

*Presentada el 9
de Julio de 1942*

UNIVERSIDAD NACIONAL

DE

LA PLATA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

--- DATOS SOBRE LA AMONIEMIA ---

Tesis presentada para optar al grado
de-Doctor en Bioquímica y Farmacia,-
por ROBERTO R. FORMENTI.- 1942.-

Trabajo realizado en el
Instituto de Investiga-
ciones de esta Facultad.-

13823

Padrino de Tesis:

Profesor Doctor CARLOS A. SAGASTUME

A mis padres:

Con gratitud.-

Señor Decano:

Señores Consejeros:

Señores Profesores:

Presento a vuestra consideración el presente trabajo titulado "DATOS SOBRE LA AMONIEMIA" en cumplimiento de las disposiciones reglamentarias vigentes para optar al grado de Doctor en Bioquímica y Farmacia.-

Agradezco al Dr. Carlos A. Sagastume el haberme apadrinado en esta tesis y guiado en su realización y por el constante y eficaz estímulo que supiera ofrecerme durante la ejecución de mi trabajo.-

Quedo muy reconocido a los Doctores Virgilio Oliva y Carmen Inda por toda la ayuda que me prestaron.-

A mis amigos y compañeros, en quienes encontré cálido afecto en mi paso por esta Facultad.-

DATOS SOBRE LA AMONIEMIA.-

- 1- Introducción: El amoníaco en la sangre circulante: Su origen y destino.-
- 2- La amoniemia en estado normal y patológico.-
- 3- Estudio crítico-teórico de los métodos para su determinación.-
- 4- Datos experimentales obtenidos en el hombre y animales de laboratorio (cobayo).-
- 5- Acción de los anticoagulantes en la amoniogénesis espontánea "in vitro".-
- 6- Conclusiones.-
- 7- Bibliografía.-

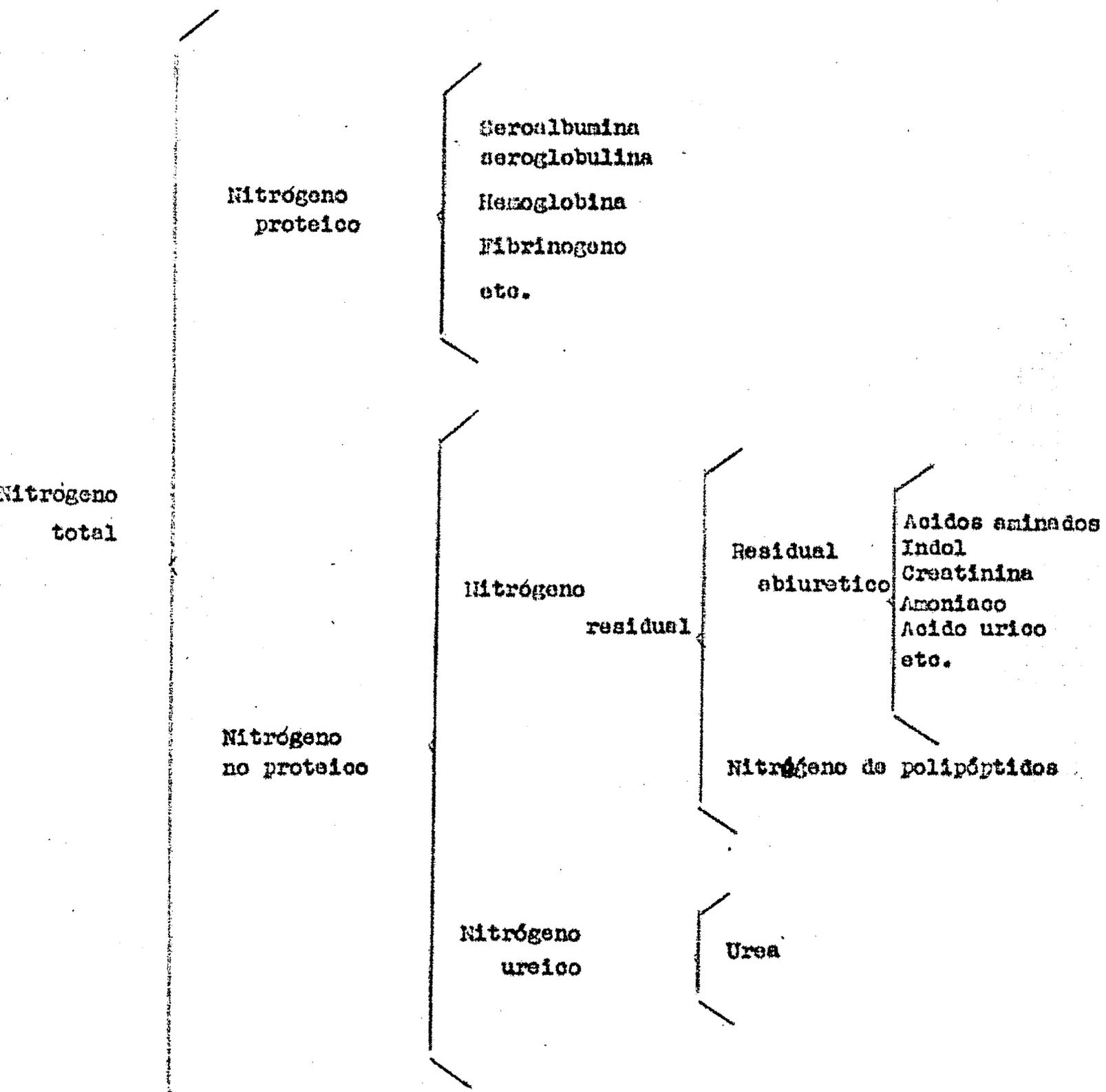
I) Introducción: El amoniaco en la sangre circulante. Su origen y destino.-

Las sustancias nitrogenadas presentes en la sangre representen productos catabólicos o materiales anabólicos, que se encuentren en el plasma, durante su paso desde los tejidos a los excretorios o del tubo digestivo a los tejidos, o de unos tejidos a otros. Se producen de una manera constante y también constantemente se excretan.-

Constituye este grupo una serie de sustancias a las que con el progreso de los métodos analíticos se les va reconociendo el valor que encierran, no únicamente en lo referente a su estudio global, sino en lo que concierne al estudio en particular de cada una de ellas, en los diversos estados patológicos.-

De una manera sintética podemos agrupar los diversos componentes que integran el nitrógeno total sanguíneo, en el cuadro esquematizado en la página siguiente.-

Según esta clasificación, nosotros estudiamos un nitrógeno total del que podemos separar un nitrógeno proteico o coagulable, y otro nitrógeno no proteico o no coagulable; del cual a su vez separamos un nitrógeno residual y otro ureico (siguiendo a la escuela francesa, pues la escuela alemana no hace esta separación y con el nombre de nitrógeno no proteico o residual estudia el nitrógeno total de la sangre desalbuminada, es decir, el nitrógeno total no proteico de los franceses y el llamado nitrógeno de retención de



Nitrogeno proteico

- Seroalbumina
- seroglobulina
- Hemoglobina
- Fibrinogeno
- etc.

Nitrogeno total

Nitrogeno residual

Residual abiuretico

- Acidos aminados
- Indol
- Creatinina
- Amoniaco
- Acido urico
- etc.

Nitrogeno no proteico

Nitrogeno de polipéptidos

Nitrogeno ureico

Urea

Strauss). Por último, del nitrógeno residual separamos el nitrógeno complejo de los polipéptidos y el nitrógeno residual ^{abioretico} ~~total~~ que reúne importantes sustancias del metabolismo animal. ^{El interés} ~~La importancia~~ de la separación de estas fracciones es manifiesta, ya que la significación fisiopatológica de cada una de ellas es distinta, lo cual representa una verdadera conquista clínica.-

Refiriéndonos a este punto mas en particular, hallamos que entre los productos nitrogenados de degradación del organismo, el amoníaco presenta tanto en clínica como en fisiología, un interés cuya importancia, reconocida después de largo tiempo, no ha cesado de acrecentarse. La valoración de su tenor en la sangre posee un interés bioquímico de primer orden, como lo demuestra el hecho significativo de que ha llamado la atención de un número considerable de investigadores.-

El problema de la amoniemia ha pasado por diferentes fases; que ^{iniciación} data de las investigaciones de Nencki y Zaleski (1) (Citado por Parnas y Heller (5)) quienes fueron los primeros que sistemáticamente investigaron el contenido de amoníaco en la sangre en relación con las investigaciones de Pawlow y su escuela, sobre la formación de úrea en el hígado y que en los últimos tiempos ha sido objeto de un debate que trata primeramente sobre su existencia real. Hay en efecto autores como Henríquez y Gottlieb (2); Fontés é Iovanovivh (3), que niegan la presencia de sales amoniacaes en la sangre circulante y creen que el amoníaco valorado al final de la experiencia, no es sino la consecuencia de reacciones químicas que tienen su origen después de la recolección de la sangre, en la acción hidrolizante de los álcalis utilizados en su valoración, sobre las sustancias amoniogénicas en ella contenidas; mientras que para otros como Nash y Benedict (4); Parnas y Heller

(5); Klisiecki (6) y Stanoyevitch (7) es un hecho fisiológico innegable y concluyen, que la sangre recientemente extraída de los vasos periféricos y destilada en condiciones apropiadas, revela siempre la presencia de amoniaco aunque en cantidades muy pequeñas.-

Como puede observarse, la existencia del amoniaco sanguíneo es un punto muy discutido y no completamente dilucidado aun, lo que ha dado lugar a interesantes y demostrativas controversias como lo revela la respuesta a Parnas y Klisiecki por Fontés (8) de las críticas que los primeros (9) hacen de su trabajo presentado en colaboración con Iovanovich (10) y la nueva discusión presentada por Parnas (11) sobre el mismo tema.-

En tiempos modernos se han repetido los reconocimientos con técnicas mas precisas y han sido obtenidas cifras de la amoniemia que varían de 0.20 á 1.10 miligramos por 1.000 ml. de sangre, si las condiciones especiales ^{capaces} ~~factibles~~ de afectar una determinación, son perfectamente eliminadas. Es actualmente admitido que la sangre de los mamíferos encierra una cantidad de amoniaco o sales amoniacales siempre mínima, variable según las especies, no pasando de algunos miligramos por litro y mas frecuentemente en el hombre en particular, del orden de algunos décimos de miligramo. Es tambien evidente que este amoniaco cuando se acumula en la sangre resulta un producto tóxico para el organismo como lo demuestra Bang (12) en comprobaciones efectuadas en conejos, que mostraron síntomas de fuerte envenenamiento después de la ingestión de 10 gramos de urea (2 horas antes), alcanzando la hiperamoniemia originada a 62.5 miligramos de N/NH_3 por 1.000 ml. de sangre y en otros conejos que recibieron dosis mortales de $(NH_4)_2CO_3$ halló una hiperamoniemia variable entre 38.0 y 80.0 mg. de N/NH_3 por 1.000. Como resultado de los datos expuestos concluye que el amoniaco es un producto tóxico del metabolismo y que una concentración en sangre

de alrededor de 40.0 mg. por 1.000 ml. puede ser mortal.-

Demostrada la presencia real de amoniaco o iones amoniacaes "in vivo" en la sangre normal, en cantidad pequeña, pero que puede aumentar en circunstancias patológicas diversas y habiéndose comprobado que el amoniaco que ~~se valora~~ ^{puede valorarse exactamente} por los métodos de determinación corresponde en realidad al preformado en la sangre circulante, la cuestión ha evolucionado y se ha tratado de resolver algunos problemas de fisiología que se relacionan directamente con el origen y destino del amoniaco sanguíneo.-

En 1912 Folin y Denis (13) describen experimentos por los cuales demuestran que los aminoácidos son absorbidos como tales a nivel del intestino y transportados sin transformación a todos los diferentes tejidos del cuerpo, permitiéndoles esto eliminar las posibles acciones enzimáticas sobre los aminoácidos con liberación de amoniaco, mientras que comprueban que el hígado extrae casi enteramente el amoniaco de la sangre de la vena porta y que probablemente lo convierte en úrea.-

Un número de experimentos adicionales, que son una notable contribución al estudio de la amoniemia (14) permiten confirmar una vez mas la hipótesis sobre el transporte de los materiales nitrogenados desde el intestino a los tejidos y autorizan a atribuir a la digestión pancreática la formación de pequeñas cantidades de amoniaco. Por otra parte, estudiando la amoniemia de la vena mesentérica del intestino delgado, han encontrado que su contenido no es materialmente grande y puede ser menor que el hallado en la vena porta. Por el contrario, el valor de la amoniemia de la vena mesentérica del intestino grueso es invariablemente mayor que en la vena porta. Los autores llegan por esto a la conclusión de que el intestino grueso es la principal o al menos la más constante fuente del amoniaco encontrado en la sangre de la vena porta. (La

r *En la explicación dada por ellos admiten que* el intestino grueso es el principal asiento de la acción bacteriana y como muchas de estas bacterias, como ser el Bacilo Coli, rápidamente producen amoníaco de los materiales albuminoides, especialmente en ausencia de carbohidratos, es por lo tanto la condición en el intestino grueso ideal para la producción de amoníaco.-

Poco después Matthews y Miller (15) de sus estudios sobre los efectos que los cambios en la circulación del hígado tienen sobre el metabolismo nitrogenado, y en especial del amoníaco, concuerdan con Folin y Denis que debe ser admitido como probable que el exceso de amoníaco presente ~~normalmente~~ en el sistema sanguíneo es convertido en úrea por el hígado, impidiendo su ^{permanencia} ~~continuación~~ en la circulación general, constituyendo al menos una de las fuentes de úrea y por lo tanto como sistema regulador de la amoniemia normal.-

Un estudio semejante y como confirmación de la hipótesis de Folin y Denis es el realizado por Fiske y Karsner (16) sobre el efecto que las lesiones agudas destructivas provocadas en el hígado poseen sobre su eficacia en la reducción del amoníaco contenido en la sangre; estudio que reposa en el hecho de que la sangre después de pasar a través del hígado es más pobre en su contenido ~~de~~ amoníaco, lo cual permite demostrar que el amoníaco de la sangre de la vena porta es principalmente de origen putrefactivo y que el hígado sirve como medio de protección del organismo contra este y otros productos tóxicos de putrefacción.-

Casi al mismo tiempo Jacobson (17) ensaya con el mismo fin el valor de destrucción del amoníaco como índice de la función hepática en el mantenimiento del equilibrio iónico del medio interno, por la simultánea desaparición de amoníaco aumentado en la sangre por inyecciones de $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, y aparición de hiperuremia conco-

mitante.-

Barnett y Addis (18) hallan en determinaciones de la amoniemia en conejos normales a continuación de la introducción de grandes dosis de úrea, introducida por boca y directamente en el intestino o intravenosamente, un marcado aumento en el contenido amoniacal (110.0 mg. por 1.000 ml. de sangre) y un menos marcado y tardío aumento a continuación de la inyección intravenosa de úrea en conejos en los cuales la circulación intestinal está excluida. Por los hechos citados, Barnett y Addis creen en la posible formación del amoniaco sanguíneo a partir de la úrea y apoyan la hipótesis de su origen intestinal derivado de la descomposición bacterica de la úrea, pero no excluyen la posibilidad de que pueda originarse en cualquier otra parte del organismo.-

Como sostenedores de la hipótesis de Folin y Denis también podemos mencionar a Bernard y Besançon (19) quienes por la elevada cantidad de amoniaco hallada en la vena porta, sostienen que es el tubo digestivo el lugar de formación del amoniaco sanguíneo proveniente de las putrefacciones intestinales y del trabajo de las glándulas digestivas, en particular del páncreas ^{de la} y ~~hacen re-~~ ~~presentar~~ que la mayor parte de este amoniaco es retenido por el hígado y no aparece en la vena suprahepática.-

Un cambio de opiniones sobre el origen y formación del amoniaco presente en la sangre circulante, es dado por Nash y Benedict (4) quienes discuten la posibilidad de la ausencia de este amoniaco y si las cantidades presentes son en realidad menores que los valores dados por los diferentes autores; si el amoniaco está presente como tal en la sangre o si se libera de una combinación rápidamente destruída por el riñón, no obstante no ser fácilmente disociada bajo las condiciones experimentales que rigen los procedimientos analíticos empleados y por último si el riñón mismo forma el amoniaco que luego es eliminado. Luego de interesantes

consideraciones, los autores comprueban la presencia real de amoníaco preformado en la sangre circulante y niegan la existencia de posibles sustancias lábiles, generadoras de amoníaco como lo sostienen Folin y Denis y Barnett y Addis. Además, sugieren que este amoníaco presente en la sangre sería producido en el organismo para la neutralización del exceso de ácidos en el cuerpo, citando a la úrea como su más probable precursor. Por otra parte, no habiendo hallado acumulación de amoníaco en la sangre, de perros florhizados, ni en perros con la función renal excluida, emiten la hipótesis de que el riñón mismo es el que produce el amoníaco cuyo exceso luego elimina.-

Las conclusiones de Nash y Benedict, confirmadas en una publicación posterior (20) relativas a la formación de amoníaco y principalmente ^{de su} ~~que~~ ~~tiene~~ un exclusivo origen renal han encontrado general confirmación y aceptación en las contribuciones que han sido publicadas sobre este mismo tema por Loeb, Atchley y Benedict (21), por Hendrix y Bodansky (22) y por Russell (23) quienes de sus trabajos llegan a idénticas conclusiones.-

Una opinión que concilia las dos teorías principales emitidas sobre la amonio formación es la dada en 1936 por Shih (24) quien efectúa en ratas un estudio sobre el mecanismo del aumento de la concentración del amoníaco durante ^{la elevación} ~~el aumento~~ de la concentración de úrea en la sangre. ~~Esto último~~ ^{Esto último} fué logrado por tres métodos diferentes: Ligadura de la vena cava inferior; nefrectomía bilateral e inyección directa de urea en el intestino grueso, encontrando un constante aumento de la amoniemia en todos estos casos, pero es particularmente interesante la observación de que a continuación de la nefrectomía bilateral la amoniemia no aumenta tanto como en los otros casos, por lo que está de acuerdo con Nash y Benedict en que una parte de amoníaco puede provenir del riñón. Además, la observ

ción de que por acción de la flora bacterica del intestino grueso, la urea fué convertida en amoniaco, lo cual se evidenció por el aumento de su concentración en la sangre, apoyat tambien la observación hecha por Folin y Denis sobre el origen intestinal del amoniaco sanguíneo.-

Estas concepciones muy absolutas, no tardan en sufrir numerosas críticas y poco a poco a la mayor parte de los órganos se les reconoce propiedades amoniogénicas y fué Gad- Andersen (25) el primero en demostrar la presencia generalizada del amoniaco en el organismo, encontrando que las concentraciones halladas en músculos, corazón, hígado, bilis, líquido céfaloraquídeo y tumor acuosos, son idénticas a los valores dados para la sangre normal.-

Más tarde Bliss (26) realiza un estudio sobre el origen de la amoniemia, en observaciones sobre perros con marcada insuficiencia renal, mediante definidos experimentos que conducen a considerar al riñón como centro de la producción de amoniaco en el animal, estando esto de acuerdo con las interpretaciones de Nash y Benedict. Además confiere una importancia relativa a la formación de amoniaco por otros órganos, en especial el páncreas, considerando que esta formación es un fenómeno general de los tejidos como medio de defensa para la neutralización del exceso de ácidos en el organismo. Esto último es tambien sostenido por Briggs (27) en sus estudios sobre enfermos con nefritis avanzadas, quien concluye que el amoniaco sirve como un importante mecanismo para la conservación de bases fijas y regulación de la neutralidad en los tejidos.-

En una nueva comunicación Bliss (28) apoya las opiniones emitidas por él anteriormente y además prevé la posibilidad de que el amoniaco exista en la sangre, bajo forma de nitrógeno amidado, del

cual se liberaría en los riñones y órganos por la acción de una enzima especial capaz de destruir el complejo amoniacoal amidado.-

Continuando sus estudios sobre el papel del amoniaco en la neutralización de ácidos en el organismo, Bliss (29) determina su importancia en la neutralización del ácido láctico presente en la sangre durante el ejercicio muscular. De sus experiencias efectuadas en perros sometidos a ejercicios de corta duración (20') obtiene resultados que están en armonía con el concepto de que el amoniaco ocupa un lugar importante en la neutralización del ácido láctico originado durante el ejercicio muscular y que el amoniaco así empleado, aparece en la sangre de la vena femoral, no como una sal de amonio sino combinado a las proteínas sanguíneas.-

La teoría sustentada por Bliss que hace de la formación del amoniaco un fenómeno general del organismo es discutida por Nash y Benedict (30) quienes en interesantes ensayos niegan tal aseveración y demuestran que la formación de amoniaco para la neutralización de ácidos no es una función de los tejidos en general.-

Parnas, Mozolowski y Lewinski (31) confieren un importante papel en la amoniogénesis al músculo en actividad, como lo demuestran sus estudios realizados sobre la amoniemia a continuación del ejercicio del brazo, hallando en 12 casos estudiados, un aumento (promedio) de 0.8 mg. de N/NH_3 por 1.000 ml. de sangre sobre su valor normal.-

Los resultados obtenidos por estos investigadores son corroborados más tarde por Stanoyevitch (7) quien ha pretendido demostrar que la amoniemia fisiológica puede provenir, al menos en parte del músculo durante su contracción. Para ello efectuó la valoración de la amoniemia en hombres vigorosos antes y después del trabajo muscular. De los resultados obtenidos deduce que inmedia-

tamente después de un trabajo muscular de intensidad y duración moderadas, la amoniemia es mayor, al menos dos veces, que antes del trabajo para luego disminuir durante el reposo y tender a su valor primitivo en el transcurso de las dos horas subsiguientes. Con esto apoya la opinión de que los músculos son ciertamente una de las fuentes, y no la menor, del amoniaco sanguíneo. El mismo autor (32) confiere, en un trabajo posterior, al útero grávido, un lugar especial en la amoniogénesis, atribuyendo la marcada hiperamoniemia observada en mujeres durante la gravidez y en el momento del parto, a la extrema actividad de los músculos lisos y estriados.-

Tratando de establecer el destino que sufre el amoniaco en el organismo, Polonoski, Boulanger y Bizard (33) admiten por sus experiencias, que tanto el amoniaco preformado en la sangre circulante como el proporcionado por inyección de aminoácidos o sales amoniacaes, también denominados por ellos amoniaco endógeno y exógeno respectivamente, sería transformado a nivel del hígado en un compuesto donde está disimulado, cuerpo este que jugaría el papel de un verdadero regulador contra las variaciones de la amoniemia y que constituiría además, un proceso de defensa contra la toxicidad del amoniaco, el cual sería liberado por el riñón a expensas de ese compuesto intermediario, hecho que es puesto en evidencia por el valor considerablemente más elevado de la amoniemia en la vena renal que en la arteria correspondiente.-

En una comunicación posterior (34) tratan de establecer si otros órganos no participarían en la liberación del amoniaco, dirigiendo especial atención al páncreas, al cual le confieren una probable intervención en la amoniogénesis fisiológica.-

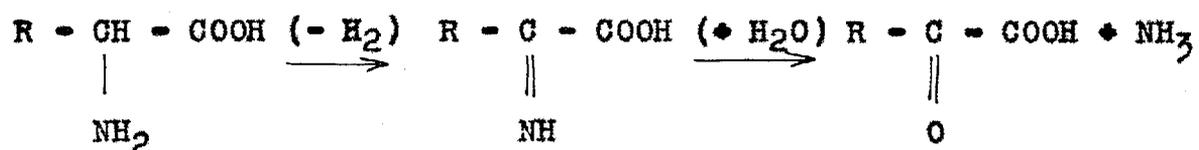
En un estudio similar al de los investigadores citados, Koprowski y Uninski (35) estudian las variaciones de la amoniemia y urea

sanguínea a raíz de la administración oral en perros de sales de amonio y amoniaco. Los autores verifican en todos los casos estudiados, un constante aumento de la urea sanguínea dentro de los primeros 60' después de la administración de NH_4Cl y $\text{NH}_4(\text{OH})$, indicando los hechos una fijación inicial del amoniaco por el organismo y su posterior transformación en urea.-

Stanoyevitch y Petkovitch (36) citan a la urea como precursora del amoniaco sanguíneo, estudiando las variaciones de la amoniemia en perros como consecuencia de la introducción de extractos de ureasa por vía subcutánea o intravenosa, provocando una hiperamoniemia de valores comprendidos entre 60 y 200% del valor inicial, por lo que esta elevación sería obtenida a expensas de la acción de la ureasa sobre la urea presente en la sangre, con su ulterior transformación en amoniaco.-

Monguio (37) estudia la influencia del régimen alimenticio en el control de la función hepática ^{previa a determinación} por el amoniaco preformado en la sangre, y ^{por su posterior evaluación} demuestra ~~que~~ que, cuando el amoniaco de origen intestinal franquea la barrera hepática y llega a la circulación general se origina una hiperamoniemia en la sangre periférica, por lo cual asigna al hígado el control de la amoniemia normal por formación de urea a expensas del exceso de amoniaco presente en la sangre circulante.-

Polonoski y Boulanger en colaboración con Bizard (38) y Oudar (39) expresan que el amoniaco en el organismo tendría su origen a partir de los ácidos α aminados y α metilados que sufrirían en el animal una desaminación oxidativa, comenzando por una deshidrogenación y terminando en los ácidos α cetónicos correspondientes, con una concomitante liberación de amoniaco de acuerdo con la siguiente interpretación química:



En los últimos años, diversos autores como Myers (40), Flor-
kin y Houet (41), Florkin y Renwart (42, Florkin y Frappez (43),
han extendido sus investigaciones hasta el campo de los inverte-
brados y algunos en relación con la amoniemia humana, lo cual de-
muestra el interés científico que su estudio ha despertado.-

II) La amoniemia en estado normal y patológico.-

La determinación del amoníaco en la sangre circulante ha sido considerada durante mucho tiempo como una de las principales dificultades en el estudio de la amoniemia, pero luego se reconoció la posibilidad de su evaluación con el perfeccionamiento de las técnicas de valoración, pues en primer lugar los métodos usados no permitieron la obtención de datos dentro de los primeros minutos después de la extracción sanguínea y efectuando una revisión de la literatura que trata sobre su presencia se revela mucha confusión y divergencia en las cantidades encontradas. Su valoración ha sido objeto de numerosos trabajos experimentales y un análisis de las cifras dadas para la amoniemia normal nos permite hacer una comprobación sorprendente: Cuanto más los procedimientos para su determinación se perfeccionan, menos amoníaco se encuentra en la sangre, como podemos verificar observando los valores dados por los diferentes investigadores.-

	Animal	Origen de N/NH ₃ en mg. por 1000 ml. de sangre.-	Valores ex tremos.-	
			Valores ex tremos.-	Valor prome dio.-
M.Nenski y J.Zaleski (1901) - (1)	Perro	Arterial Portal Venosa	14.0-28.0	52.0 19.0
J.Carlson y C.Jacobson.- (1909) - (44)	Gato Zorro			15.70 23.80
L.Wolf y W.Marriott (1910) - (45)	Buey	Arterial	14.0-50.0	
J.Carlson y C.Jacobson.- (1911)- (40)	Gato			11.20
R.Holpkins y W.Denis (1911) - (47)	Perro	Caroti- dea	6.0-32.0	
A.Medwedew (1911) -(48)	Perro Perro (en ayuno)			5.60 18.10
O.Folin y W.Denis (1912) - (14)	Gato	Caroti- dea	0.30-0.80	
A.Matthews y M. Miller.- (1913) - (9)	Perro	Arterial		3.50
W.Denis (1914) - (49)	Peces Gato		10.0-55.0 1.0-2.0	
C.Jacobson (1914) - (17)	Gato		4.80-12.0	
A. Rohde (1914) - (50)	Perro		2.80-7.20	
O.Gettler y W.Baker (1916) - (51)	Hombre	Venosa	4.0-7.50	
I.Bang (1916) - (12)	Conejo		8.10-12.70	
V.Henriquez y E. Christiansen (1916) - (52)	Hombre	Arterial Portal	1.50-3.80 2.50-9.10	
	Cabra	Arterial	1.60-2.90	2.20
	Perro	Arterial	2.10-4.40	3.20
	Conejo	Arterial	2.00-4.20	3.00
	Gato	Arterial	0.80-1.50	1.20

	Animal	Origen de la sangre	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.	
			Valores extremos.-	Valor promedio.-
G. Barnett (1917) - (53)	Hombre	Venosa	0.00-0.50	
S.Morgulis y H.Jahr (1919) (54)	Hombre	Venosa	1.80-3.0	
P.Gerard (1919) - (55)	Hombre		0.25-0.68	
T.Nash y S.Benedict (1921) - (4)	Perro		0.30-2.80	
T.Nash y S.Benedict (1922) - (20)	Perro	Arteria renal	0.50-1.30	
		Vena renal	0.50-1.30	
K.L.Gad-Andersen (1922) - (56)	Buey		5.00-8.00	4.20
A.Bisgaard y J.Noer vig.-(1923) - (57)	Hombre	Venosa		3.00
J.K.Parnas y J.Heller.- (1924) - (5)	Conejo	Arterial		0.20
S.Bliss (1926) - (26)	Perro	Vena renal		1.40
		Carotídea		1.40
		Pancreático-duodenal		1.90
		Esplénica		1.20
		Arteria femoral		1.60
		Vena femoral		1.30
		Yugular		1.20
M.A.Klisiecki (1929) - (6)	Hombre	Venosa	0.11-0.75	0.26
M.Labbé-F.Nepveux y Hejda.-(1929)-(58)	Hombre	Venosa		0.47
M.Stanoyevitch (1931) - (7)	Hombre	Venosa		0.26
	Mujer	Venosa		0.23
E.J.Conway (1935) - (59)	Hombre	Venosa	0.165-0.401	
J.Monguio (1935) - (37)	Perro	Venosa	0.60-1.50	

	Animal	Origen de la sangre	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-	
			Valores extremos.-	Valor promedio.-
E.J. Conway y R. Cooke (1939) - (60)	Hombre Conejo	Venosa Arterial	0.21-0.58 0.24-0.59	

Amoniemia patológica:

El estudio de la amoniemia en los estados patológicos que pueden influenciar sobre su normalidad, tiene mucha importancia para la diferenciación de diversos estados clínicos, como lo ponen en evidencia las comprobaciones efectuadas por distintos investigadores sobre sus variaciones, según las circunstancias patológicas en las cuales se encuentra el organismo examinado.-

Russell (23) efectúa una investigación sobre el contenido de amoníaco en la sangre de enfermos afectados de nefritis y nefrosis, hallando en todos los casos estudiados una hiperamoniemia considerable, como lo demuestran los siguientes valores hallados: Nefritis crónica intersticial: Valor promedio de 0.88 mg. de N/NH₃ por 1.000 ml. de sangre; nefritis crónica: 0.90 mg. y pionefrosis: 0.96 mg.-

El aumento del valor de la amoniemia, Russell lo atribuye a la incapacidad del riñón para eliminar el exceso del amoníaco presente en la sangre.-

Bisgaard y Noervig (61) comprueban en la sangre de enfermos epilépticos una marcada hiperamoniemia antes y durante los ataques; así, 6 horas antes de la crisis el valor hallado fué de 14.20 mg. por 1.000 ml. de sangre, y durante los ataques un valor variable entre 1.0 y 2.8 mg. por 1.000 ml.-

En el estudio de diversos estados patológicos Labbé, Neryeux y Hej-

da (62) han determinado el tenor de la sangre en amoniaco en el curso de ciertos estados patológicos.-

En 5 casos de cirrosis del hígado la amoniemia ha variado de 0.30 á 1.06 mg.; promedio 0.56 mg. por 1.000 ml.-

En 4 casos de ictericia el valor hallado estuvo comprendido entre 0.32 y 0.80 mg. con un promedio de 0.55 mg. por 1.000 ml.-

En 5 casos de diabetes con acidosis mediana la amoniemia varió de 0.32 á 0.60 mg.; promedio 0.43 mg. por 1.000 ml.-

Por lo tanto, sostienen que en los estados patológicos donde se observa corrientemente un trastorno en el metabolismo nitrogenado y donde la amoniuria es frecuente, el valor del amoniaco de la sangre no se eleva y queda muy vecino del valor normal.-

No es lo mismo en la tuberculosis pulmonar donde observan una hiperamoniemia, que es tanto más elevada cuando la gravedad y la extensión de las lesiones pulmonares son más pronunciadas.-

En los casos de tuberculosis pulmonar, donde la radiografía demuestra lesiones poco intensas, el valor del amoniaco hallado es un poco superior al normal, de 0.96 á 1.70 mg. con un promedio de 1.09 mg. por 1.000 ml. de sangre.-

Cuando las lesiones tuberculosas son bilaterales y muy extendidas, la amoniemia acusa valores de 2.08 á 4.20 mg. con un promedio de 3.05 mg. por 1.000 ml.-

Los autores no pueden dar una explicación satisfactoria de esta hiperamoniemia y creen en una insuficiencia funcional de ciertos órganos, en especial del hígado.-

Djuricie y Zivanovic (63) estudian en perros la influencia de la descapsulación renal sobre el valor del amoniaco sanguíneo, efectuando la determinación de la amoniemia antes y después de la operación.- La observación efectuada es que, después de la descap-

sulación renal bilateral se comprueba un aumento amoniaco gradual post-operatorio, a causa de una hiperemia renal que provoca un funcionamiento más activo del riñón.-

Para confirmar que es la descapsulación lo que causa el aumento amoniaco sanguíneo efectuaron sobre perros testigos la exteriorización renal, pero sin descapsulación, no habiendo obtenido ninguna modificación de la amoniemia.-

Poco tiempo después Djuricie (64) expone los resultados de su trabajo concerniente a la variación de la cantidad de amoníaco de la sangre en los animales anafilactizados, concluyendo que el "shock" anafiláctico se acompaña en los perros, de una fuerte hiperamoniemia que estaría en directa relación con los trastornos del funcionamiento hepático, acompañados de acidosis endógena y de hiperemia congestiva.-

Resultados que están en desacuerdo con la opinión de Bisgaard y Noervig, son los obtenidos en 1932 por Van Cauwert y Deviller (65), que observan en cirróticos, trastornos consecutivos a la absorción de NH_4Cl y para verificar si esto es debido a una defectuosa transformación del amoníaco en urea a nivel del hígado, hacen ingerir a sujetos normales y hepáticos, dosis variadas de NH_4Cl para estudiar a continuación su amoniemia.-

En el sujeto normal los valores hallados están siempre comprendidos dentro de un promedio de 0.5 mg. de N/NH_3 por 1.000 ml. de sangre, luego de la ingestión de 5 grs. de NH_4Cl . Por el contrario, en toda una serie de afecciones hepáticas calificadas de insuficiencia o ictericias por retención, los resultados obtenidos son absolutamente superiores a los encontrados en el sujeto normal.-

Cirrosis de Laënnec. En este caso se nota, luego de transcurridos 20' después de la ingestión de 5 grs. de $\text{NH}_4 \text{Cl}$, una hiperamoniemia que llega a 2 ó 3 grs. y persiste durante varias horas.-

Esta experiencia ha sido repetida con los mismos resultados en otros casos de cirrosis avanzadas.-

Estos experimentadores atribuyen los valores encontrados a que el amoníaco que llega al hígado por la vena porta no es totalmente transformado en urea, porque la célula hepática está en insuficiencia y atravesaría pues el hígado, para pasar a la circulación general.-

Poco después los mismos autores (66) repiten sus experiencias en estados graves de cirrosis de Laënnec, ictericia catarral, ciertas hepatitis graves, enfermedad de Hanot y estenosis del colédoco con idénticos resultados.-

En esta eventualidad dos hipótesis son presentadas: O bien se cumple la primera hipótesis por ellos emitida, o bien, que a consecuencia de trastornos de la circulación, — cierta cantidad del amoníaco de origen intestinal haya escapado del hígado y aparezca en la circulación general por las vías colaterales de la vena porta.-

En una comunicación posterior los mismos autores en colaboración con Halff (67) hacen notar que cuando enfermos afectados de cirrosis de Laënnec ingieren sales amoniacaes (alrededor de 10 grs. de $\text{NH}_4 \text{Cl}$ por día) se observan trastornos tóxicos que parecen estar en directa relación con la absorción de esta sal. En todos estos casos han determinado los valores de la amoniemia en el momento de los trastornos y las cifras encontradas varían de 3.0 á 5.0 mg. de N/NH_3 por 1.000 ml. de sangre.-

Posteriormente Van Caulaert, Déviller y Hofstein (68) denominan a la citada prueba con el nombre de "Prueba de la amoniemia provocada". Repiten los ensayos anteriores pero esta vez la determinación del amoníaco la efectúan en el líquido ascítico, pues su concentración la han hallado idéntico a la de la sangre, por lo que evitan al enfermo la repetición de punciones venosas difícilmente aceptadas por los enfermos graves, como lo son en general los que están atacados de cirrosis de Laënnec en un grado avanzado.-

Stanoyevitch y Petkovitch (69) comprueban que en el hombre, durante la narcosis etérea la amoniemia aumenta aproximadamente de 10 á 50% del valor inicial inmediatamente después de la fase de excitación; en los enfermos con una amoniemia mas elevada (por consiguiente patológica), este aumento es mas acentuado y se eleva de 20 á 120%. Al final de la anestesia general de corta duración, en los individuos con una amoniemia inicial normal o poco elevada, el valor del amoníaco no aumenta notablemente. Por el contrario, en aquellos que presentan una amoniemia inicial mas elevada, se verifica una hiperamoniemia notable.-

Después de una narcosis prolongada, este aumento es apreciable; lo mismo en personas con una cantidad de amoníaco normal antes de la iniciación de la anestesia.-

Los hechos observados son explicados por los autores en la forma siguiente; luego de la narcosis de corta duración la acción del narcótico, insuficientemente larga, y por lo tanto poco tóxica, no produce lesiones apreciables en los diversos órganos que toman parte en el metabolismo del amoníaco. En cambio, una narcosis etérea, aunque de corta duración en los enfermos que poseen una amoniemia original elevada, da origen a una

hiperamonemia apreciable, a causa del efecto tóxico del narcótico sobre los órganos ya lesionados. Después de una narcosis de mayor duración hay aumento de la amoniemia por efectos de la acción prolongada del narcótico, lo mismo en las personas sanas con cantidad normal de amoníaco sanguíneo antes de la anestesia general.-

3.- ESTUDIO CRÍTICO-TEÓRICO DE LOS MÉTODOS PARA SU DETERMINACIÓN.-

Los métodos propuestos para la valoración cuantitativa del amoníaco sanguíneo han sido clasificados en dos grupos:

- a) Métodos que exigen destilación previa.-
 - b) Métodos que no exigen destilación previa.-
- a) MÉTODOS QUE EXIGEN DESTILACIÓN PREVIA.-

En 1912 Folin y Denis (70) fueron los primeros en generalizar una forma de análisis para su aplicación en la determinación del nitrógeno no protéico, nitrógeno total, úrea y amoníaco en la sangre, consistente en una modificación del método que Folin y Farmer (71) presentan para la determinación del nitrógeno en la orina, basado en la aereación y nesslerización subsiguiente y aplicado a la valoración del amoníaco en la orina por Folin y Mac Callum (72).-

Los puntos esenciales del método de Folin y Denis son el empleo de pequeñas cantidades de sangre (5 á 10 ml.), cuyo amoníaco es liberado por una cantidad medida de solución de carbonato de potasio; aereación acelerada y de corta duración (20 minutos); y por último valoración del amoníaco desplazado por el uso del reactivo de Nessler en lugar de la titulación.-

Bock y Benedict (73) examinan el método de Folin y Farmer, lo critican y presentan un nuevo aparato de destilación reduciendo las causas de error y hacen factible su aplicación a las determinaciones del amoníaco sanguíneo.-

Poco después Nash y Benedict (4) utilizan un método cuyo fundamento es el propuesto por Folin y Denis pero con ligeras modificaciones en la técnica operatoria y en los tubos de absorción, que consideran de mucha importancia para la obtención de resultados seguros.-

En síntesis el procedimiento consiste en aerear durante 10 minutos 5 ml. de sangre, adicionada de 1 ml. de solución de carbonato y oxalato de potasio. El amoniaco así puesto en libertad es recibido en 5 ml. de agua libre de amoniaco que contiene una cantidad medida de HCl 0.1 N. Una gota de alcohol caprílico es suficiente para evitar la espuma durante la aereación. A continuación de la aereación se procede a la nesslerización en el mismo tubo receptor y se compara colorimétricamente con soluciones tipos sometidas a igual procedimiento.-

En 1924 Parnas y Heller (5) presentan un sencillo aparato, destinado a microdeterminaciones cuantitativas de amoniaco sanguíneo, que es una modificación del propuesto por Parnas y Wagner (74) para el micro-Kjeldahl algunos años antes.-

El principio del nuevo método es que la base volátil no es destilada por una corriente de aire sino por vapor de agua en el vacío.-

El método consiste esencialmente, en tratar a la salida de los vasos con una solución reguladora alcalina de borato de sodio que se prepara con 1.2404 grs. de ácido bórico, 10 ml. de solución 1. N de NaOH y agua bidestilada hasta completar 100 ml. Según Parnas este reactivo agregado en igual volumen a la sangre, produce su hemólisis inmediata y *permite llevar su pH a 9.2* comprobándose que justamente esa alcalinización es apta, no solamente para liberar completamente el amoniaco, sino que paraliza el proceso de la formación espontánea de éste en la sangre.-

Luego se procede al arrastre del amoniaco liberado por una corriente de vapor de agua bajo una débil aspiración (vacío de 20 á 25 mm. de Hg) destilando durante 5 minutos a temperatura que

no exceda de 25°C; el vapor es condensado en un refrigerante de plata y se determina el amoníaco fijado en una solución valorada de ácido por titulación acidimétrica diferencial o bien colorimétricamente.-

El método citado ha sido utilizado por diversos investigadores con buenos resultados y es sin duda el que más puede recomendarse por ahora, para determinaciones de cantidades tan ínfimas de amoníaco como son las que se hallan presentes en la sangre circulante.-

Recientemente Goldberg y Banfi (75) emplean un nuevo aparato para la determinación del nitrógeno amoniacal, basado en la destilación a reflujo con aereación, construido enteramente en vidrio y que permite obtener resultados satisfactorios con cantidades de nitrógeno amoniacal que varían entre 10 mg. y 0.01 mg.-

--

b) MÉTODOS QUE NO EXIGEN DESTILACIÓN PREVIA.-

Entre estos métodos podemos citar al propuesto por Morgulis y Jahr (54) que requiere la precipitación previa de las proteínas de la sangre tan pronto como sea posible, luego de su extracción, para evitar la separación del amoníaco, con una solución al 25% de ácido m. fosfórico cuyo exceso es neutralizado con solución de hidróxido de sodio. A continuación, el amoníaco en el filtrado de la sangre libre de proteínas es absorbido con la ayuda de la permutita o zeolita sintética, que posee la propiedad particular de cambiar sus bases de constitución (K ó Na) por las de soluciones de sales neutras con las que se pone en contacto, lo cual es rigurosamente cuantitativo, como lo demuestra Pohorecka-Lelez (76).-

El líquido que sobrenada será desalojado y el sedimento de permutita lavado repetidas veces con agua destilada libre de amoníaco. El amoníaco así absorbido por la permutita es puesto en libertad con solución de hidróxido de sodio al 10% y nesslerizado; efectuando luego la comparación colorimétrica con soluciones de concentración conocida de $(NH_4)_2 SO_4$.

La única objeción al método es que exige cantidades grandes de sangre, por lo menos 20 ml., volumen que no siempre es posible obtener para los análisis clínicos corrientes.

Folin (77) realiza un estudio crítico del método de Morgulis y Jahr, que se ve precisado a abandonar por las numerosas causas de error encontradas.

Los reactivos usados, incluso la permutita, deben estar absolutamente libre de amoníaco y ninguno de ellos puede obtenerse exento de vestigios de amoníaco, siendo esto, más que suficiente para influenciar la determinación cuantitativa de la amoniemia. Por otra parte todos los preparados de ácido m. fosfórico dan color con el reactivo de Nessler.

Un factor que molesta en la determinación colorimétrica lo constituyen derivados de aminoácidos presentes en el filtrado de la sangre y en parte absorbidos por la permutita.

Gad-Andersen (78) idea un micrométodo para la determinación cuantitativa del amoníaco sanguíneo y de líquidos orgánicos, en el cual se requieren dos análisis: En el primero se determina el total de úrea y amoníaco y en el segundo la úrea sola después que el amoníaco ha sido eliminado por la evaporación de la sangre en el vacío. La diferencia entre los dos análisis da el contenido de amoníaco.

Para la primera determinación las proteínas son precipitadas con ácido acético 0.01 N al que se le agrega acetato de sodio como regulador. El precipitado es filtrado y en el líquido obtenido se determina el conjunto de úrea y amoníaco mediante descomposición con hipobromito.-

Según el autor, este método da resultados positivos solo cuando el contenido de amoníaco está anormalmente aumentado, lo que restringe su utilidad práctica.-

Un aparato muy sencillo para la microestimación de amoníaco, que no exige procedimientos de destilación y aereación, es el sugerido por Conway y Byrne (79) cuyo principio está basado en la absorción por difusión simple gaseosa de la sustancia volátil de un recipiente donde ejerce cierta tensión, hacia otro donde su tensión es cero en la superficie del líquido absorbente.-

Según los autores el valor medio de exactitud no cae por debajo del 99.5% del teórico, por lo tanto el coeficiente de variación en la valoración individual es de 0.5%.-

El aparato denominado también "Unidad" es de una constitución muy sencilla y consiste en un recipiente de vidrio semejante a un pequeño recipiente de Petris con gruesas paredes dentro del cual hay un segundo recipiente formado por una pared de vidrio circular que sale del fondo del recipiente exterior. La pared del recipiente interior posee más o menos la mitad de la altura del exterior.-

El borde superior de la pared exterior presenta una superficie lisa y está cubierta durante la absorción con una tapa de vidrio cuadrado la que se unta con pequeña cantidad de fijador. En

esta forma rápidamente se obtiene un compartimento hermético.-

En la investigación de la absorción de amoníaco se coloca ácido titulado en cantidad conocida en el recipiente interior de una "Unidad" seca y limpia. En el recipiente exterior se pone una cantidad medida del líquido a analizar que no exceda de 3 ml. La tapa se unta bien con el fijador y se coloca en posición.-

El aparato se inclina ahora levemente. Esta inclinación recoge el líquido del recipiente exterior fuera de donde se introduce el álcali. La tapa se saca horizontalmente de modo que aparezca una pequeña abertura en el recipiente exterior suficiente para permitir la introducción de la punta de una pipeta que contiene una cantidad medida de álcali (K_2CO_3 en solución saturada). El álcali se pasa rápidamente y la tapa se coloca nuevamente.-

A continuación el aparato "Unidad" se hace girar unos diez minutos con el objeto de poner en íntimo contacto los líquidos en el recipiente exterior y luego se coloca en incubación a temperatura que no exceda de $30^{\circ}C$.-

Después de un tiempo conveniente para la absorción se quita la tapa y la titulación del ácido da la medida del amoníaco absorbido.-

El tiempo de absorción depende del volumen del líquido en el recipiente exterior, la cantidad y clase de álcali usado para liberar el amoníaco y la temperatura a la cual la absorción se realiza.-

El tiempo para la absorción con volúmenes de 1 ml. es más o menos de una hora a temperatura ambiente.-

DETERMINACION CUANTITATIVA DEL AMONIACO DESPLAZADO.-

Para valorar el amoniaco obtenido por cualquiera de los métodos citados anteriormente puede procederse de dos maneras diferentes, a saber:

- a) Por comparación colorimétrica.-
- b) Por titulación acidimétrica diferencial.-
- a) POR COMPARACION COLORIMETRICA.-

De los varios procedimientos que han sido propuestos para la valoración final del amoniaco por nesslerización ofrecen ciertas críticas pues el reactivo de Nessler tan extensamente usado en la determinación colorimétrica de pequeñas cantidades de amoniaco posee según Van Slyke y Hiller (80) ciertas desventajas. Si bien la Nesslerización ofrece la ventaja de ser muy simple y de necesitar el mínimo de reactivos, cuando los valores del amoniaco en el líquido analizado son débiles (y es el caso de las sangres normales) los tintes obtenidos son muy pálidos y casi imposible de apreciar con alguna precisión al colorímetro. Por otra parte cuando se opera sobre sangre el reactivo de Nessler da corrientemente con el destilado una coloración amarillo-verdosa muy diferente al color amarillo franco del testigo que hace a la comparación un tanto ilusoria. Esto sería debido a la presencia en la sangre de sustancias volátiles de naturaleza aldehídica.-

Además el compuesto coloreado es un coloide y como tal la profundidad del color dependerá del grado de dispersión y además es propenso a flocular. Para vencer las dificultades que se presentan en el empleo de este reactivo y aumentar la exactitud del método, dichos investigadores idearon un excelente procedimiento ba-

sado en el color azul desarrollado cuando una solución amoniacal es calentada con una solución alcalina de fenol-hipoclorito. Este reactivo fué utilizado primero para determinaciones cuantitativas por Thomas (81) quien atribuyó su descubrimiento a Berthelot (82) muchos años antes. Thomas lo encontró sensible para una dilución de nitrógeno amoniacal de 1:2.000.000 y lo usó para determinar amoniaco en el líquido cerebro-espinal (83). Además comprobó que la reacción es dada también por aminoácidos (monometilamina y glucocola) pero solo cuando se encuentran presentes en concentraciones mucho mayores al límite de sensibilidad del reactivo.-

Orr (84) utilizó la reacción con resultados satisfactorios para la determinación directa de amoniaco en la orina y Murray (85) para el amoniaco sanguíneo en microanálisis por el método de reacción de Folin y Denis, al que introduce algunas ligeras modificaciones para hacerlo más manuable reduciendo en lo posible las conexiones de goma.-

De acuerdo con Van Slyke y Hiller una dilución de 0.01 mg. de nitrógeno amoniacal en 2 ml. de solución (el valor mínimo obtenido en análisis de sangre) está justamente más allá del límite en el cual la solución de Nessler da un color perceptible; pero con esta dilución el reactivo de fenol-hipoclorito aún produce suficiente color para determinaciones cuantitativas aproximadas. Además el producto azul de la reacción con fenol-hipoclorito se comporta como una solución verdadera sin tendencia a precipitar, mientras que el producto coloreado obtenido como resultado de la reacción de Nessler, es prácticamente insoluble y su dispersión coloidal es muy factible de flocular en presencia del reactivo

alcohol caprílico. Su comportamiento hace que la nesslerización resulte inadecuada si se emplea el alcohol caprílico para evitar la espuma de la sangre durante la destilación, puesto que las leves cantidades llevadas a la solución recibidora pueden ser suficientes para causar la floculación. El reactivo fenol-hipoclorito, está libre de este inconveniente. Por otra parte, la sangre parece retener el alcohol suficientemente como para evitar el paso de cantidades relativamente grandes que podrían obscurecer la solución recibidora.-

Según Borsook (86) la técnica descrita por Van Slyke y Hiller para el uso del reactivo fenol-hipoclorito calentando durante tres minutos a baño maría hirviente, después del agregado de fenato e hipoclorito y enfriando a continuación rápidamente a temperatura ambiente, no es completamente satisfactoria para este propósito, porque la duración del calentamiento debe ser rigurosamente la misma para el desconocido y los testigos, sino se obtienen resultados desiguales.-

Además, al enfriar, el color cambia de tonalidades y alcanza su tonalidad máxima en un tiempo aproximado de 7 minutos, después de lo cual palidece lentamente, perdiendo de 10 á 15% de su color en una hora.-

Estos no son inconvenientes serios cuando solo una determinación ha de hacerse, especialmente si la proporción de amoníaco se conoce aproximadamente. Los testigos y el desconocido pueden tratarse juntos y cambiarán juntos.-

Estudiando los factores que afectan el desarrollo del color con el reactivo fenol-hipoclorito, Borsook propone una variación

de técnica que dió una intensidad de color, un 10% mayor, para una concentración dada de amoníaco y al mismo tiempo el color fué estable por lo menos una hora. Por lo tanto, estos adelantos llevan según el autor a una mayor estabilidad del color final y sensibilidad y especificidad aumentadas y por el uso adecuado de luz monocromática en el colorímetro, se obtiene una gran extensión de la región de relación lineal entre la intensidad del color y concentración. Esta precisión aumenta aun mas, reemplazando el colorímetro por el espectrofotómetro. Con esta modificación fué posible obtener todas las ventajas de un micrométodo, con una técnica que permite la medida de 0.0005 mg. de nitrógeno amoniacal por ml. de solución, con un error de más o menos 2%.-

Crismer (87) tomando como punto de partida el trabajo anterior, introduce en la determinación fotométrica del amoníaco por la reacción de Berthelot-Thomas diversas modificaciones, que lo perfeccionan y simplifican. Hallando difícil obtener hipoclorito alcalino de calidad uniforme, reemplaza el agua de Javel por una solución de paratoluol-sulfonacloramida sódica, mejor conocida con la denominación abreviada de cloramina T, que da soluciones de una fuerza estable a la temperatura del laboratorio si se la conserva al abrigo de la luz. Con las modificaciones citadas y de acuerdo con los resultados obtenidos, Crismer asegura que es posible valorar, con una aproximación muy suficiente, cantidades de nitrógeno amoniacal variables de 3 á 50 γ . Pero agrega, que si bien conviene para la valoración del amoníaco en la orina, en los líquidos de perfusión y en el estudio de la amoniogénesis tisular, no es suficientemente sensible para ser empleada en la

determinación del amoníaco sanguíneo, para lo cual perfeccionamientos ulteriores serán necesarios.-

Hansen y Nielsen (88) hallan con la técnica anterior, que variaciones pequeñas en el calentamiento producen grandes variaciones en los resultados, hecho que también Borsok y el mismo Crismer habían observado. Por lo tanto, se requiere una atención cuidadosa en el tiempo, siendo esto un serio inconveniente cuando tienen que realizarse muchos análisis.-

Los autores consideran que a todos los métodos basados en la reacción de Berthelot-Thomas se les podría objetar que el color es inestable y aunque resultados exactos pueden obtenerse cuando el método prescripto se sigue rigurosamente, puede observarse considerable error en el trabajo práctico rutinario, debido a pequeñas modificaciones de la técnica original.-

Según Hansen y Nielsen muchas de las dificultades encontradas es posible evitarlas reemplazando el fenol por el timol y el hipoclorito por el hipobromito. Considera al agua de Javel molesta para preparar y debe ser controlada periódicamente y el uso de la cloramina T crea nuevas dificultades.-

La reacción propuesta tiene por fundamento el hecho de que, cuando el amoníaco reacciona con timol é hipobromito, se forma un compuesto coloreado azul-verdoso que pasa completamente al éter isopropilo, constituyendo una solución que virando al color rosa llega a un rojo vivo utilizable para las determinaciones colorimétricas con el empleo del fotómetro de Pulfrich. El color que se obtiene es estable, no flocula ni palidece. Dejando una solución a temperatura ambiente durante una semana en un recipiente con ta-

pa esmerilada, no se observa ningún efecto considerable en su extinción. Con esto, el serio inconveniente del cálculo de la hora, se elimina. Por otra parte, el hipobromito de concentración conveniente, se prepara con facilidad mezclando simplemente agua de bromo saturada y solución de hidróxido de sodio.-

Con la citada técnica, cantidades de nitrógeno amoniacal que varían de 20 á 500 por ml. pueden ser determinados con un error aproximadamente de 2%.-

El método es tan sensible como los procedimientos basados en la reacción de Berthelot-Thomas descrito por Van Slyke y modificado por Borsook y Crismer.-

--

b) POR TITULACIÓN ACIDIMÉTRICA DIFERENCIAL.-

Pocas palabras pueden decirse a este respecto, excepto sobre ligeras modificaciones de técnica en la observación del vir final del indicador empleado en la titulación.-

La titulación es "a priori" más específica y más rigurosa que los métodos colorimétricos. La manipulación de las soluciones tituladas es evidentemente delicada y necesita precauciones especiales, pero es un obstáculo fácil de subsanar. El método ofrece por otra parte, una gran ventaja: Cuando se obtiene un resultado que parece anormal, permite la redestilación del amoníaco y una nueva determinación.-

Según Polonoskiy Boulanger (89) cuando se opera sobre sangre, la titulación acidimétrica diferencial da casi siempre cifras inferiores a los otros métodos, lo cual demostraría que en las reacciones coloreadas, intervienen otras sustancias además del amoníaco.-

Barnett (90) utiliza para la valoración una exacta microbureta, álcali 0.005 N., rojo de metilo como indicador en solución saturada en alcohol de 70° con el que un punto bueno final es satisfactoriamente obtenido con media gota (0.005 ml.) del álcali 0.005 N., y señala algunos detalles de titulación que parecen ofrecer ciertas ventajas cuando la cantidad total de amoniaco evaluable es muy pequeña, como en determinaciones del amoniaco sanguíneo.-

Gerard (91) determina el amoniaco sanguíneo volumétricamente, estableciendo que se puede con un error máximo de 5%, determinar cantidades de centésimas de milígramo, valor que correspondería a 10 ml. de sangre y los resultados que pueden obtenerse son de precisión suficiente para los métodos clínicos.-

Tashiro (92) emplea en el estudio de la producción de amoniaco en el nervio durante la excitación, como reactivo indicador, la mezcla de soluciones alcohólicas de azul de metileno y rojo de metilo (MB-MR), que hace más sensible la observación del cambio de color en el punto neutro.-

4) DATOS EXPERIMENTALES OBTENIDOS EN EL HOMBRE Y ANIMALES DE LABORATORIO (COBAYO).-

Para la determinación cuantitativa de la amoniemia normal en el hombre y cobayo, hemos adoptado entre los numerosos aparatos existentes para efectuar la destilación del amoniaco, uno del tipo de Parnas y Wagner (74) perfeccionado por Parnas y Heller (5) y modificado por Nico (94), que nos dió excelentes resultados. Este sencillo aparato se compone de un balón generador de vapor (A) en comunicación hacia la derecha con dos frascos lavadores colocados en serie conteniendo el mas externo (B) solución saturada de NaOH para fijar el CO₂ y el próximo (C) H₂SO₄ concentrado para retener el NH₃, sustancias estas que podrían existir en el ambiente del laboratorio. Por el lado opuesto, el generador de vapor va unido por intermedio de un tubo de vidrio, que lleva intercalada una llave de 3 vías (D), con el resto del aparato constituido por un balón (E) de 100 ml. que se adapta por cierre esmerilado perfecto, continuando hacia el lado izquierdo por un tubo de vidrio a dos bolas (F) en posición perpendicular, de las cuales la inferior es del tipo Hopkins, pero con la particularidad que el tubo interior curvado, está prolongado en la parte inferior hasta casi tocar la punta de dicha bola para evitar la retención de partículas del líquido destilado. Con idéntico fin Polonoski y Boulanger (89) modificaron el aparato de Parnas y Heller (5) introduciendo una "camisa termostática" de vidrio, rodeando las dos ampollas por la cual hacen circular vapor que provoca la evaporación del agua condensada en el interior de las citadas ampollas e impide a este nivel la condensación

de gotas de agua capaces de retener una fracción del amoníaco desplazado. A continuación posee un pequeño refrigerante (G) de 25 cm. de longitud y 3 cm. de diámetro a cuyo final se adapta por intermedio de una unión de goma, un tubo de vidrio (H) de construcción especial, de 25 cm. de largo, siendo en su parte superior doble, con un tubo lateral al que se conecta la goma de vacío de la trompa de agua y su parte inferior en forma de burbujeador de Folin (95).- Este tubo va colocado dentro de otro tubo (I) de 20 cm. de largo y 3 cm. de diámetro, obturado por un tapón de goma perforado para dar paso al tubo burbujeador. Hasta casi el fondo del balón (E) llega un tubo de vidrio unido por su parte superior a una ampolla de decantación y por debajo de la llave de esta al generador de vapor.-

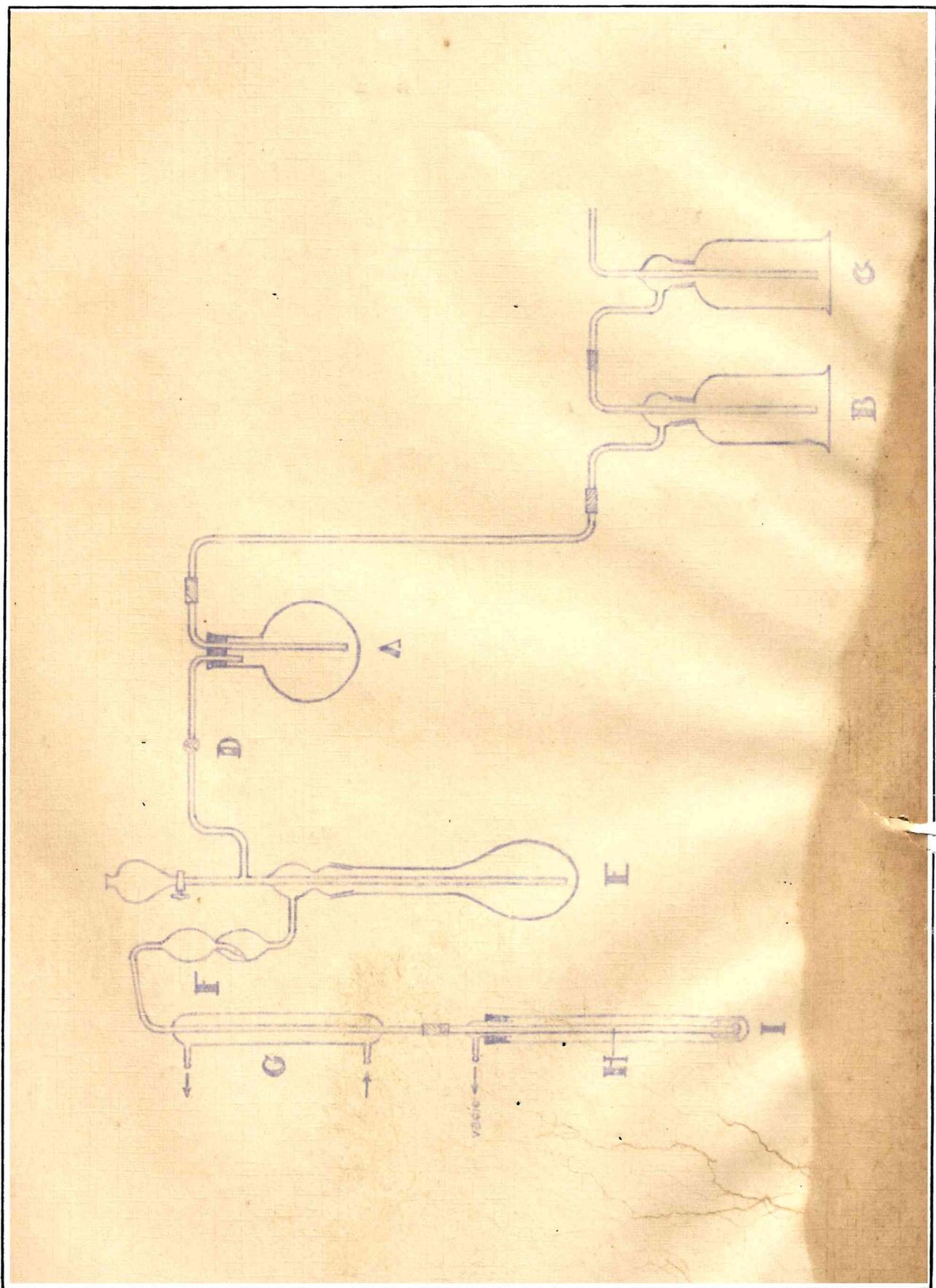
El aparato, desde el generador de vapor hasta el tubo burbujeador, posee una sola unión de goma y ella se encuentra después del refrigerante, por lo que se excluye el posible error derivado del ataque de la goma que puede alterar los resultados.-

EXPERIMENTACION:-

Para efectuar la destilación, calentamos el balón generador de vapor (A) hasta que se inicie la ebullición del agua bidestilada que contiene (la cual debe verificarse que está exenta de amoníaco), dejando escapar, por la llave de tres vías, el vapor hacia el exterior.-

Mientras tanto se coloca en el balón (A) la mezcla a destilar. En el tubo receptor (H) vertemos solución 0.005 N. de H_2SO_4 en cantidad conocida y suficiente para absorber completamente el amoníaco destilado y unas gotas de solución alcohólica al 0.1%

de rojo de metilo, previamente sensibilizado, como reactivo indicador y cantidad suficiente de agua bidestilada. Después de adaptado el tubo de desprendimiento al burbujeador y cuando comienza la ebullición en el frasco generador de vapor, se abre con precaución el paso de agua de la trompa y con una vuelta de la llave de tres vías (D), se comunica (A) con (E). Se regula a continuación la velocidad de la trompa y la ebullición en (A) con el objeto de que en (I) se produzca un gradual y lento burbujeo. La operación se prosigue por espacio de 10 minutos. Luego de terminada la destilación se desprende el tubo de fijación y sin sacar el burbujeador ni el líquido de su interior, para evitar la dilución del ácido en el agua del lavado, se procede a la titulación con solución 0.005 N. de NaOH, utilizando para tal fin una microbureta graduada al centésimo, adaptada a un frasco parafinado interiormente y aislado del exterior.-



SEGURIDAD DEL METODO.-

Para comprobar que grado de exactitud ofrece el citado procedimiento hemos efectuado recuperaciones de amoníaco utilizando una solución de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ al 0.2358 grs. por mil que contiene 5 γ de nitrógeno amoniacal por cada 0.1 ml. de solución.-

Los datos obtenidos figuran en la tabla I con un error promedio de $\pm 2.38\%$. Cifra muy aceptable en el cálculo del error experimental.-

TABLA I.-

N/NH ₃ calculado en γ .-	Tiempo de destilación en minutos.-	N/NH ₃ recuperado en γ .-	Cálculo del error por ciento.-
50	10	49.8	- 1.40
50	10	50.0	0
25	10	24.8	- 0.80
25	10	24.7	- 1.20
25	10	25.5	+ 2.0
25	10	26.0	+ 3.10
25	10	25.4	+ 2.60
25	10	25.0	0
25	10	23.8	- 4.80
25	10	25.0	0
12.5	10	13.0	+ 2.0
12.5	10	11.5	- 4.0
5	10	5.2	+ 4.0

5	10	5.0	0
5	10	5.4	♦ 8.0
5	10	5.2	♦ 4.0
5	10	5.2	♦ 4.0
5	10	5.1	♦ 2.0
5	10	5.0	0

Cálculo del Error promedio: ± 2.38

--

Demostrada como ha sido la bondad del aparato utilizado, hemos querido asegurarnos que efectivamente el nitrógeno valorado corresponde solo al amoníaco preformado, para lo cual realizamos los ensayos que a continuación se detallan (Tabla II y III) con sangre de cobayo obtenida por punción del corazón y analizada de acuerdo con el procedimiento de Parnas y Heller (5).-

Ante todo, la determinación del amoníaco en la sangre, para *realizarse con exactitud*, debe reunir necesariamente las condiciones siguientes: toma de la sangre tan rápidamente como sea posible y tratamiento instantáneo de las muestras recogidas; desplazamiento de amoníaco por un álcali bastante disociado é incapaz de hidrolizar en las condiciones de la experiencia los compuestos amoniogénicos sanguíneos; impedir tan completamente como sea posible, la producción autólítica del amoníaco.-

2 ml. de sangre extraída por punción del corazón, son tratados lo más rápidamente posible (dentro de los 60") con igual volumen de solución reguladora de borato de sodio de Parnas y Heller. Se coloca todo en el balón (E) del aparato destilador agregando 2 gotas de alcohol

oefílico normal, para evitar la formación de espuma que molestaría durante la operación.-

En el tubo receptor se vierten 2 ml. de solución 0.005 N de H_2SO_4 , unas gotas de indicador rojo de metilo y agua bidestilada exenta de amoníaco.-

A continuación se procede al arrastre por el vapor de agua del generador que previamente ha entrado en ebullición y se regula la velocidad convenientemente, con ayuda de la trompa de agua. Se mantiene el arrastre durante 10 minutos, cuidando de que la temperatura del balón no exceda de $30^{\circ}C$ mediante un adecuado baño de agua. Luego se procede a la titulación del exceso de ácido con solución 0.005 N. de NaOH.-

CALCULO:

$n \times 0.0007 \times 500 =$ Cantidad de N/ NH_3 en 1.000 ml. de sangre.-

$n =$ ml. de H_2SO_4 0.005 N. combinados.-

TABLA II.-

Determinación de la amoniemia en cobayos antes y después del agregado de aminoácidos y úrea.-

Cobayo	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml de sangre.-	Error por ciento.-
A	2	10	1.60	0.800	
A	2 + peptona y glucocola.	10	1.76	0.875	+ 9.3
B	2	10	1.60	0.800	0
B	2 + peptona y glucocola.	10	1.60	0.800	
C	2	10	1.30	0.650	+ 8.4
C	2 + peptona, glucocola y tirosina.	10	1.41	0.705	
D	2	10	1.29	0.645	+ 2.3
D	2 + peptona, glucocola y tirosina.	10	1.32	0.660	
E	2	10	1.32	0.660	0
E	2 + Urea	10	1.32	0.660	
F	2	10	1.30	0.650	0
F	2 + Urea	10	1.30	0.650	

Error promedio + 3.3

TABLA III.-

Determinación de la amoniemia en cobayos antes y después del agregado de aminoácidos, urea y N/NH₃ en cantidad conocida.-

Cobayo.	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en % hallado.	Error por ciento.-
A	2	10	1.56	- 1
A	2 + glucocola y 5 % de N/NH ₃	10	6.49	
B	2	10	1.64	- 1.88
B	2 + glucocola y 10 % de N/NH ₃	10	11.42	
C	2	10	2.30	+ 0.69
C	2 + glucocola y 15 % de N/NH ₃	10	17.42	
D	2	10	1.60	+ 0.86
D	2 + glucocola; peptona y 10 % de N/NH ₃	10	11.70	
E	2	10	1.95	+ 2.1
E	2 + glucocola; urea y 10 % de N/NH ₃	10	12.21	
F	2	10	1.89	+ 2.2
F	2 + peptona; urea y 10 % de N/NH ₃	10	12.15	

Error promedio ± 1.45

De los ensayos efectuados, se deduce de acuerdo con el error promedio hallado, que los aminoácidos y la úrea no molestan en la determinación de la amoniemia, no pudiendo por lo tanto el amoniaco valorado originarse por descomposición de los mismos. Es por el contrario, el amoniaco preformado, el que se libera completamente con la técnica analítica empleada.-

AMONIEMIA NORMAL HUMANA.-

Deseando conocer el valor de la amoniemia humana en nuestro medio, hemos efectuado las siguientes determinaciones que figuran en la tabla IV con un promedio para 38 determinaciones de 0.713 mg. de N/NH₃ para 1.000 ml. de sangre con valores extremos de 0.645 y 0.780 mg.-

Los análisis fueron realizados sobre sangre obtenida por punción de la vena del pliegue del codo en extracción abierta y tratada de acuerdo con la técnica descripta anteriormente.-

--

TABLA IV.-

Determinación N° :	Sexo	Edad	Cantidad de sangre, en ml.	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en γ hallado.	N/NH ₃ en mg. por mil. de sangre.
1	H	26	2	10	1.50	0.750
2	H	26	2	10	1.56	0.780
3	M	38	2	10	1.45	0.725
4	H	28	2	10	1.35	0.675
5	H	28	2	10	1.52	0.760
6	M	27	2	10	1.40	0.700
7	H	18	2	10	1.45	0.725
8	H	45	2	10	1.52	0.760
9	H	28	2	10	1.50	0.750
10	H	47	2	10	1.42	0.710
11	M	30	2	10	1.45	0.725
12	H	16	2	10	1.51	0.755
13	M	27	2	10	1.50	0.750

14	H	38	2	10	1.48	0.740
15	H	28	2	10	1.32	0.660
16	H	38	2	10	1.30	0.650
17	H	25	2	10	1.48	0.740
18	H	32	2	10	1.47	0.735
19	H	45	2	10	1.56	0.780
20	H	18	2	10	1.29	0.645
21	H	32	2	10	1.38	0.690
22	M	42	2	10	1.51	0.755
23	M	25	2	10	1.40	0.700
24	H	38	2	10	1.38	0.690
25	H	26	2	10	1.45	0.725
26	H	16	2	10	1.40	0.700
27	H	27	2	10	1.37	0.685
28	H	48	2	10	1.42	0.710
29	H	27	2	10	1.36	0.680
30	H	38	2	10	1.41	0.705
31	H	26	2	10	1.40	0.700
32	H	45	2	10	1.40	0.700
33	H	38	2	10	1.38	0.690
34	H	29	2	10	1.39	0.695
35	H	22	2	10	1.40	0.700
36	H	28	2	10	1.32	0.660
37	H	28	2	10	1.35	0.675
38	H	32	2	10	1.50	0.750

Valor promedio: 0.713

AMONTEMIA NORMAL EN ANIMALES DE LABORATORIO (COBAYO).-

La técnica analítica empleada es la citada en los ensayos preliminares, obteniendo como valor promedio de 76 determinaciones la cantidad de 0.950 mg. de N/NH₃ para 1.000 ml. de sangre con valores extremos de 0.650 y 1.430 mg.-

TABLA V.-

Determinación N ^o .	Cantidad de sangre en ml.	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en δ hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.
1	2	10	1.40	0.700
2	2	10	2.12	1.060
3	2	10	1.38	0.690
4	2	10	1.50	0.750
5	2	10	2.02	1.010
6	2	10	1.35	0.675
7	2	10	1.50	0.750
8	2	10	1.34	0.670
9	2	10	2.02	1.010
10	2	10	2.32	1.260
11	2	10	2.09	1.045
12	2	10	2.59	1.295
13	2	10	1.56	0.780
14	2	10	2.09	1.045
15	2	10	2.09	1.045
16	2	10	1.50	0.750
17	2	10	1.60	0.800
18	2	10	1.30	0.650

19	2	10	1.29	0.645
20	2	10	1.32	0.660
21	2	10	1.30	0.650
22	2	10	1.56	0.780
23	2	10	1.64	0.820
24	2	10	2.30	1.150
25	2	10	1.60	0.800
26	2	10	1.95	0.975
27	2	10	1.89	0.925
28	2	10	2.09	1.045
29	2	10	1.94	0.970
30	2	10	2.09	1.045
31	2	10	2.65	1.325
32	2	10	2.09	1.045
33	2	10	2.35	1.175
34	2	10	2.37	1.185
35	2	10	1.99	0.995
36	2	10	1.99	0.995
37	2	10	2.12	1.060
38	2	10	2.66	1.330
39	2	10	2.09	1.045
40	2	10	2.66	1.330
41	2	10	2.01	1.000
42	2	10	1.71	0.855
43	2	10	1.78	0.890
44	2	10	2.58	1.290
45	2	10	2.09	1.045

46	2	10	2.16	1.080
47	2	10	1.95	0.975
48	2	10	2.86	1.430
49	2	10	2.02	1.010
50	2	10	2.16	1.180
51	2	10	1.97	0.985
52	2	10	1.72	0.860
53	2	10	1.55	0.775
54	2	10	1.75	0.875
55	2	10	2.09	1.045
56	2	10	1.74	0.870
57	2	10	2.02	1.010
58	2	10	1.95	0.975
59	2	10	1.50	0.750
60	2	10	2.09	1.045
61	2	10	1.72	0.860
62	2	10	1.75	0.875
63	2	10	1.50	0.650
64	2	10	1.71	0.855
65	2	10	1.60	0.800
66	2	10	2.01	1.000
67	2	10	1.72	0.860
68	2	10	2.02	1.010
69	2	10	1.94	0.970
70	2	10	1.50	0.750
71	2	10	1.55	0.775
72	2	10	2.09	1.045
73	2	10	2.16	1.180

74	2	10	2.16	1.180
75	2	10	1.85	0.925
76	2	10	1.50	0.750

Valor promedio: 0.950

5) ACCIÓN DE LOS ANTICOAGULANTES EN LA AMONÍACOSIS RESPONSA-
IVA "IN VITRO".-

Numerosos autores han estudiado la formación autolítica de amoníaco en la sangre mantenida "in vitro" sin adición del reactivo de Farnas y Heller (5).-

El hecho que el amoníaco contenido en la sangre extraída bajo condiciones asépticas puede aumentar o disminuir durante un período de observación de 24 horas, fué referido primero por Nedvedow (48) quien encontró que la sangre oxalatada y conservada en condiciones asépticas durante 24 horas muestra un notable aumento de su contenido en amoníaco. El valor hallado fué de 14 mg. por 1.000 ml. en 24 horas en perros normales y bien nutridos y de 8 mg. por 1.000 ml. en sangre de animales en ayunas durante 45 días. La parte más interesante de este trabajo reposa en la discusión sobre la duración de los cambios en el amoníaco sanguíneo bajo las condiciones experimentales citadas. Así, en perros normales se observa un aumento inicial lento, el cual parece acelerarse a la manera de una reacción autocatalizada. En la sangre de perros tiroparatiroidectomizados hay mucho más rápido aumento, comenzando inmediatamente después de su extracción. Pero en ambos casos, en el transcurso de las primeras 24 horas, la cantidad de amoníaco originado ha sido constante y permanece estacionado alrededor del mismo nivel. Por el contrario en la sangre de perros en completo ayuno, hay un progresivo descenso durante las primeras 6 á 8 horas, después de lo cual aparece un lento y progresivo aumento que continúa durante las 20 á 25 horas subsiguientes, pero nunca alcanza el valor inicial.-

Medwedew concluye que en la sangre hay un equilibrio entre el amoníaco preformado y cierta cantidad de substancia o substancias que se descomponen con la liberación de amoníaco y explica su producción por un proceso de desaminación debido a la acción fermentativa sobre esas substancias capaces de originar el amoníaco. El proceso de su desaparición sería debido también a la acción fermentativa merced a la cual el amoníaco de la sangre formaría parte de un amino o amido compuesto. Estas reacciones, asegura, son catalizadas por una diamidasa o una enzima sintética del plasma, mientras que los glóbulos también contienen una diamidasa que difunde lentamente al plasma en la sangre extraída.-

De los resultados obtenidos de sus experiencias, concluye que en la sangre de perros normales las dos enzimas antagónicas del plasma están en equilibrio, pero después de la extracción hay una difusión de la diamidasa celular. En la sangre de perros tiro paratiroidectomizados la enzima sintética del plasma está disminuida en concentración. Mientras que en la sangre de perros en completo ayuno, la enzima sintética predomina al comienzo, pero es finalmente balanceada en su acción por la difusión de la diamidasa celular. Medwedew creyó que estas reacciones son tan constante que pueden ser representadas por fórmulas matemáticas.-

Polin (96) *destaca* como resultados de sus estudios experimentales, el proceso de la formación amoniaca en la sangre "in vitro" con estas palabras: "La sangre se descompone espontáneamente a todas las temperaturas, aun cuando se conserve en hielo, y el amoníaco así producido por descomposición de substancias lábiles en el curso de pocas horas, es mucho mas grande que el amoníaco preformado presente en la sangre recién extraída."

Con el objeto de determinar si con medidas asépticas la formación autolítica de amoníaco tiene lugar en los constituyentes difusibles de la sangre, Rohde (50) realizó experimentos de vividifusión en perros. Un aparato de vividifusión fué agregado a la circulación en perros bien nutridos y el amoníaco fué luego determinado en el dializado cuando el equilibrio se hubo obtenido entre el dializado y la sangre. En un experimento el dializado contenía 1.80 mg. de amoníaco por 1.000 ml. de sangre y en un segundo experimento 3.0 mg. Los resultados fueron comparados con los obtenidos en análisis directos de sangre extraída con precauciones asépticas empleando el procedimiento de aereación y titulación original de Folin y Denis. Cuando la aereación y la titulación fueron realizadas inmediatamente y a temperatura ordinaria, el valor obtenido fué de 7.20 mg. de N/NH_3 por 1.000 ml. de sangre. Cuando el cilindro de aereación fué colocado en hielo, el valor bajó a 2.80 mg. La misma sangre después de permanecer 24 horas en hielo con cloroformo y tolueno, al final de lo cual el examen bacteriológico resultó negativo, dió un valor de 17.80 mg. por 1.000 ml. cuando se aereó a temperatura ordinaria y 4.40 mg. cuando el cilindro de aereación permaneció en agua helada durante el análisis. Esto demuestra que en sangre recogida asépticamente y mantenida bajo condiciones asépticas, hay una liberación de amoníaco. Dado que Rohde no encontró aumento en el contenido de amoníaco en el dializado obtenido de la sangre circulante por el método de vividifusión, comparable al que tiene lugar bajo condiciones asépticas en sangre extraída, concluye que esta contiene sustancias lábiles de las cuales fácilmente se deriva amoníaco y que ellas deben ser buscadas en sus constituyentes no dializables.-

La formación espontánea de amoníaco en la sangre "in vitro" es estudiada por Parnas y Heller (5) y Parnas (97) en su vinculación con la temperatura, reacción y dilución tratando de verificar de qué naturaleza es su substancia generadora. Por sus experimentos comprueban que si dejan la sangre de conejo recién extraída en el vacío durante una hora a la temperatura de 20°C, su contenido en amoníaco varía a cada minuto, como consecuencia de una rápida y sistemática formación que asciende hasta 10 veces su valor inicial.- Este proceso continúa un poco más lentamente después de transcurridas 24 horas, hallándose un contenido de aproximadamente 20 mg. de N/NH₃ en 1.000 ml. de sangre. Además esta formación que se realiza con velocidad decreciente llega a paralizarse como si se fuese agotando la substancia madre de su formación. Los autores citados y Van Caulaert, Deviller y Urban (98) consideran a este proceso como de naturaleza anaerobia, cuyo asiento principal se encuentra sobre todo en los glóbulos rojos. La substancia generadora parece ser un cuerpo nitrogenado de la sangre, perteneciente a las combinaciones del nitrógeno no coloidal pero que no es urea ni aminoácidos, pues la adición de estos cuerpos no modifica su formación espontánea, y su valor en la sangre no varía paralelamente con el aumento de aquel amoníaco.-

El óptimo de su formación no está en el pH de la sangre genuina sino más o menos en la reacción de la sangre librada de CO₂ (pH 8.2) dependiendo su velocidad de liberación rigurosamente de él y en tal forma que a un valor de pH 9.2 se detiene casi por completo. Por otra parte, en una serie de experiencias prueban que la formación de amoníaco en la sangre "in vitro" se realiza

bajo la acción de un factor catalítico probablemente específico.-

Apoiado en el hecho que todo tejido sometido a la autólisis produce amoníaco, Fontes é Iovanovitch (10) consideran a la sangre como un tejido que no debe escapar a la ley común y que, sea por la presencia de una diastasa hidrolizante especialmente activa, sea porque encierra un compuesto más fácilmente transformable en amoníaco, es de los tejidos el que en este sentido es más sensible a la autólisis. En apoyo de la teoría de Parnas y Heller (5) y otros, sugieren que las substancias generadoras de amoníaco existen en la sangre en cantidad variable según las especies animales, pero la amoniogénesis "in vitro" depende exclusivamente de la acción de un agente catalítico seguramente específico. Stanoyevitch (7) ha efectuado estudios análogos a los de Parnas y Heller (5) pero al operar a diferentes temperaturas demostró que a 37°C el proceso es mucho más activo que a 20°C. Por los hechos observados, emite la hipótesis de que el principio amoniogénico de la sangre está constituido por dos substancias diferentes de las cuales una se descompone completamente a la temperatura de 20°C durante 24 horas de autólisis (substancia amoniogénica A); mientras que la descomposición de la otra no comenzaría sino a temperaturas más elevadas (37°C) y no terminaría sino después de un tiempo más o menos largo, pero solo parcialmente en las primeras 24 horas (substancia amoniogénica B). Además, si se conserva la sangre "in vitro" asépticamente durante 24 horas y más, a diferentes temperaturas, se obtienen resultados que indican todavía más netamente que la amoniogénesis autolítica es un proceso complejo, alcanzado esta formación a unos 8 mg. por

1.000 ml. de sangre, dejando la impresión precisa que la sustancia amoniogénica se descompone después de producida una cantidad determinada de amoniaco, lo cual fué sugerido anteriormente por Parnas y Heller (5).-

Conway (59) ha creído demostrar que el aumento progresivo de la concentración de amoniaco de la sangre humana "in vitro" es consecutivo a una pérdida de CO₂ al contacto del aire. Este fenómeno provocaría la liberación de amoniaco a partir de un complejo carbamínico, la adenosina, que es desaminada por un fermento, la adenosin-desaminasa, presente en la sangre.-

Nuevamente Conway en colaboración con Cooke (60) prosiguiendo las investigaciones, estudian la formación y origen del amoniaco después de la extracción sanguínea y los describen bajo tres ensambrazamientos principales: el α amoniaco, que se origina inmediatamente después de la extracción, completándose en los primeros cinco minutos, en proporción del 2% de la cantidad ^{total} originada y *consideran que esta fracción* puede originarse de la adenosina o posiblemente de pequeñas concentraciones de ácido adenílico libre, dependiendo la formación de una concomitante eliminación de CO₂; el β amoniaco que se demuestra deriva después de varias series de estados del ácido adenilpirofosfórico, terminando su formación entre 3 y 5 horas a temperatura ambiente, alcanzando el 80% del total de amoniaco originado en sangre estéril; y por último, el γ amoniaco que parece provenir del ácido adenílico vegetal, o adenildioxiribonucleotidina o alternativamente de sustancias liberadoras de ellos en el plasma y glóbulos rojos.-

Con respecto a la especificidad de la desaminación en sangre, han estudiado un gran número de sustancias conteniendo amino-

grupos o aminas volátiles para la posible desaminación, pero ninguna otra substancia excepto la adenosina o compuestos asociados, se ha encontrado, que dé amoníaco por defosforilación en proporciones apreciables o comparables con la formación normal de amoníaco en sangre extravasada.-

En el deseo de dilucidar en parte un punto hasta aquí obscuro cual es la posible acción enzimática "in vitro" sobre las substancias amoniogénicas de la sangre, que explicaría la producción espontánea de amoníaco en la sangre extravasada, nos hemos propuesto realizar el estudio que sobre esta acción tienen los anticoagulantes hemáticos del tipo "antifermentos" y otros como control. Para tal fin hemos efectuado una serie de experiencias sobre sangre humana normal extraída de la vena del pliegue del codo y conservada a temperatura de 5°C determinando su contenido de amoníaco, de acuerdo con la técnica de Parnas y Heller (5), en función del tiempo, durante las 10 primeras horas consecutivas a su recolección y empleando los siguientes ^{anti}coagulantes: Liqueide Roche; Fluoruro de sodio; Oxalato de potasio y perlas de cuarzo.-

LIQUOÏDE ROCHE: (Anetoldisulfonato sódico polimerizado), cuerpo sintético con propiedades anticoagulantes debido a la presencia en su molécula de grupos sulfonados con una acción semejante a la hirudina y estudiado en su acción antienzimática por (Higounet (109)). La proporción utilizada en los ensayos fué de 1 gramo para 1.000 ml. de sangre como lo preconizan Nattan-Larrier y Tchierniakofsky (100). Los datos experimentales obtenidos figuran en las tablas: VI; VII; VIII; IX; X y representadas en el gráfico - I - con su correspondiente valor promedio.-

TABLA NO VI.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en % hallado.	N/NH ₃ en mg por 1.000 ml. de sangre
29	H	1'	2	10	1.39	0.695
		30'	2	10	2.30	1.150
		1 hora	2	10	2.97	1.485
		2 horas	2	10	3.84	1.920
		4 horas	2	10	3.84	1.920
		6 horas	2	10	4.61	2.305
		10 horas	2	10	4.68	2.340

TABLA N° VII.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg por 1.000 ml. de sangre.-
18	H	1'	2	10	1.30	0.650
		30'	2	10	1.62	0.810
		1 hora	2	10	2.37	1.185
		2 horas	2	10	3.80	1.900
		4 horas	2	10	3.84	1.920
		6 horas	2	10	4.61	2.305
		10 horas	2	10	5.28	2.640

TABLA N° VIII.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg por 1.000 ml. de sangre.-
29	H	1'	2	10	1.39	0.695
		30'	2	10	2.35	1.175
		1 hora	2	10	2.50	1.250
		2 horas	2	10	3.50	1.750
		4 horas	2	10	3.90	1.950
		6 horas	2	10	4.60	2.300
		10 horas	2	10	5.10	2.550

TABLA N° IX.-

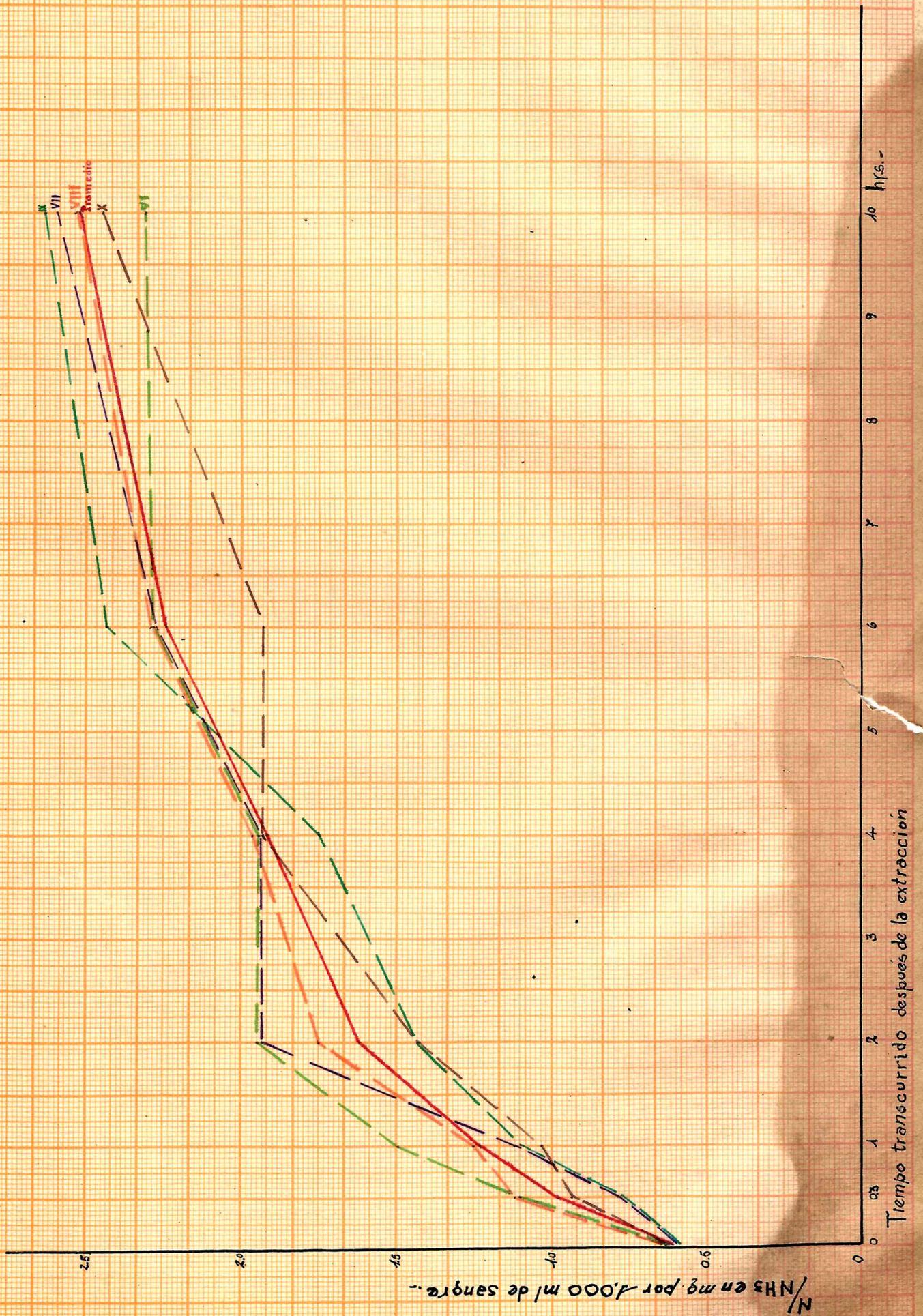
Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
18	H	1°	2	10	1.30	0.650
		30°	2	10	1.62	0.810
		1 hora	2	10	2.30	1.150
		2 horas	2	10	2.80	1.400
		4 horas	2	10	3.50	1.750
		6 horas	2	10	4.80	2.400
		10 horas	2	10	5.40	2.700

TABLA N° X.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
45	H	1°	2	10	1.40	0.700
		30°	2	10	1.80	0.900
		1 hora	2	10	2.09	1.045
		2 horas	2	10	2.80	1.400
		4 horas	2	10	3.80	1.900
		6 horas	2	10	3.80	1.900
		10 horas	2	10	4.84	2.420

— Gráfico I —

Variación de la amoniemia, su esquematización
Anticoagulante utilizado: Liguoido Roche.



FLUORURO DE SODIO: Empleado a la dosis de 2 gramos por mil ml. de sangre, cuya acción anticoagulante y antienzimática es perfectamente bien conocida. Las tablas: XI; XII; XIII; XIV; XV y XVI representan los valores parciales obtenidos y el gráfico - II - su esquematización correspondiente con la curva promedio hallada.-

--

TABLA N° XI.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
38	H	1'	2	10	1.30	0.650
		30'	2	10	1.60	0.800
		1 hora	2	10	1.78	0.890
		2 horas	2	10	2.30	1.150
		4 horas	2	10	2.30	1.150
		6 horas	2	10	2.87	1.435
		10 horas	2	10	3.40	1.700

TABLA N° XII.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en γ hallado.	N/NH ₃ en mg por 1000 ml de sangre.-
28	H	1°	2	10	1.32	0.660
		30°	2	10	1.70	0.850
		1 hora	2	10	2.09	1.045
		2 horas	2	10	2.35	1.175
		4 horas	2	10	2.50	1.250
		6 horas	2	10	3.10	1.550
		10 horas	2	10	3.88	1.940

TABLA N° XIII.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en γ hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
28	H	1°	2	10	1.32	0.660
		30°	2	10	1.70	0.850
		1 hora	2	10	2.50	1.250
		2 horas	2	10	3.00	1.500
		4 horas	2	10	3.70	1.850
		6 horas	2	10	3.70	1.850
		10 horas	2	10	4.20	2.100

TABLA N° XIV.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1000 ml. de sangre.-
38	H	1'	2	10	1.30	0.650
		30'	2	10	1.60	0.800
		1 hora	2	10	2.40	1.200
		2 horas	2	10	2.40	1.200
		4 horas	2	10	3.10	1.550
		6 horas	2	10	3.40	1.700
		10 horas	2	10	3.84	1.920

TABLA N° XV.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1000 ml. de sangre.-
27	H	1'	2	10	1.36	0.680
		30'	2	10	1.46	0.730
		1 hora	2	10	2.70	1.350
		2 horas	2	10	3.00	1.500
		4 horas	2	10	3.40	1.700
		6 horas	2	10	4.20	2.100
		10 horas	2	10	4.35	2.175

TABLA N° XVI.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en γ hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1000 ml. de sangre.-
27	H	1°	2	10	1.36	0.680
		30°	2	10	1.46	0.730
		1 hora	2	10	3.28	1.640
		2 horas	2	10	3.40	1.700
		4 horas	2	10	3.40	1.700
		6 horas	2	10	3.70	1.850
		10 horas	2	10	3.84	1.920

OXALATO DE POTASIO: El oxalato utilizado en las experiencias de control ha sido la sal neutra de potasio en la concentración óptima de 2 gramos para 1.000 ml. de sangre. Los datos experimentales hallados figuran en las tablas: XVII; XVIII; XIX; XX; XXI y XXII, representadas en el gráfico - III - con los valores promedios correspondientes.-

TABLA N° XVII.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1000 ml. de sangre.-
37	H	1'	2	10	1.38	0.690
		30'	2	10	2.30	1.150
		1 hora	2	10	3.20	1.600
		2 horas	2	10	4.00	2.000
		4 horas	2	10	5.00	2.500
		6 horas	2	10	5.20	2.600
		10 horas	2	10	5.20	2.600

TABLA N° XVIII.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1000 ml. de sangre.-
45	H	1°	2	10	1.40	0.700
		30°	2	10	1.58	0.790
		1 hora	2	10	2.98	1.490
		2 horas	2	10	3.60	1.800
		4 horas	2	10	4.80	2.400
		6 horas	2	10	5.00	2.500
		10 horas	2	10	5.10	2.550

TABLA N° XIX.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
27	H	1°	2	10	1.37	0.685
		30°	2	10	1.90	0.950
		1 hora	2	10	3.00	1.500
		2 horas	2	10	3.80	1.900
		4 horas	2	10	5.20	2.600
		6 horas	2	10	5.40	2.700
		10 horas	2	10	5.52	2.760

TABLA N° XX.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en γ hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
37	H	1°	2	10	1.38	0.690
		30°	2	10	2.30	1.150
		1 hora	2	10	2.80	1.400
		2 horas	2	10	3.80	1.900
		4 horas	2	10	4.80	2.400
		6 horas	2	10	5.20	2.600
		10 horas	2	10	5.70	2.850

TABLA N° XXI.-

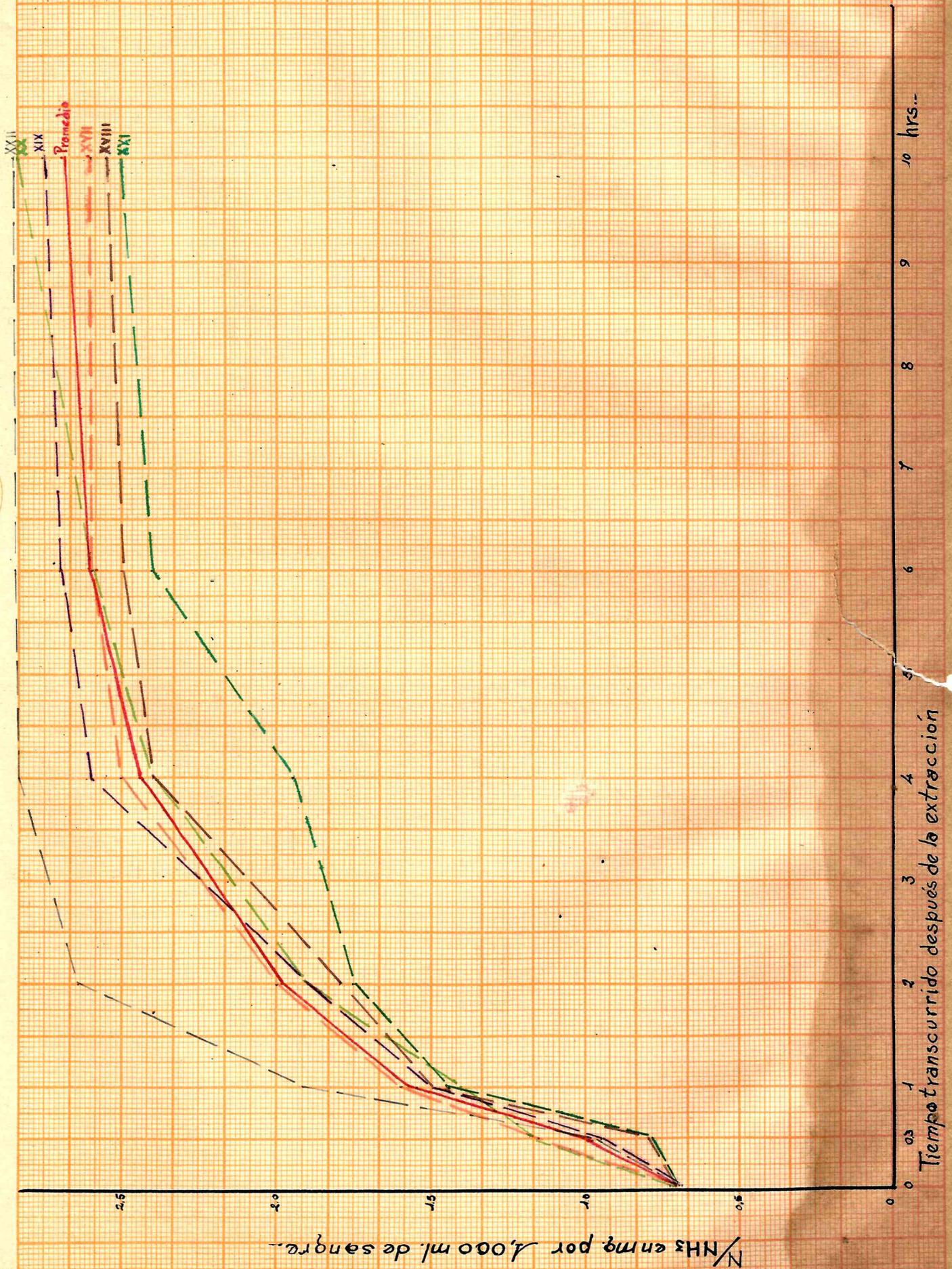
Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en γ hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
45	H	1°	2	10	1.40	0.700
		30°	2	10	1.58	0.790
		1 hora	2	10	2.90	1.450
		2 horas	2	10	3.50	1.750
		4 horas	2	10	3.90	1.950
		6 horas	2	10	4.90	2.400
		10 horas	2	10	5.00	2.500

TABLA N° XXII.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en γ hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
27	H	1'	2	10	1.37	0.685
		30'	2	10	1.90	0.950
		1 hora	2	10	3.84	1.920
		2 horas	2	10	5.28	2.640
		4 horas	2	10	5.62	2.810
		6 horas	2	10	5.80	2.900
		10 horas	2	10	5.82	2.910

Gráfico III

Variación de la amoniemia, su esquematización.
Anticoagulante utilizado: oxalato de potasio.



PERLAS DE CUARZO: Empleadas en las experiencias de control evitando el agregado de anticoagulante a la sangre; representados en las tablas: XXIII; XXIV; XXV; XXVI y XXVII. Los datos obtenidos y esquematizados en el gráfico - IV - con la correspondiente curva promedio.-

TABLA N° XXIII.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en δ hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
18	H	1'	2	10	1.32	0.660
		30"	2	10	3.20	1.600
		1 hora	2	10	4.01	2.005
		2 horas	2	10	4.90	2.450
		4 horas	2	10	5.20	2.600
		6 horas	2	10	6.00	3.000
		10 horas	2	10	6.03	3.015

TABLA N° XXIV.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
32	H	1'	2	10	1.38	0.690
		30'	2	10	2.19	1.095
		1 hora	2	10	4.10	2.050
		2 horas	2	10	4.52	2.260
		4 horas	2	10	5.94	2.970
		6 horas	2	10	5.94	2.970
		10 horas	2	10	6.15	3.075

TABLA N° XXV.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
18	H	1'	2	10	1.32	0.660
		30'	2	10	3.20	1.600
		1 hora	2	10	4.20	2.100
		2 horas	2	10	5.10	2.550
		4 horas	2	10	5.52	2.760
		6 horas	2	10	6.50	3.250
		10 horas	2	10	6.90	3.250

TABLA N° XXVI.-

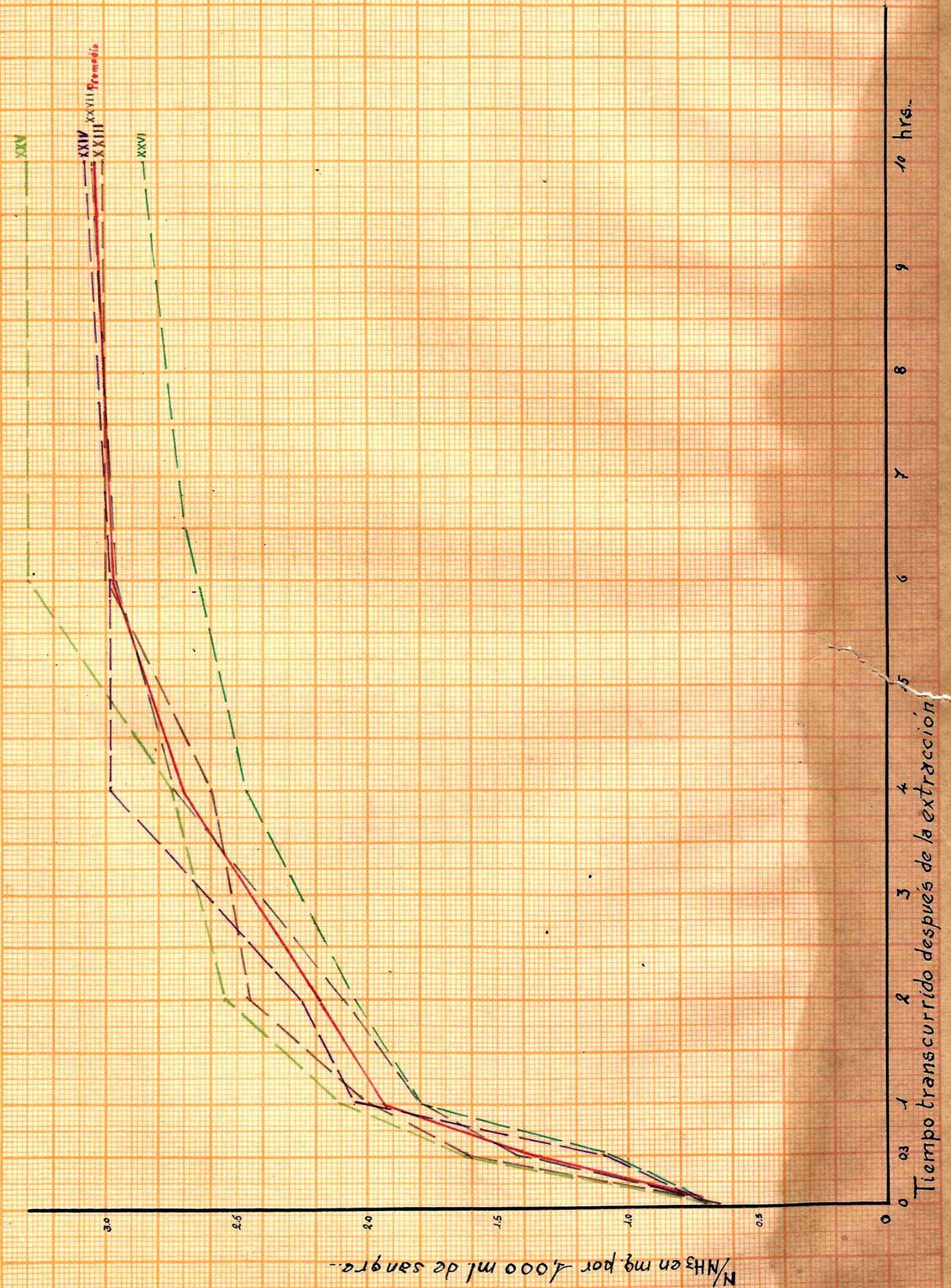
Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
32	H	1'	2	10	1.38	0.690
		30'	2	10	2.19	1.095
		1 hora	2	10	3.59	1.795
		2 horas	2	10	4.10	2.050
		4 horas	2	10	4.94	2.470
		6 horas	2	10	5.43	2.715
		10 horas	2	10	5.73	2.865

TABLA N° XXVII.-

Edad	Sexo	Tiempo después de la extracción.-	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
28	H	1'	2	10	1.35	0.675
		30'	2	10	2.84	1.420
		1 hora	2	10	3.59	1.795
		2 horas	2	10	4.20	2.100
		4 horas	2	10	5.52	2.760
		6 horas	2	10	5.94	2.970
		10 horas	2	10	6.10	3.050

Gráfico IV

Variación de la amoniemia, su esquematización..
Desfibrinación con perlas de cuarzo..



Supuesta la posible existencia de una acción enzimática en el fenómeno de la amoniogénesis autolítica en la sangre "in vitro", nos propusimos comprobar si en realidad el supuesto agente catalítico corresponde a un factor enzimático, tratando de dilucidarlo por su comportamiento bajo la acción de la temperatura. Para ello efectuamos ensayos sometiendo la sangre extraída a un calentamiento en baño de agua regulado a la temperatura de 56°C. Los datos experimentales obtenidos apoyan la posible intervención enzimática en la amoniogénesis espontánea, siendo dicho factor termolábil pues parece destruirse en parte por un calentamiento a 56°C durante una hora.-

Las cifras hallados figuran en las tablas XXVIII; XXIX; XXX y gráfico -V- que corresponden a los valores del amoníaco sanguíneo después de un calentamiento a 56°C durante los primeros 30 minutos consecutivos a la recolección de la sangre y mantenida a 5°C durante las 4 horas subsiguientes. Las tablas XXXI; XXXII; XXXIII y gráfico -VI- son los valores obtenidos como en el caso anterior pero luego de someter la sangre a un calentamiento más prolongado, de una hora.-

TABLA N° XXVIII.-

Edad	Sexo	Experimentación	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en δ hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
32	H	1° (Valor inicial)	2	10	1.35	0.675
		30° (Calentamiento a 56°C. 30°)	2	10	13.05	6.525
		1 hora (Conservada a 5° C)	2	10	8.25	4.125
		2 horas (id)	2	10	8.20	4.100
		3 horas (id)	2	10	8.80	4.400
		4 horas (id)	2	10	8.52	4.260

TABLA Nº XXIX.-

Edad	Sexo	Experimentación	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
25	H	1° (Valor inicial)	2	10	1.30	0.650
		30° (Calentamiento a 56° 0.30°)	2	10	10.85	5.425
		1 hora (Conservada a 5° C.)	2	10	6.61	3.305
		2 horas (id)	2	10	5.61	2.805
		3 horas (id)	2	10	5.69	2.845
		4 horas (id)	2	10	5.08	2.540

TABLA N° XXX.-

Edad	Sexo	Experimentación	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en % hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.
29	H	1° (Valor inicial)	2	10	1.32	0.660
		30° (Calentamiento a 56° C. 30')	2	10	12.52	6.260
		1 hora (Conservada a 5° C.)	2	10	7.48	3.740
		2 horas (1d)	2	10	6.08	3.040
		3 horas (1d)	2	10	5.31	2.655
		4 horas (1d)	2	10	4.91	2.455

Gráfico V

Amonioqénesis de la sangre "in vitro"

Calentamiento a 56°C durante 30 minutos.

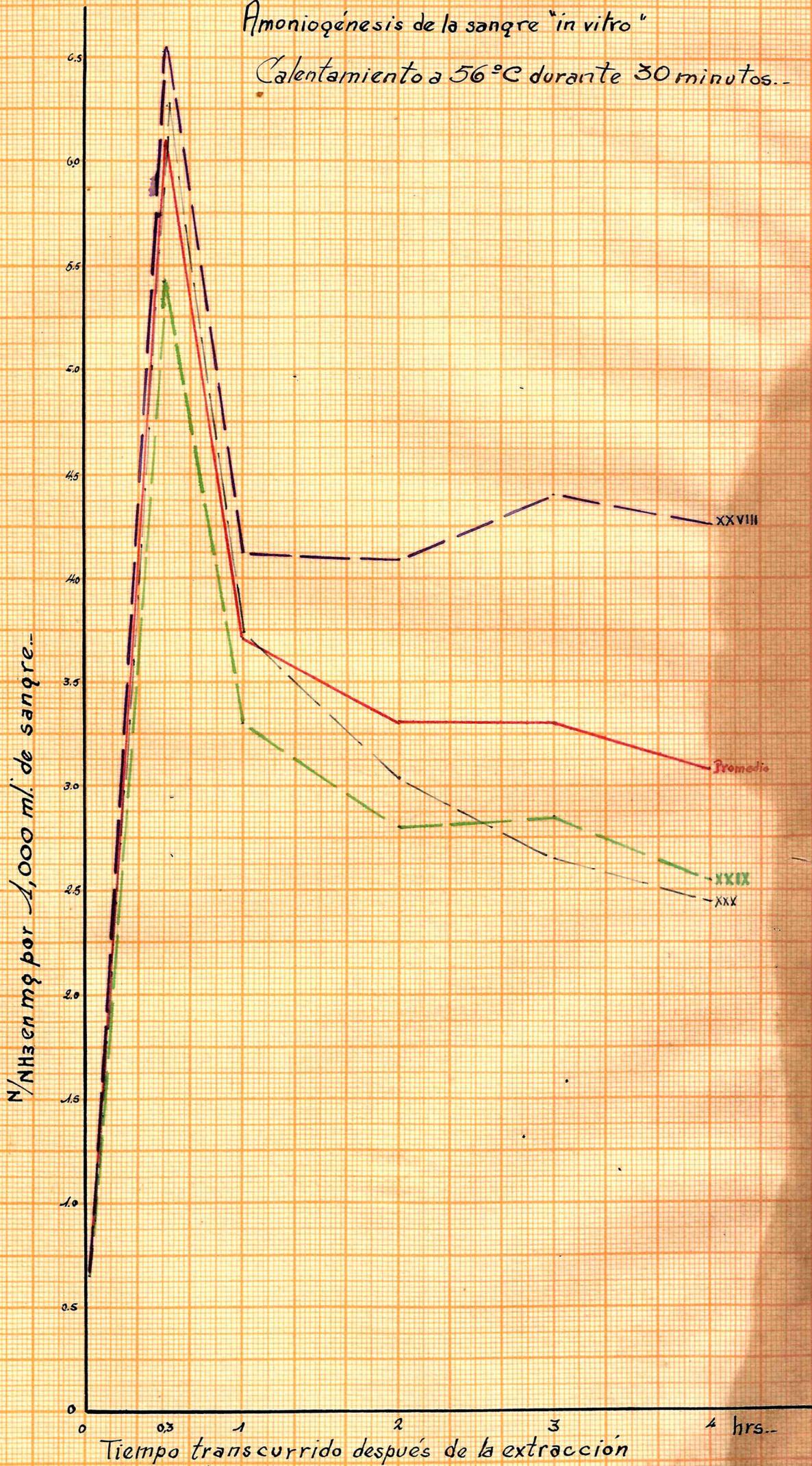


TABLA N° XXXI.-

Edad	Sexo	Experimentación	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
25	H	1° (Valor inicial)	2	10	1.30	0.650
		1 hora (Calentamiento a 56°C. 60°)	2	10	6.61	3.305
		2 horas (Conservada a 50° C).	2	10	4.34	2.170
		3 horas (id)	2	10	4.62	2.310
		4 horas (id)	2	10	4.49	2.245

TABLA N° XXXII.-

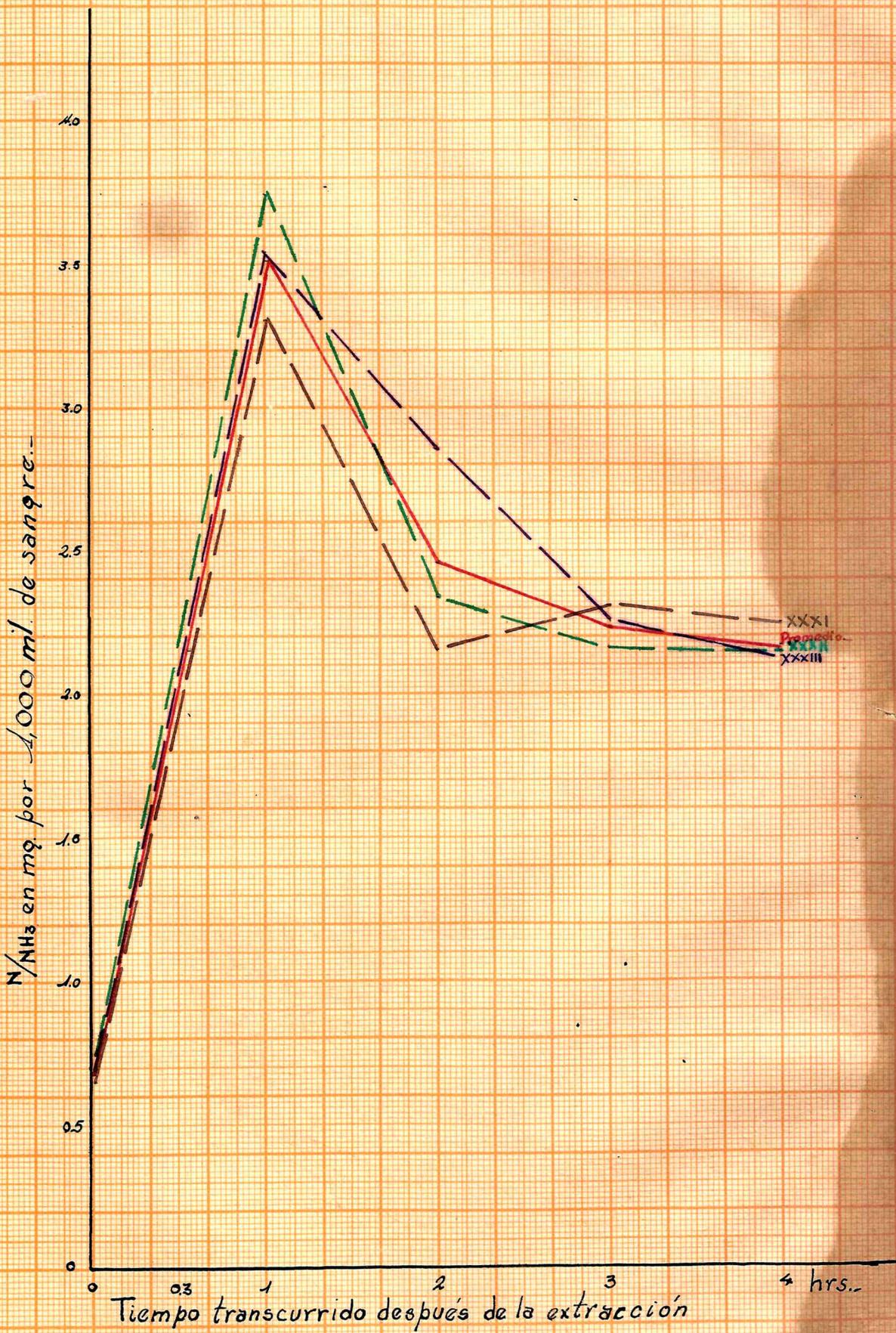
Edad	Sexo	Experimentación	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
28	H	1° (Valor inicial)	2	10	1.50	0.750
		1 hora (Calentamiento a 56° C. 60°)	2	10	7.48	3.740
		2 horas (Conservada a 5° C.)	2	10	4.68	2.340
		3 horas (1d)	2	10	4.33	2.165
		4 horas (1d)	2	10	4.30	2.150

TABLA N° XXXIII.-

Edad	Sexo	Experimentación	Cantidad de sangre en ml.-	Tiempo de destilación en minutos.	N/NH ₃ en hallado.	N/NH ₃ en mg. por 1.000 ml. de sangre.-
32	H	1° (Valor inicial)	2	10	1.35	0.675
		1 hora (Calentamiento a 56° C. 60')	2	10	7.09	3.545
		2 horas (Conservada a 5° C).	2	10	5.73	2.865
		3 horas (id)	2	10	4.54	2.270
		4 horas (id)	2	10	4.25	2.125

Gráfico VI

Amoniogenesis espontánea en la sangre "in vitro"
Calentamiento a 56°C durante 1 hora.



CONCLUSIONES:

1º: He tenido oportunidad de utilizar, para la evaluación de la amoniemia por la técnica analítica de Parnas y Heller, el dispositivo indicado por Nico para la microdeterminación del nitrógeno amoniacal. El error registrado fué de ± 2.38 por ciento, valor aceptable para las exigencias de la química clínica.-

2º: Como promedio de la amoniemia humana normal en nuestro medio he obtenido la cantidad de 0.713 mg. de N/NH₃ por litro de sangre, con valores extremos de 0.780 y 0.645.-

Para la amoniemia del cobayo obtuve como promedio 0.950 mg. de N/NH₃ por litro de sangre, con cifras extremas de 1.430 y 0.650.-

3º: Como consecuencia del comportamiento con los anticoagulantes del tipo "antifermento" y aceptando que se trate de un factor termolábil, pues parece destruirse parcialmente por calentamiento a 56° C. durante una hora, se puede admitir, provisoriamente, que el agente que interviene en la amoniogénesis espontánea de la sangre "in vitro", sea de naturaleza enzimática.-

B I B L I O G R A F I A

- (1) - M. Nencki y J. Zaleski.- Z. Physiol. Chem.
33 - 193 - 1901.-
- (2) - V. Henriques y E. Gottlieb.- Z. Physiol. Chem.
139 - 254 - 1924.-
- (3) - G. Fontés y M.A. Iovanovitch.- Compt. Rend. Soc. Biol.
92 - 1406 - 1925.-
- (4) - T. P. Nash y S.R. Benedict.- J. Biol. Chem.
48 - 463 - 1921.-
- (5) - J.K. Parnas y J. Heller.- Biochem. Z.
152 - 1 - 1924.-
- (6) - M.A. Klisicki.- Biochem. Z.
172 - 442 - 1926.-
- (7) - M.L. Stanoyevitch.- Bull. Soc. Chem. Biol.
13 - 579 - 1931.-
- (8) - G. Fontés.- Bull. Soc. Chem. Biol.
8 - 497 - 1926.-
- (9) - J.K. Parnas y A. Klisicki.- Biochem. Z.
169 - 255 - 1926.-
- (10) - G. Fontés y M.A. Iovanovitch.- Bull. Soc. Chem.
7 - 1044 - 1925.-
- (11) - J.K. Parnas.- Bull. Soc. Chem. Biol.
9 - 76 - 1927.-
- (12) - I. Bang.- Biochem. Z.
72 - 144 - 1916.-
- (13) - O. Folin y W. Denis.- J. Biol. Chem.
11 - 87 - 1912.-
- (14) - O. Folin y W. Denis.- J. Biol. Chem.
11 - 161 - 1912.-
- (15) - S. Matthews y E.M. Miller.- J. Biol. Chem.
15 - 86 - 1913.-
- (16) - C.H. Fiske y H.T. Karsner.- J. Biol. Chem.
18 - 381 - 1914.-
- (17) - C. Jacobson.- J. Biol. Chem.
18 - 133 - 1914.-
- (18) - G. Barnett y T. Addis.- J. Biol. Chem.
30 - 41 - 1917.-

- II -

- (19) - H. Bernard y J. Besançon.- Compt. Rend. Soc. Biol.
100 - 638 - 1929; idem 100 - 713 - 1929.-
- (20) - T.P. Nash y S.R. Benedict.- J. Biol. Chem.-
51 - 183 - 1922.-
- (21) - R.F. Loeb; D.W. Atchley y E.M. Benedict. J. Biol. Chem.
60 - 491 - 1924.-
- (22) - B.M. Hendrix y J.M. Bodansky.- J. Biol. Chem.
60 - 657 - 1924.-
- (23) - S. Russell.- Biochem. J.
17 - 72 - 1923.-
- (24) - E.M. Shih.- J. Urol.
35 - 82 - 1936.-
- (25) - K.L. Gad-Andersen.- J. Biol. Chem.
39 - 267 - 1919.-
- (26) - S. Bliss.- J. Biol. Chem.
67 - 109 - 1926.-
- (27) - P. Briggs.- J. Biol. Chem.
104 - 231 - 1934.-
- (28) - S. Bliss.- J. Biol. Chem.
78 - VIII - 1928.
J. Pharmacol.
40 - 171 - 1930.-
- (29) - S. Bliss.- J. Biol. Chem.
81 - 137 - 1929.-
- (30) - T.P. Nash y S.R. Benedict.- J. Biol. Chem.
69 - 381 - 1926.
- (31) - J.K. Parnas; W. Mozolowski y W. Lewinski.- Biochem. Z.
118 - 15 - 1927.-
- (32) - M.L. Stanoyevitch.- Biochem. Z.
239 - 257 - 1931.-
- (33) - M. Polonowski; P. Boulanger y G. Bizard.- Bull. Acad. Medi-
cale.-
108 - 1272 - 1932.-
Bull. Soc. Chem. Biol.
(15 - 863 - 1933.-
Compt. Rend. Soc. Biol.
112 - 193 - 1933.-
Biochem. Medicale.
Pag. 3 - 1939.-
- (34) - M. Polonowski; P. Boulanger y G. Bizard.- Compt. Rend.
196 - 1147 - 1933.-
- (35) - H. Koprowski y H. Uninski.- Biochem. J.
33 - 747 - 1933.-

- III -

- (36) - M.L. Stanoyevitch y S. Petkovitch.- Compt.Rend.Soc.Bio.
118 - 345 - 1935.-
- (37) - J. Monguio.- Compt. Rend. Soc. Biol.
118 - 1014 - 1935.-
- (38) - M. Polonowski; P. Boulanger y G. Bizard.-Compt.Rend.Soc.
Biol.-
198 - 1815 - 1934.-
- (39) - M. Polonowski; P. Boulanger y Oudar.- Compt. Rend. Soc.
Biol.-
128 - 604 - 1938.-
- (40) - M. Myers.- J. Biol. Chem.
41 - 119 - 1920.-
- (41) - M. Florkin y R. Houst.- Compt. Rend. Soc. Biol.
127 - 843 - 1938.-
- (42) - M. Florkin y H. Renwart.- Compt. Rend. Soc. Biol.
131 - 1274 - 1939.-
- (43) - M. Florkin y G. Frappez.- Compt. Rend. Soc. Biol.
132 - 486 - 1939.-
- (44) - J. Carlson y G. Jacobson.- Am. J. Physiol.
25 - 403 - 1909.-
- (45) - L. Wolff y W. Harriott.- Biochem. Z.
26 - 165 - 1910.-
- (46) - J. Carlson y G. Jacobson.- Am. J. Physiol.
28 - 133 - 1911.-
- (47) - R. Holpkins y W. Denis.- J. Biol. Chem.
10 - 407 - 1911.-
- (48) - A. Medwedew.- Z. Physiol. Chem.
72 - 410 - 1911.-
- (49) - W. Denis.- J. Biol. Chem.
16 - 389 - 1914.-
- (50) - A. Rohde.- J. Biol. Chem.
21 - 325 - 1915.-
- (51) - O. Gettler y W. Baker.- J. Biol. Chem.
25 - 211 - 1916.-
- (52) - D. Henriques y E. Christiansen.- Biochem. Z.
78 - 165 - 1916.-
- (53) - G. Barnett.- J. Biol. Chem.
29 - 459 - 1917.-
- (54) - S. Morgulis y H.K. Jahr.- J. Biol. Chem.
38 - 435 - 1919.-

- IV -

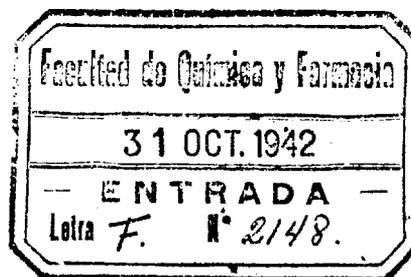
- (55) - P. Gerard.- Compt. Rend. Soc. Biol.
1 - 1186 - 1919.-
- (56) - K.L. Gad-Andersen.- J. Biol. Chem.
51 - 366 - 1922.-
- (57) - A. Bisgaard y J. Noervig.- Compt. Rend. Soc. Biol.
88 - 813 - 1923.-
- (58) - M. Labbé; F. Nèpreux y Hejda.- Compt. Rend.
188 - 738 - 1929.-
- (59) - E.J. Conway.- Biochem. J.
29 - 2755 - 1935.-
- (60) - E.J. Conway y R. Cooke.- Biochem. J.
33 - 457 - 1939.-
- (61) - A. Bisgaard y J. Noervig.- Compt. Rend. Soc. Biol.
88 - 815 - 1923.-
- (62) - M. Labbé; F. Nèpreux y Hejda.- Compt. Rend.
188 - 740 - 1929.-
- (63) - I. Djuricic y D. Zivanovic.- Compt. Rend. Soc. Biol.
110 - 493 - 1932.-
- (64) - I. Djuricic.- Compt. Rend. Soc. Biol.
110 - 496 - 1932.-
- (65) - C. Van Caulaert y Ch. Devillier.- Compt. Rend. Soc. Biol.
111 - 50 - 1932.-
- (66) - C. Van Caulaert y Ch. Devillier.- Compt. Rend. Soc. Biol.
111 - 735 - 1932.-
- (67) - C. Van Caulaert; Ch. Devillier y M. Halff.- Compt. Rend.
Soc. Biol.
114 - 737 - 1932.-
- (68) - C. Van Caulaert; Ch. Devillier y I. Hofstein.- Compt.
Rend. Soc. Biol.
114 - 739 - 1932.-
- (69) - L. Stanoyevitch y S. Petkovitch.- Compt. Rend. Soc. Biol.
123 - 430 - 1936.-
- (70) - O. Folin y W. Denis.- J. Biol. Chem.
11 - 527 - 1912.-
- (71) - O. Folin y Ch.J. Farmer.- J. Biol. Chem.
11 - 493 - 1912.-
- (72) - O. Folin y A.B. Mac Callum.- J. Biol. Chem.
11 - 493 - 1912.-
- (73) - J.C. Bock y S.R. Benedict.- J. Biol. Chem.
20 - 47 - 1915.-

- (74) - J.K. Farnas y R. Wagner.- Biochem. Z.
125 - 253 - 1921.-
- (75) - I. Goldberg y R.F. Banfi.- Rev.Soc.Arg.Biol.
11 - 440 - 1935.-
- (76) - E. Pohorecka-Lelez.- Bull. Soc. Chem. Biol.
8 - 178 - 1926.-
- (77) - G. Folin.- J. Biol. Chem.
29 - 259 - 1919.-
- (78) - K.L. Gad-Andersen.- J. Biol. Chem.
51 - 366 - 1922.-
- (79) - E.J. Conway y A. Byrne.- Biochem. J.
27 - 419 - 1933.-
- (80) - D. Van Slyke y A. Hiller.- J. Biol. Chem.
102 - 499 - 1933.-
- (81) - P. Thomas.- Bull. Soc. Chim.
11 - 797 - 1912.-
- (82) - R. Berthelot.- Repert. Chim. Appliquées.
Pag. 284 - 1859.-
- (83) - P. Thomas.- Bull. Soc. Chim.
13 - 398 - 1913.-
- (84) - A.P. Orr.- J. Biol. Chem.
18 - 806 - 1924.-
- (85) - M.M. Murray.- Biochem. J.
X. 19 - 294 - 1925.-
- (86) - H. Borscock.- J. Biol. Chem.-
110 - 480 - 1935.-
- (87) - M.R. Crismer.- Bull. Soc. Chim. Biol.
19 - 1000 - 1937.-
- (88) - A. Hansen y V. Nielsen.- J. Biochem.
131 - 309 - 1939.-
- (89) - M. Polonowski y P. Boulanger.- Bull. Soc. Chim. Biol.
17 - 944 - 1935.-
- (90) - G. Barnett.- J. Biol. Chem.
29 - 460 - 1919.-
- (91) - P. Gerard.- Compt. Rend. Soc. Biol.
1 - 1188 - 1919.-
- (92) - S. Tashiro.- Am. J. Physiol.
60 - 519 - 1922.-

- (94) - R. Nico.- Tesis Fac. Quim. y Farm.
La Plata.- 1938.-
- (95) - O. Polin.- J. Biol. Chem.
94 - 140 - 1932.-
- (96) - O. Polin.- J. Biochem.
11 - 523 - 1912.-
- (97) - J.K. Parnes.- Biochem Z.
155 - 247 - 1925.-
- (98) - O. Van Caulaert; Ch. Devillier y M. Urban.- Compt. Rend.
Soc. Biol.-
112 - 293 - 1933.-
- (99) - H. Rigouret.- Compt. Rend. Soc. Biol.
125 - 119 - 1937.-
- (100) - R. Nattan-Larrier y F. Tchierniakofsky.- Compt. Rend. Soc.
Biol.
120 - 857 - 1935.-

--

J. M. M. M.



La Plata, Noviembre 3 de 1942.

De acuerdo con lo dispuesto en el Art. 90 inciso e) del Reglamento en vigencia, designase a los señores profesores. Dns. Jorge Gascon, Humberto Giovambattista, Paul Nico, Arturo Salari. Una que con la presidencia del suscripto, constituyan la comisión que debiera estudiar y aceptar o no, el presente trabajo de tesis, dentro del término de veinte días a partir de la fecha.

[Signature]

[Signature]

Considero que el presente trabajo puede aceptarse.

La Plata, Noviembre 12 / 1942

[Signature]

Señor Decano:

Opino que el trabajo de tesis presentado por el Señor Roberto Formenti, puede ser aceptado.

La Plata 16 de noviembre 1942

[Signature]

Considero que el presente trabajo puede ser aceptado.

La Plata, Noviembre 17 de 1942

[Signature]

Señor Decano:

A mi juicio, el presente trabajo merece ser aceptado.

La Plata, noviembre 18 de 1942

[Signature]



EXPEDIENTE, letra núm. año

Señor Decano:

A juicio del suscrito el trabajo
presentado por el ex-alumno Sr.
Gormenti puede ser aceptado.

La Plata noviembre 28

Arturo J. Solari