H., Dawson A.M.: Assessment and significance of bacterial overgrowth in the small bowel.
Q.J.Med.,1970,39:265.

98.- Browning G.G., Mc.Kay C., Buchau K.A.: The effect of vagotomy and drainage on bowel habit and small bowel flora in the immediate postoperative period (abstr.)
Gut,1969,10:1047.

99.- Wirts W.C., Goldstein F.: Studies of the mechanism of postgastrectomy steatorrhea.
Ann.Int.Med. 1963,58:25.

100.- Goldstein F., Wirts W., Kramer S.: The relationship of afferent limb stasis and bacterial flora to the production of postgastrectomy steatorrhea.
Gastroenterology,1961,40:47.

101.- Gorbach S.L., Tabaqchalli S.: Bacteria, bile and the small bowel.
Gut,1969,10:963.

102.- Krone C.L., Theodor E, Sleisenger M.H.: Studies on the pathogenesis of malabsorption: Lipid hydrolysis and micelle formation in intestinal lumen.
Medicine,1968,47:89.

103.- Prizont R., Hersh T., Floch M.H.: Jejunal bacterial flora in chronic small bowel disease I:Celiac disease.;II: Regional enteritis.
Am.J.Clin.Nutr.,1970,23:1602.

- 104.- James A.T., Webb J., Kellock T.D.: The occurrence of unusual fatty acids in fecal lipids from human beings with normal and abnormal fat absorption.
Biochem.J., 1961, 78:333.
- 105.- Jamieson G.R.: Structure determination of fatty esters by gas liquid chromatography. En: Topics in lipid chemistry.
Ed. Gunstone F.D., pag. 104., Logos 1971
- 106.- Miwo T.K., Mikolosczyk K.L., Earle F.R., Wulf J.A.: Gas chromatographic characterization of fatty acids. Identification constants for mono and dicarboxylic methyl esters.
Anal.Chem., 1960, 32:1739
- 107.- Ackmann R.G.: Citado por Jamieson en: Structure determination of fatty esters by gas liquid chromatography, en: Topics in lipid chemistry.
Ed. Gunstone F.D., Logos pag. 126, 1971.
- 108.- Van Sande, comunicación personal, 1970.
- 109.- Kerkunt G.A.: Long chain acids from rat liver lipids; en: Experiments in physiology and biochemistry. Ed. Kerkunt.
Academic Press; vol. 4 pag. 37, 1971.
- 110.- Schlenk H., Gellerman J.L.: Citados por Stein y cols. en: Gas-liquid chromatography of fatty acids and derivatives. Lipid chromatographic analysis.
Ed. Marinetti G., Dencker M., vol I, pag. 330. New York 1967
- 111.- Stein R.A., Slawson V., Mead J.F.: Gas-liquid chromatography of fatty acids and derivatives. En: Lipid chromatographic analysis. Ed. Marinetti G., Dekker M.: Vol I, pag. 361, New York 1967.
- 112.- Metcalfe L.D., Schmitz A.A.: The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis.
Anal.Chem. 1961, 33:363.

- 113.- Metcalfe L.D., Schmitz A.A., Pelke J.R.: Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for G.C. Analysis.
Anal.Chem., 1966, 38:514.
- 114.- Mangold H.K.: I.: Isotope technique. En: Thin layer chromatographie. Ed. Stahl E., pag. 175., Springer-Verlag. Berlin 1969.
- 115.- Eklopfenstein W.: On methylation of unsaturated acids using borotrifluoridemetanol reagents.
J.Lip.Res. 1971, 12:773
- 116.- Trier J.S.: Diagnostic value of peroral biopsy of the proximal small intestine.
New.Engl.J.Med., 1971, 285, 26:1470
- 117.- Rubin C.E., Dobbins W.O.: Peroral biopsy of the small intestine: a review of its diagnostic usefulness.
Gastroenterology, 1965, 49:676.
- 118.- Hages L., Lowry R.R., Pinsky O., Jost G.: Cholesterol interference in analysis of fatty acids methyl esters.
Lipids 1971, 6:65
- 119.- Hallgren B., Sthenhagen S., Svanborg A., Svennerholm H.: Gas Chromatographic analysis of the fatty acids composition of the plasma lipids in normal and diabetics subjects.
J.Clin Invest. 1960, 39:1424.
- 120.- Branborg LL., Tankersley C.B., Gottlieb S.: Histological demonstration of mucosal invasion by Giardia Lamblia in man.
Gastroenterology 1967, 52:143.
- 121.- Brandborg LL, Golberg S.B., Breidenbach W.C.: Human coccidiosis. A possible cause of malabsorption: the life cycle in small bowel mucosal biopsies as a diagnostic feature.
New.Engl.J.Med. 1970, 283:1306
- 122.- Hermans P.E., Huizenga K.H., Hofman H.N.: Dysgammaglobulinemia associated with nodular lymphoid hyperplasia of the small intestine.
Am. J. Med. 1966, 40:70

- 123.- Foroozan P., Trier J.S.,: Mucosa of the small intestine in pernicious anemia.
New.Engl.J.Med.,1967,277:553.
- 124.- Ament M.E., Shimode S.S., Saunders D.R.: The pathogenesis of steatorrhea in stasis syndrome.
Gastroenterology 1971,60:637
- 125.- Morson B.C., Dawson I.M.P.: Gastrointestinal Pathology. pag.185
Ed. Blakwell Scientific Publications. Oxford, London, Edinburgh, Melbourne.,1972.
- 126.- Whitehead R.: The interpretation and significance of morphological abnormalities in jejunal biopsies.
J.Clin.Path. 24, suppl. (Roy. Coll=Path) 1971,5:108.
- 127.- Holmes R., Hourihane D.O'B., Booth C.C.: The mucosa of the small intestine.
Post-Grad. Med J., 1961,37:717.
- 128.- Cook G.C., Kajubi S.K., Lee F.D.: Jejunal morphology of the African in Uganda.
J.Path.1969,98:157.
- 129.- Chacko C.J.G., Paulson K.A., Nathan V.I., Baker S.J.: The villous architecture of the small intestine in the tropics: a necropsy study.
J.Path.,1969,98:146.
- 130.- Wilson J.P.: Post-mortem preservation of the small intestine.
J.Path.Bact.,1966,92:229 (citado por Morson).
- 131.- Hartman R.S., Butterworth C.E., Hartman R.E., Crosby W.H., Shiari A.
Electron microscopic investigation of jejunal epithelium in sprue.
Gastroenterology,1960,38:506.
- 132.- Laster L., Ingelfinger F.J.: Intestinal absorption: Aspects of structure, function and disease of the small bowel mucosa.
New.Engl.J.Med.,1961,264:1138.

- 133.- Palay S.L., Karlin L.J.: Electron microscopic study of intestinal villus: I. Fasting animal.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 1959, 5:363. (Citado por Seehy)
- 134.- Palay S.L., Karlin J.L.: Electron microscopic study of intestinal villous II: Pathway of fat absorption.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 1959, 5:373. (Citado por Seehy)
- 135.- Morson B.C., Dawson I.M.P.: Gastrointestinal Pathology. pag. 187.
Ed. Blackwell Scientific Publications. Oxford, London, Edinburgh, Melbourne. 1972.
- 136.- Moe H.: On goblet cells especially of intestine of some mammalian species. Internat. Rev. Cytol., 1955, nº 229 (Citado por Seehy).
- 137.- Seehy T.W., Floch M.H.: Intestino delgado: su función y enfermedades. Ed. Lopez Libreros Editores. Buenos Aires, 1969.
- 138.- Palade G.E.: Endoplasmic reticulum.
J. Biophys. Biochem. Cytol (Suppl.): 1956:85. (citado por Morson).
- 139.- Astaldi G., Strosselli E.: Biopsy of normal intestine.
Amer. J. Dig. Dis., 1960, 5:175.
- 140.- Shiner M.: Jejunal biopsy.
Lancet 1956, 1:85.
- 141.- Benditt E.P., Wong R.L.: On concentration of 5-hydroxytryptamine in mammalian enterochromaffin cells and its release by reserpine.
J. Exper. Med., 1957. 105:509. (Citado por Whitehead)
- 142.- Astaldi G., Strosselli E.: Peroral biopsy of the intestinal mucosa in ~~sa~~ ~~in~~ ~~hepatic~~ cirrhosis.
Am. J. Dig. Dis., 1960, 5, 7:603.
- 143.- Booth C.C., Stewart J.S., Holmes R., Brackenbury W.: Dissecting microscope appearances of intestinal mucosa.
Intestinal Biopsy. pag. 3. Ed. Ciba Foundation. Study Group nº 14. 1962.

JUSTIFICACION DE LA SOLICITUD DE LA BECA

Los trabajos que hemos realizado ceemos que aportan algunos datos de valor, como son:

1) La no existencia de esteatorrea en la cirrosis hepática, en el porcentaje elevado en que se admitía.

2) El hallazgo de una excreción elevada de triglicéridos fecales en estos enfermos, con cifras de eliminación de lípidos fecales normal, lo que nos indica un trastorno en la hidrólisis de los mismos.

Esto nos obliga al estudio de la secreción biliar y del funcionalismo pancreático en estos enfermos.

En los últimos años se han descrito anomalías en el metabolismo de las sales biliares en los enfermos con hepatopatías. No está aclarada aún cual es la significación de estas alteraciones y no puede hacerse un esquema claro de la fisiopatología de las sales biliares, en las hepatopatías crónicas, que explique los fenómenos observados. Algunos autores, como CAREY en 1966, han sugerido que las sales biliares tendrían un papel en la patogénia de la cirrosis hepática. Se ha visto que la relación Tri-hidroxiácidos biliares/Di-hidroxiácidos biliares es inferior a 1 en el 81% de los pacientes afectados de cirrosis hepática, mientras que en el 82% de enfermos con colestasis esta relación es mayor que 1. Parece ser que esta relación tiene valor pronóstico ya que los valores menores de 1 se encuentran invariablemente cuando el hepatocito está dañado y, a menudo, aumentan, por ejemplo, cuando un alcohólico deja de beber.

Se ha especulado sobre el significado que tendría un exceso de litocolato en sangre, ya que se ha visto que inducen la cirrosis hepática en animales de experimentación. Es, por lo tanto, razonable suponer que este podría provocar daño a la célula hepática o en los ductulos del hígado en el hombre.

Mi interes,al ser aceptado en el Servicio de Gastroenterología del CENTRAL MIDDLESEX HOSPITAL de Londres,sería estudiar la absorción de las sales biliares en el íleon terminal y su papel en la patogénia de las hepatopatías crónicas.Creo que en el servicio que dirige el Dr Kelock tengo posibilidad de desarrollar estas investigaciones correctamente y sin dificultades ya que el Dr.Kelock,en su carta,se ofrece a poner en marcha los estudios de forma que pudieran seguirse desarrollando en España a mi regreso.

El porcentaje de ingresos hospitalarios afectos de hepatopatías es,en nuestro médio,del 18%,siendo la mayor proporción de ellos enfermos con hepatopatías crónicas;son,pues, de gran interes todos los estudios que se encaminen a profundizar en la patogénia de estas enfermedades.

Por otro lado nuestro equipo podrá desarrollar estos estudios pues contamos con cromatógrafos de gases y comenzamos,en estos momentos,a poner en marcha las técnicas de determinación de sales biliares.

Estos hechos creo que justifican la solicitud de esta beca y este sería la orientación de mis trabajos si me fuera concedida.

CURRICULUM VITAE.-

El infransquito D. Miguel Angel Gassull Duro, Licenciado en Medicina y Cirugía, declara ser absolutamente ciertos todos los aspectos de su "curriculum vitae" relacionado a continuación y que está dispuesto a probar documentalmente todos y cada uno de sus extremos.

HISTORIAL UNIVERSITARIO Y HOSPITALARIO.-

1) Durante los estudios de la carrera de Medicina haber obtenido:

Sobresalientes con Matrícula de Honor . . .	4
Sobresalientes	3
Notables	8
Aprobadosx.	15

2) Haber obtenido la calificación de Sobresaliente en los exámenes de grado de Licenciatura.

3) Haber obtenido 3 Notables y 1 Sobresaliente en las asignaturas de Doctorado.

4) Alumno Interno por Oposición, con el número uno, de la Clínica Médica Universitaria que dirige el Prof. J. Gibert-Queraltó.

5) Tesis Doctoral a presentar en Septiembre 1.973 con el título "Estudio de la excreción fecal de lípidos y biopsia intestinal en la cirrosis hepática".

6) Médico Pensionado por la Clínica Médica "A" que dirige el Prof. J. Gibert-Queraltó (1968-69)

7) Médico Interno del servicio de Urgencias (Medicina) por contrato en 1.968-69

8) Médico Residente del Hospital Clínico y Provincial de Barcelona por Concurso-Oposición (1.969-71)

9) Médico Ayudante, por contrato del Hospital Clínico y Provincial de Barcelona (1.971-72)

10) Médico Adjunto del Servicio Central de Gastroenterología, por Concurso-Oposición (1.972)

11) Miembro de la Unidad de Hepatología del Hospital Clínico y Provincial de Barcelona.

12) Desde la finalización de los estudios de Licenciatura en Medicina, he trabajado diariamente en el Hospital Clínico y Provincial de Barcelona con o sin contrato de trabajo.

151

BECAS.-

Beca del Exmo. Ayuntamiento de Barcelona durante el curso 1.965-66

Beca de la Comisaria de Protección Escolar durante el curso 1.966-67.

TITULOS.-

Título de Especialista en MEDICINA INTERNA (concedido en Mayo 1.972)

Título de Especialista en APARATO DIGESTIVO (concedido en Mayo 1.972)

ACTIVIDADES CIENTIFICAS.-

a) Publicaciones.-

1- HEMOPERITONEO AGUDO ESPONTANEO POR ROTURA DE UN CARCINOMA PRIMITIVO DE HIGADO.. En colaboración con los Dres. M. Bruguera, J. Terés y F. Badrinas.
Revista Clínica Española volumen 115 número 13 pág. 237-240 (1969)

2- INFECCION PERITONEAL EN LA CIRROSIS HEPATICA CON ASCITIS. en colaboración con los Dres. Sanchez-Tápias, Rodés, Arroyo, Terés, Bruguera, Bordas y Revert.
Revista Clínica Española volumen 123 número 4 pág. 375-80 (1971)

152

3- PARALISIS FACIAL DE ORIGEN ZOSTERIANO en colaboración con los Dres. Fernández-Nogués, Aragonés, Obach, Sumalla y Anguita. Medicina Clínica Volumen 57, número 6 pág. 919-924 (1.971)

4- TRASTORNOS HIDROELECTROLITICOS EN LA CIRROSIS HEPATICA CON ASCITIS en colaboración con los Dres. Arroyo, Rodés, Sanchez-Tapias, Bordas, Terés, y Bruguera. Revista Clínica Española Volumen 124, número 5 pág. 469-476 (1.971)

5- HIPERTENSION PORTAL ESENCIAL en colaboración con el Dr. Rodés. Medicina Clínica Volumen 59, número 2 pág. 156-57 (1.972)

6- TRATAMIENTO DE LA INSUFICIENCIA HEPATICA AGUDA GRAVE. Anales de Medicina. Academia de Ciencias Médicas de Cataluña y Baleares. Número Monográfico Volumen 58, número 2 Nov. 1.972.

7- SYNDROME DE ZIEVE. A propos de deux observations en colaboración con los Dres. Terés, Bruguera, Vivancos y Pou Ouet-Médical, número 4, Feb. 1.973.

8- LIPIDOS FECALES I: METODOS DE ESTUDIO. En colaboración con los Dres. Pascual Mostaza, Corominas Vilardell, Pou Clavé, Gassiot Matas. Medicina Clínica (pendiente de publicación).

9- Lipidos fecales II: Estudio en adultos normales y en Cirróticos. En colaboración con los Dres. Pascual Mostaza,

Vilar Bonet, Corominas, Vilardell, García Puges y Guarner Aguilar.
Medicina Clínica (número homenaje al Prof. M. Soriano) (Mayo 1973)

10- ORIENTACION DIAGNOSTICA DE LOS SINDROMES DE MALABSORCION INTESTINAL. Práctica Diaria, número 1, 1973.

11- LIPIDOS FECALES III: APLICACION DEL METODO DE EGSSTEIN A LA DETERMINACION DE TRIGLICERIDOS FECALES. En colaboración con los Dres. Pascual Mostaza, y Corominas Vilardell. Laboratorio (pendiente de publicación).

12- LIPIDOS FECALES IV: ESTUDIO DE LA ELIMINACION FECAL DE TRIGLICERIDOS EN ADULTOS SANOS Y EN ALGUNOS CASOS DE ESTEATORREA. En colaboración con los Dres. Pascual Mostaza, Corominas Vilardell, Vilar Bonet, García Puges, y Guarner Aguilar. Medicina Clínica (pendiente de publicación).

13- LIPIDOS FECALES V: ESTUDIO DE LA ELIMINACION FECAL DE TRIGLICERIDOS EN LA CIRROSIS HEPATICA. En colaboración con los Dres. Pascual Mostaza, Corominas Vilardell, Vilar Bonet, García Puges y Guarner Aguilar. (En preparación).

14- ESTUDIO DE LA BIOPSIA INTESTINAL EN LA CIRROSIS HEPATICA. En colaboración con los Dres. Esquerda, Pascual Mostaza, Vilar Bonet, y García Puges. (Pendiente de publicación).

15- ESTUDIO DE LA MUCOSA INTESTINAL EN ADULTOS SANOS Y EN CIRROTICOS AL MICROSCOPIO ELECTRONICO. En colaboración con los Dres. Pascual Mostaza, Esquerda, García Puges, Guarner Aguilar, y Vilar Bonet. (En preparación).

16- MALABSORPTION IN HEPATIC CIRRHOSIS:A CRITICAL REVIEW. En colaboración con los Dres. Bruguera,Vilar Bonet,Corominas Vilardell,Garcia Puges,Guarner Aguilar y Pascual Mostaza. (pendiente de publicación).

17- HEPATITIS ALCOHOLICA AGUDA SEUDOTUMORAL.En colaboración con los Dres.Bruguera,Terés,Sanchez-Tapias,Bordas,Arroyo, Bosch,Brancos,Clemente,Bertran,Viver y Rodés. Revista Clínica Española (pendiente de publicación).

b) Vida Académica.-

Academia de Ciencias Médicas de Cataluña y Baleares.- Asociación de Medicina Interna. HIPERTENSION PORTAL ESENCIAL (comunicación) 26 de Febrero 1.972.

Academia de Ciencias Médicas de Cataluña y Baleares.- Asociación de Digestología. FORMA CLINICA SEUDOTUMORAL DE LA HEPATITIS ALCOHOLICA AGUDA.En colaboración con los Dres. Bruguera, Terés, Bordas, y Rodés. (comunicación) 8 de Marzo 1.973

c) Cursos.-

Participación, como profesor, en el tercer y cuarto Curso de Hepatología, para estudiantes, organizados conjuntamente por la Unidad de Hepatología del Hospital Clínico y Provincial de Barcelona y la Asociación "Juventudes Médicas" de la Academia de Ciencias Médicas de Cataluña y Baleares.

d) Participación en Congresos.-

VIª Jornadas Hispano-Francesas de Gastroenterología.. Barcelona 1971.:EL ANTIGENO AUSTRALIA EN LA CIRROSIS HEPATICA= en colaboración con los Dres. Bruguera, Terés y Sanchez-Tapias.



- IIIª Reunión Nacional de Hepatología. Sevilla 1971.

SINDROME DE ZIEVE. (comunicación) en colaboración con los Dres.
Vivancos, Pou, Terés y Bruguera.