

SEGUNDA PARTE

DA TÉCNICA DA REAÇÃO DE HANGER

pelo

Dr. Domingos T. Clausell

O limitado uso que se tem feito da prova de Hanger em nosso meio deve-se, em grande parte, à suposta dificuldade em se obter o antígeno, isto é, a solução etérea de cefalina e colesterol, da qual se parte para obter a suspensão que se emprega na prova.

Na realidade, a preparação do antígeno está ao alcance de qualquer laboratório clínico, como se verá adiante na transcrição da técnica. (Simmons e Gentzkow 1) segundo o processo de Erwin Chargaff (Hanger) 2. Mas tanto para a extração da cefalina como para a execução da prova, é aconselhável seguir à risca um padrão técnico tal como o que apresentam os autores acima citados. Só dêsse modo os resultados tornar-se-ão perfeitamente comparáveis.

Reação de Flocculação da Cefalina-Colesterol

Esta prova depende da precipitação de um complexo cefalina-colesterol pelo soro alterado em certos tipos de distúrbios do fígado. A reação é geralmente negativa na icterícia por obstrução, mas é positiva nas hepatites, o que pode servir para distinguir os dois tipos de casos. É um índice de distúrbios do parênquima hepático, mas nem sempre segue os resultados obtidos com outras provas funcionais.

1. REAGENTES:

a — **Preparação da cefalina:** Miolos de carneiro são desidratados em três extrações com acetona. O pó seco assim assegurado é extraído três vezes com éter livre de peróxidos (anestésico). Os extratos etéreos são então concentrados no vácuo e a cefalina bruta precipitada pela adição de quatro volumes de álcool absoluto. O precipitado é redissolvido numa quantidade mínima de éter. Os cerebrosídios são precipitados por esfriamento e removidos por centrifugação. O éter sobrenadante é separado e a cefalina nele contida é precipitada com quatro volumes de álcool absoluto. O precipitado é esfriado, filtrado, lavado com álcool e acetona e dessecado. A cefalina final é um pó marrom contendo traços de outros lípidios.

b — **Preparação da emulsão de cefalina-colesterol:** A solução-mãe é feita dissolvendo 100 mg. de cefalina e 300 mg. de colesterol em 8 ml. de éter (para anestesia). Esta solução conserva-se indefinidamente num recipiente bem arrolhado. Prepara-se a emulsão adicionando vagarosamente e com constante agitação, 1 ml. da solução-mãe a 35 ml. de água destilada fresca a 65° — 70°. Aquece-se lentamente até a ebulição e deixa-se a mistura fervendo até que o volume final esteja reduzido a 30 ml. Durante o aquecimento forma-se uma emulsão estável, leitosa e translúcida, e todos os traços de éter são expulsos. Depois de esfriar, a preparação está pronta para o uso. A emulsão deve ser preparada imediatamente antes de ser usada, de modo a obter resultados comparáveis.

2. PROCEDIMENTO

Colocar 0,2 ml. de soro em um tubo de centrifugador, adicionar 4ml. de soro fisiológico normal e 1 ml. da emulsão cefalina-colesterol. Agitar bem, cobrir com algodão e deixar na temperatura ambiente.

O tubo é observado em 24 e 48 horas, registrando-se a presença ou ausência de flocculação ou precipitação.

Precauções: O soro usado deve ser frêscO ou preservado em refrigerador. Não é muito satisfatório usar plasma porque os anticoagulantes usados podem interferir. Deve usar-se vidraria limpa, porque metais pesados ou ácidos fortes podem causar precipitação.

3. Resultados e Interpretações:

Uma prova negativa é aquela em que não ocorre flocculação. Uma reação ++++ é aquela na qual há completa flocculação. São notados graus variáveis de flocculação, como ++, +++ e ++++. Uma reação negativa não deve ser dada com menos de 24 horas de observação.

A reação quase nunca é positiva em normais mas ocasionalmente uma positividade de ++ é obtida. É também negativa em casos de icterícia por obstrução, via de regra.

Nos casos crônicos em que ocorre precipitação, a reação em geral é fracamente positiva; por exemplo, em casos nos quais ocorreu algum dano ao parênquima hepático. A prova pode falhar nas hepatites arsenicais.

A emulsão flocula nos casos que mostram um distúrbio ativo do parênquima hepático, sendo o grau de floclulação grosseiramente paralelo à severidade do processo. A reação tem considerável valor prognóstico. Uma floclulação decrescente indica cura, uma floclulação completa e persistente é de grave significação. Lesões simples ou circunscritas ao fígado usualmente dão resultados negativos como acontece com a icterícia hemolítica. Por outro lado, a icterícia acompanhada por infecções agudas ou crônicas, como pneumonia ou septicemia, é caracterizada por testes positivos. (Simmons e Gentzkow) 1.

Sòmente alguns pontos, parece-nos, merecem alguma elucidação após o texto acima.

1. Quando as emulsões são preparadas com água, destilada há já algum tempo, a prova resulta em precipitações falsas, o que se evidencia pela instabilidade anormal do tubo testemunha.

2. Deve-se sempre executar uma prova em branco, deitando num tubo testemunhas 4ml. de sôro fisiológico e 1 ml. da suspensão aquosa de cefalina e colesterol.

3. A suspensão deve ser feita imediatamente antes de fazer a prova. Desta forma, pequenas imperfeições no seu preparo, tais como evaporação demasiado rápida ou aquecimento um pouco além de necessário para reduzir o volume, não se farão sentir na estabilidade da suspensão.

Antígenos encontrados no comércio são vendidos com instruções que permitem a conservação da suspensão a 4-6 graus C. durante vários dias (3). De fato, tal se verifica sempre que a preparação da suspensão aquosa seja cuidadosamente realizada. Mas não creio que seja aconselhável prepará-las nas quantidades indicadas, isto é, 1 ml. para 30 ml. de suspensão aquosa, ou seja, para 30 provas, porque a conservação teria que se prolongar demasiadamente para aproveitamento total.

Sugiro que em laboratórios clínicos sejam preparadas porções de antígeno, usando, por exemplo, 0.2 ml. da solução alcoólica para 7 ml. de água que se reduzirão a 6, sôbre o pilôto de um b'co de Bunsen, ou eqüivalente, num tubo de ensaio de 120x18 mm. O tubo se mantém prêso por um "clamp", inclinado acima da chama, fazendo-a incidir primeiro sôbre a parte próxima à superfície e baixando-a paulatina-

mente até a convexidade do tubo, onde pode permanecer sem perigo de lançamento do líquido para fora. A operação dura apenas alguns minutos e se obtém uma quantidade de antígeno para seis provas, o que, segundo a minha experiência, é amplamente suficiente para a maioria dos dias de trabalho.

4. Tem se observado que preparações de cefalina usadas imediatamente depois da extração, mostram-se anormalmente instáveis, isto é, dão uma leve precipitação em presença de soros normais. Os autores que tem investigado o assunto (Mateer et al.)⁴ (Hanger)⁵ observaram que êste inconveniente é completamente afastado pelo amadurecimento da cefalina, que se dá expondo o frasco hermêticamente fechado que contém a cefalina à ação dos raios do sol durante um ou mais dias.

5. Especialmente no verão convém usar vidraria perfeitamente limpa e livre de ácidos, como sempre, e esterilizada. Do contrário, o crescimento bacteriano pode determinar o aparecimento de falsos positivos, o que pode, ou não, se dar também no tubo testemunha.

6. Para cada partida de antígeno, três provas pelo menos deverão ser executadas com o sôro de pessoas normais.

7. A água fisiológica usada deve ter um teor em cloreto de sód'io de 8.5 g. por mil, com a qual se obtém as melhores suspensões.

8. Desde o trabalho original de Hanger verifica-se que os autores americanos são concordes em esperar 48 horas para os resultados negativos. Essa é também nossa prática e o que nos ensina a experiência, pois há alguns casos em que a emulsão só flocula após 24 horas e pode ir até a precipitação franca.

9. Fazemos a leitura partindo sempre da suposição que qualquer sôro pode ser "positivo ++++" e registramos os resultados às 24 e 48 horas.

Se às 24 horas

houve precipitação completa, o resultado final já pode ser dado como tal, positivo++++:

houve precipitação ou floclulação apenas parciais, tiramos-lhe a expressão de uma +, ficando ainda positivo +++/+:

não houve precipitação, tiramos-lhe a expressão de duas ++, ficando ainda positivo ++/+ +:

(nestes últimos dois casos reservamos o resultado final para a leitura de 48 horas)

Se às 48 horas

com um sôro que às 24 horas era positivo +++/+, houver precipitação

completa. O resultado continuará positivo ++
+ / + com resultado final, positivo +++.

se com outro sôro, positivo
+++ / + às 24 horas, houver precipitação
parcial, seja que já houvesse ou que de flocula-
ção tenha passado a precipitado, tiramos-lhe a
expressão de uma +, e o resultado será posi-
tivo ++ / + / +, com resultado final positivo
+++;

se ainda com outro sôro, posi-
tivo +++ / +, a floculação permaneceu co-
mo tal, tiramos-lhe a expressão de duas ++,
e ficará positivo + / + + / +; resultado final
positivo +;

se um sôro que às 24 horas
não produziu nem floculação nem precipitação,
sendo pois positivo ++ / ++, continua sem
produzir alteração, tiramos-lhe a expressão de
++ e o resultado final é negativo;

se outro sôro positivo ++
/ ++ às 24 horas mostrar floculação ou preci-
pitação, tiramos-lhe a expressão de + ficando
positivo + / + / ++; resultado final posi-
tivo +;

se, finalmente, um sôro posi-
tivo ++ / ++ às 24 horas, mostrar preci-
pitação total, nada haverá a subtrair do resulta-
do de 24 horas e o resultado final será posi-
tivo ++.

9. Portanto, estimamos que a leitura de
48 horas é absolutamente necessária em todos os
casos, exceto nos soros fortemente positivos, pa-
ra a padronização dos resultados finais. Do con-
trário, as gradações do resultado ficarão sujei-
tas à apreciação individual que não só é vari-
ável como tal, mas o é também em função do
tempo.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — Simmons, J. S. e Gentzkow, C. J.: Laboratory Methods of the United States Army, 76-77, 1946, Lea & Febiger, Philadelphia
- 2 — Hanger, F.: Serological differentiation of obstructive from hepatogenous jaundice by flocculation of cephalin-cholesterol emulsions. — J. Clin. Investig., 18:261-269, 1939.

- 3 — Difco Manual; Difco Laboratories, Detroit, 213-213, 1948
- 4 — Mateer, J. G.; Baltz, J. I.; Marion, D. F.; Hollanda, R. A. e Yagle, E. M.: A comparative evaluation of the newer liver function tests. — Am. J. Dig. Dis. and Nutr., 9:13-29, 1942
- 5 — Hanger, F.: in Mateer, loco cit.
- 6 — Alvarez, G. H.: Las variaciones de la protidemia y la reaccion de Hanger en las hepatopatas medicas y quirurgicas. — El Ateneo, Buenos Aires, 1946
- 7 — Rosenberg, D. H. e Soskin, S.: Comparison of the cephalin-cholesterol flocculation test with various criteria of liver function. — Am. J. Dig. Dis., 8:421-432, 1941
- 8 — Recant, L.; Chargaff, E. e Hanger, F. H.: Comparison of the cephalin-cholesterol flocculation with the thymol turbiditytest. — Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 60:245-247, 1945
- 9 — Kabat, E. A.; Hanger, F. M.; Moore, D. H. e Landow, H.: The relation of cephalin flocculation and colloidal gold reactions to the serum proteins. — J. Clin. Investig., 22:563-568, 1943
- 10 — Watson, C. J. e Rappaport, E. M.: A Comparison of the results obtained with the Hanger cephalin-cholesterol flocculation test and the Mac Lagan thymol turbidity test in patients with liver disease. — J. Lab. & Clin. Med., 30:983-991, 1945
- 11 — Alessandri, H.; Ducci, H. e Galecio, R.: Experiência clínica con la reacion de Hanger. — Rev. Med. de Chile, 70:848-859, 1942
- 12 — Moore, Pierson e Moore.: Mechanism of positive cephalin-cholesterol flocculation reaction in hepatitis. — J. Clin. Investig., 24:292-295, 1945
- 13 — Oliveira, H. L.: Floculação da emulsão de cefalina e colesterol no diagnóstico das afecções hepáticas. — Revista de Med. de São Paulo, 27:27, 1943

FRACIONAMENTO PROTÉICO EM ALGUMAS HEPATOPATIAS

Por

Dr. Mario Rangel Ballvé

Trabalho executado na Terceira Cadeira de Clínica Médica

Alguns meses atrás, lendo *The Medical Clinics of North America*, deparamos com um artigo de Dauphinee e Campbell (4) sobre o fracionamento das proteínas séricas nas doenças hepáticas.

Estes autores, utilizando a técnica de dosagem das proteínas de Campbell e Hanna (2), não só conseguem fracioná-las como também constata a existência, nos portadores de hepatopatia, de uma fração protéica anormal e desconhecida, precipitável pela solução de sulfato de sódio a 13,5%. Na falta de uma melhor denominação, chamam-na de "Fração 13,5%", e dizem ser ela uma globulina provavelmente pertencente à euglobulina.

Campbell, Dauphinee e Hanna (3) já haviam trabalhado, alguns anos antes, no fracionamento protéico de 40 adultos normais e, por intermédio deles, obtiveram as quantidades médias das diversas frações protéicas e também não constatarem nunca, nestes indivíduos normais, a presença da fração 13,5%.

Interessaram-nos, sobretudo, as pesquisas dos citados autores e após conseguir a bibliografia necessária, iniciamos as investigações a respeito desta fração no Laboratório pertencente à Cadeira de Clínica Propedêutica e Terceira Cadeira de Clínica Médica.

*
**

Não data de hoje a observação da importância do fígado como órgão regulador da utilização dos corpos protéicos e de seus produtos metabólicos.

Foi Filinski (5), em 1922, o primeiro em demonstrar a diminuição das proteínas sanguíneas na insuficiência hepática, embora já em 1907, Gilbert e Chiray houvessem observado a diminuição delas nos portadores de cirrose com ascite.

Filinski, em suas pesquisas sobre o câncer do fígado, notou que em alguns doentes, "a relação serina-globulina estava alterada no sentido de um aumento da globulina", o que, entretanto,

não podia ser considerado como regra, pois algumas vezes aquela relação mantinha-se normal.

Em vista destes resultados, aquêl autor fixa-se no fígado e estende suas investigações às afecções hepáticas de origem não cancerosa, concluindo que "nas diferentes enfermidades do fígado, acompanhadas ou não de icterícia, acha-se no soro uma porcentagem aumentada de globulina em relação à serina. "Em todos os casos considerados, aquela ultrapassou esta. "É muito provável que o aumento da taxa da globulina sérica seja causada pela insuficiência hepática".

Anteriormente, em 1918, Kerr, Hurwitz e Whipple tinham constatado, experimentalmente, que as proteínas séricas se formavam em proporção mais lenta do que o normal, no cachorro portador de uma fístula de Eck.

Com o decorrer dos anos, inúmeras investigações foram realizadas a fim de demonstrar a existência de uma relação entre o fígado e as proteínas do sangue, sendo dignas de citação as que passamos a descrever.

Luck (10) fraciona as proteínas obtidas do próprio órgão hepático em quatro frações: globulina II, euglobulina, pseudoglobulina e albumina. Em ratos mantidos com alimentação protéica reduzida, estas frações acusam respectivamente as seguintes quantidades: gr. 5,07 : 4,58 : 1,06 : 0,86 por cem gramas de fígado. Se aos mesmos animais dá-se uma alimentação altamente protéica, o fracionamento executado nas mesmas condições que o anterior, revela um aumento de 50% a 60% para cada uma das citadas frações. Este enriquecimento protéico do fígado, após uma dieta com grande quantidade de albuminóides, associa-se não só com hiperplasia ou hipertrofia mas também com aumento do conteúdo protéico por unidade-grama de tecido hepático.

Estes resultados levam Luck a concluir que tôdas as proteínas participam igualmente na função de armazenagem no fígado.

Addis Poo e Lew (1) submetem ratos albinos a 7 dias de jejum e verificam que a quantidade de proteínas perdidas pelos vários órgãos

é variável para cada um dêles. Assim, o fígado perde 40% de suas proteínas; a próstata e as vesículas seminais, 29%; o coração, os rins, o sangue e o aparelho digestivo, de 18% a 28%; os músculos, a pele e o esqueleto, 8%; o cérebro, 5% e os testículos e as glândulas suprarrenais não perdem nenhuma proteína.

As pesquisas dos autores citados provam que no fígado se depositam e armazenam tôdas as proteínas, as quais, porém, são fornecidas ao organismo nos casos de necessidade, o que provoca diminuição das reservas protéicas hepáticas.

Surge assim a primeira relação entre o fígado e as proteínas, a qual considera aquêlo como órgão de depósito destas.

Contudo, com a continuação dos trabalhos experimentais, amplia-se o conceito acima e o fígado passa a ser considerado também como órgão produtor de algumas frações protéicas, principalmente de fibrinogênio e protrombina.

Em 1937, Smith, Warner e Brinkhous (11) provocam lesões hepáticas em cachorros por meio de anestesia clorofórmica prolongada e dosam o fibrinogênio e a protrombina no sangue dêstes animais. Constatam então que estas frações diminuem no sangue proporcionalmente à intensidade da lesão hepática causada pelo clorofórmio. Verificam também que a diminuição plasmática da protrombina em um fígado lesado, é sempre mais intensa que a do fibrinogênio e, com a recuperação do órgão, aquela retorna ao normal mais vagarosamente do que êste.

Foley e colaboradores (6) estudam clinicamente doentes de cirrose portal com ascite e outros em que a ascite fôra provocada por causas não hepáticas (peritonite tuberculosa, insuficiência cardíaca congestiva, carcinoma peritoneal, etc). Nos primeiros, êles constataam a diminuição das proteínas séricas e da serina e aumento da globulina, com conseqüente inversão do índice serina/globulina: nos últimos, "não obstante a perda protéica no líquido ascítico, as proteínas séricas comportam-se de maneira normal". "Isto indica, concluem aquêles autores, que pode haver grandes quantidades de proteínas no fluido ascítico sem que exista alteração delas no sôro sanguíneo".

Êstes autores também estudaram um grupo de pacientes sem lesão hepática, mas com severas restrições dietéticas (emaciação, obstrução intestinal crônica, etc) e verificaram em todos um decréscimo do conteúdo protéico do sangue sem que existisse aumento das globulinas e com índice serina/globulina normal.

Como resultados dêstes trabalhos, Foley e seu grupo concluem que "as alterações protéicas

podem ser atribuídas às lesões hepáticas e à perda, por parte dêste órgão, de sua capacidade para sintetizar a serina".

Neste mesmo ano de 1937, Knutti, Erickson, Madden, Rekers e Whipple (8) publicam suas experiências em cachorros, feitas da seguinte maneira: alguns cachorros normais e dois outros com fístula de Eck, recebendo diáriamente uma dieta que continha uma média de gr. 1,0 de proteínas vegetais por quilo de pêso corporal, após um intervalo de 7 a 9 semanas mostraram apenas uma discreta diminuição na quantidade de proteínas sanguíneas circulantes.

Entretanto, um terceiro cachorro com fístula de Eck e lesão hepática revelada por biópsia, em circunstâncias semelhantes às anteriores, revelou-se incapaz de manter sua concentração protéica sanguínea acima do nível de edema. Além disso, o mesmo animal possuía apenas um décimo da capacidade dos cachorros normais para formar novas proteínas, quando vários alimentos protéicos eram adicionados à dieta básica.

Parece assim, concluem aquêles autores, "que a anormalidade hepática é a responsável por esta reação anômala. "Esta observação dá forte apoio à tese na qual o fígado se incumba ativamente da fabricação de novas proteínas plasmáticas".

Em 1942, Whipple (12), em magnífico artigo, sintetiza todos os conhecimentos a respeito desta questão e lança o conceito de "equilíbrio dinâmico" das proteínas, segundo o qual, as moléculas protéicas podem entrar e sair facilmente das células. Por outro lado, êle considera o fígado de importância primordial na produção das proteínas plasmáticas. A protrombina, formada no fígado, foi colocada, devido às suas reações de precipitação, entre as globulinas. Entretanto, os mais recentes trabalhos com eletroforese indicam que ela pertence à fração albumina. Se êste fato se confirmar, evidência que uma importante fração do grupo albumina é formada pelo fígado, como também está atualmente bem estabelecido que êste órgão produz o fibrinogênio, importante fração das globulinas.

Em vista do resultado dos trabalhos experimentais, conclui-se que o fígado armazena e sintetiza proteínas. Os amino-ácidos provenientes da alimentação protéica são absorvidos pelo aparelho digestivo e sintetizados pelas células hepáticas em proteínas, as quais são fornecidas ao organismo de acôrdo com as necessidades celulares teciduais.

Não menos interessantes que as pesquisas experimentais, são os sinais laboratoriais observados clinicamente nos portadores de lesão hepática. Desde Filinski, sabe-se que nestes estados existe uma inversão do cociente serina/globuli-

na, ocasionado principalmente por diminuição da primeira.

Entretanto, com o aprimoramento das técnicas de dosagem das proteínas, foram observadas outras alterações protéicas sanguíneas, além das citadas.

*
**

Técnicas de dosagem: Em 1901, Pinkus, pela primeira vez, usa o sulfato de sódio para precipitar as proteínas do sangue.

Paul Howe (9), em 1921, retoma o método proposto por Cullen e Van Slyke e embora continue a usar o sulfato de sódio, modifica em parte esta técnica, substituindo o sulfato de amônio pelo sulfato de magnésio para precipitar as globulinas. Ele consegue, desta maneira, dosar as diversas frações protéicas do sangue. Usando soluções de sulfato de sódio a 10,6%, 14,2%, 17,7% e 21,5%, êle dosa respectivamente o fibrinogênio, a euglobulina e as pseudoglobulinas I e II.

Entretanto, o método de Howe não só era difícil como também lento e demorado.

Campbell e Hanna (2) conseguem remover estas imperfeições utilizando o sulfito de sódio como precipitante das diversas frações protéicas. Esta nova técnica, cuja descrição detalhada damos mais adiante, tornou mais rápida a dosagem e facilitou seu uso em uma larga série de pacientes.

Contudo, o grande avanço no estudo das proteínas séricas foi realizado por Tiselius, com a invenção do aparelho eletroforético para as dosar. Com êste método, demonstrou-se a existência, no indivíduo normal, de 4 frações protéicas: albumina, globulinas alfa, beta e gama, cujas proporções respectivas são as seguintes: 62,5% a 65,5% ; 6,2% a 7,9% ; 12,6% a 15,2% 13,1% a 15,7% das proteínas totais.

Gray e Guzman Barron (7) estudam eletroforéticamente estas diversas frações nas hepatopáticas e verificam que a intensidade de sua alteração está em relação com a severidade da lesão hepática. A anormalidade mais característica, principalmente nas cirroses e doenças parenquimatosas agudas, é a diminuição da albumina e o aumento da gama globuliná.

*
**

MATERIAL E MÉTODOS

Adotamos para a execução do fracionamento protéico a técnica de Campbell e Hanna (2), que passamos a descrever detalhadamente.

Preparam-se soluções de sulfito de sódio anidro em 5 concentrações diferentes: gr. 12,5% ; 13,5% ; 15,0% ; 18,0% e 21,0%.

Estas diferentes concentrações correspondem às seguintes frações:

12,5%	Fibrinogênio
13,5%	Fração de 13,5% (proteína desconhecida)
15,0%	Euglobulina
18,0%	Pseudoglobulina I
21,0%	Pseudoglobulina II

Preparo das soluções: Em um copo de vidro Pyrex, coloca-se a quantidade de sulfito de sódio necessária para titular a solução na concentração desejada e água destilada. Aquece-se lentamente no microbunsen, mexendo de vez em quando, para facilitar a dissolução.

As diversas soluções são mantidas em vidros, na temperatura ambiente do laboratório, não havendo precipitação do sulfito de sódio.

DOSAGEM: Procura-se obter, do sangue extraído do paciente, tantos cm³ de soro quantas forem as reações a realizar, mais 3 cm³ de sangue oxalato para nêle executar a dosagem do fibrinogênio.

São necessários 5 cm³ de soro para as seguintes dosagens: proteínas totais, euglobulina, pseudoglobulina I, pseudoglobulina II e fração 13,5%.

Antes de mais nada, preparam-se as soluções de nitrogênio padrão para com elas obter o fator proteínas, imprescindível para realizar os cálculos após a leitura fotométrica ou colorimétrica das diversas frações protéicas.

Dosagem das proteínas totais: Em um balão volumétrico, colocam-se 19 cm³ de soro fisiológico e 1cm³ do soro a estudar. Desta diluição de soro, tira-se 0,5cm³ que se coloca num tubo de ensaio Pyrex, de vidro forte, neutro, de 250 x 25 mm. ou de 220 x 22 mm., o qual é previamente marcado na altura correspondente a 35 cm³. Neste tubo de ensaio também se colocam 1 cm³ da solução fosfo-sulfúrica para digestão e 0,5 cm³ de água destilada.

Digerir com microbunsen, fogo lateral e tubo inclinado. A digestão transforma a côr clara da solução, em escura e, depois, novamente em clara.

Esperam-se dois minutos e completa-se com água destilada até a marca 35 cm³ do tubo de ensaio. Colocam-se 15 cm³ da solução de Nessler e, quando a solução fica turva, filtra-se.

Faz-se a leitura com o colorímetro fotométrico, usando o filtro 530 ou com o fotômetro de Pulfrich, filtro S 3 e cuba de 2 cm³.

Usávamos, para nossas dosagens, o colorímetro fotoelétrico.

Separação das frações proteínicas do sôro: Tomam-se 4 balões volumétricos de 20 cm³ e em cada um marcam-se os diversos títulos das soluções de sulfito de sódio anidro, i. é., 13,5% , 15,0% , 18,0% e 21,0%. Em cada um dêles, colocam-se 19 cm³ da respectiva solução de sulfito de sódio e, com uma pipeta volumétrica de dois traços, enxaguada antes por fora, 1 cm³ de sôro.

Agita-se suavemente e deixa-se na temperatura ambiente a fim de que precipitem as proteínas, a qual deve começar no mínimo após 10 minutos.

Filtram-se as diversas soluções em tubos separados, passando repetidas vezes pelo mesmo filtro, até que o líquido esteja bem límpido.

Procede-se à digestão, utilizando um tubo de ensaio igual ao usado para as proteínas totais. Marcam-se os tubos com os títulos das diversas soluções, colocando em cada um 0,5 cm³ da respectiva solução e mais 0,5 cm³ de água destilada e 1 cm³ da solução fosfossulfúrica para digestão.

Ao atingir êste ponto, possui-se uma solução a 1/40 ou 1 cm³ contém 0,025 de sôro.

Digerir com microbunsen, fogo lateral e tubo inclinado, cuidando para que não cristalize a solução. Feita a digestão esperam-se dois minutos e completa-se com água destilada até a marca 35 do tubo de ensaio, já previamente assinalada.

Em cada tubo, colocam-se 15 cm³ da solução de Nessler e dissolve-se mais quando a cor ficar muito escura, executando a leitura seja pelo fotômetro de Pulfrich com filtro S 3 e cuba de 2 cm³ ou seja pelo colorímetro fotoelétrico com filtro 530.

Dosagem do fibrinogênio: Toma-se um tubo de centrifuga e nêle colocam-se 0,50 cm³ de plasma e 9,5 cm³ da solução de sulfito de sódio a 12,5%. Agita-se bem inclinando várias vezes o tubo.

Esperam-se 10 minutos e centrifuga-se a 2.500 r. p. m., no mínimo durante 5 minutos.

Forma-se um precipitado branco que fica depositado no fundo do tubo, enquanto o líquido sobrenadante fica límpido.

Escorre-se bem êste último e acrescentam-se novamente 5 cm³ da solução de sulfito de sódio a 12,5%. Desfaz-se, com um bastão de vidro, o precipitado que ficou no fundo do tubo e centrifuga-se como anteriormente.

De novo escorre-se bem o líquido sobrenadante. Junta-se 0,5 cm³ de água destilada e procura-se, com um bastão de vidro, desfazer bem o precipitado branco do fundo do tubo. Quando se consegue isso, derrama-se a solução em um tubo de ensaio já preparado para digestão, como foi explicado anteriormente. Coloca-se mais 0,5 cm³ de água destilada no tubo de centrifuga, para lavá-lo bem, e derrama-se igualmente no tubo de ensaio para digestão. Ao conteúdo deste, adiciona-se 1 cm³ da solução fosfossulfúrica para digestão.

Procede-se à digestão do mesmo modo como foi feita para as outras frações proteícas.

Executa-se a leitura seja no fotômetro de Pulfrich, com filtro S 3 e cuba de 2 cm³ ou no colorímetro fotoelétrico, com filtro 530.

Cálculo: Obtidas as diversas leituras das diferentes soluções de sulfito de sódio, elas serão multiplicadas pelo "Fator proteínas" e "Fator fibrinogênio" já obtidos anteriormente por meio das soluções de nitrogênio padrão.

Dêste modo, conseguem-se diferentes quantidades para cada uma das soluções de sulfito, representando as seguintes frações proteícas:

A multiplicação da leitura da solução a 12,5% pelo "Fator fibrinogênio", fornece diretamente a quantidade porcentual de fibrogênio existente no plasma.

Multiplicando a leitura fotométrica ou colorimétrica das proteínas totais pelo "Fator proteínas", obtém-se a quantidade porcentual delas existente no sôro em estudo.

Multiplicando a leitura da solução a 15,0% pelo "Fator proteínas", obtém-se uma determinada cifra que, diminuída da quantidade das proteínas totais, dará a quantidade porcentual de "Euglobulina" existente neste sôro.

Multiplicando a leitura da solução a 18,0% pelo "Fator proteínas, obtém-se uma determinada cifra que, somada à quantidade porcentual de euglobulina e esta soma diminuída da quantidade porcentual de proteínas totais, dará a quantidade porcentual de "Pseudoglobulina I" existente neste sôro.

Multiplicando a leitura da solução a 21,0% pelo "Fator proteínas", obtém-se uma determinada cifra que, somando aos valores porcentuais da euglobulina e pseudoglobulina I e esta soma diminuída da quantidade porcentual das proteínas totais, dará a quantidade porcentual de "Pseudoglobulina II" existente neste sôro.

Multiplicando a leitura da solução a 13,5% pelo "Fator proteínas", obtém-se uma determinada cifra que, diminuída da quantidade porcentual das proteínas totais, dará a quantidade

porcentual de fração 13,5% existente neste soro. Nos normais a quantidade desta fração é igual a zero.

Esquematisando todos os cálculos referidos, podem representar-se as diversas frações com os seguintes sinais: proteínas totais, por PT; euglobulina por E; pseudoglobulina I por PI; pseudoglobulina II por PII; fração 13,5% por F13,5% e fibrinogênio por F. Além disso, representando também o produto da multiplicação da leitura fotométrica ou colorimétrica das diversas soluções pelo fator proteínas ou pelo fator fibrinogênio, para o fibrinogênio, por LF seguido do título da solução, constrõem-se as seguintes equações:

$$PT = LF \text{ (dá diretamente a quantidade de proteínas totais)}$$

$$F = \text{Leitura} \times \text{fator fibrinogênio} = \text{porcentagem de fibrinogênio} = PT - LF \text{ 15,0\%}$$

$$PI = PT - (E + LF \text{ 18,0\%})$$

$$PII = PT - (E + PI + LF \text{ 21,0\%})$$

$$F13,5\% = PT - LF \text{ 13,5\%}$$

A soma das três frações — euglobulina, pseudoglobulina I e pseudoglobulina II — representa a quantidade de globulinas existente neste soro. Como já foi dito, a fração 13,5% está incluída no grupo de euglobulina e sua quantidade não pode nunca ultrapassar a quantidade total da última.

Obtida a quantidade total de globulinas, pela soma das três frações citadas, se a diminui da quantidade de proteínas totais existentes, obtendo assim a quantidade de serina ou de seroalbumina.

Normalmente, como já foi dito, não se constata a presença de fração 13,5% no soro.

Campbell e Hanna (3) dão como valores médios normais das proteínas do soro, executadas por sua técnica, as seguintes quantidades, que concordam com as achadas por Howe com seu método do sulfato de sódio.

Proteínas totais	gr. 6,20 a 7,80%
Sero-albumina	gr. 4,00 a 5,70%
Sero-globulinas	gr. 1,64 a 2,50%
Euglobulina	gr. 0,60 a 1,00%
Pseudoglobulina I	gr. 0,50 a 0,80%
Pseudoglobulina II	gr. 0,40 a 0,70%
Fração 13,5%	gr. 0

OS DOENTES

Estudamos 20 doentes com hepatopatia. Seis eram portadores de cirrose portal; 3, de hepatite infecciosa; 1, de atrofia amarela aguda; 1, de icterícia obstrutiva; 2, de cirrose biliar obs-

trutiva; 1, de câncer de fígado; 3, de angiocolite supurativa subaguda; 1, de coleditiase e 2, de doença de Hodgkin.

O estudo destes pacientes consistiu, além do fracionamento protéico, em exame clínico completo, tubagem duodenal, reação de Hanger, dosagem das bilirrubinas, prova do ácido hipúrico e colesterol total. A reação de Hanger e a dosagem das bilirrubinas foram realizadas em todos os doentes: a prova do ácido hipúrico, em 10 e o colesterol total, em 15. Os casos números 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12, 13, 15, 19 e 20 foram acompanhados por nós durante um tempo superior a 2 meses (Quadro 2).

O diagnóstico foi feito clinicamente em 13 doentes e confirmado pela anatomia-patológica em 7. (Quadro 2)

Em todos os pacientes existia evidência clínica de alteração hepática e nos dois casos de doença de Hodgkin, o fígado encontrava-se dos dedos abaixo do rebordo costal direito.

A idade dos pacientes oscilou entre 24 e 63 anos, sendo 13 mulheres e 7 homens. Alguns deles (casos 8, 12, 13, 18) foram acompanhados durante um certo tempo de evolução de sua moléstia, até o desaparecimento da fração 13,5%. Nos outros, executou-se um único fracionamento, para constatar a presença da referida fração.

Fracionamento protéico: Nos 20 doentes estudados, realizaram-se ao todo 33 fracionamentos protéicos. (Quadro 1).

Nos pacientes com cirrose portal, as proteínas totais acusavam valores normais, com exceção do caso 5, no qual achavam-se diminuídas. A relação serina/globulina encontrava-se normal em dois casos (2 e 3) e alterada nos 4 restantes. A inversão deste cociente processou-se por diminuição da serina e aumento das globulinas.

O fenômeno mais característico no que diz respeito às frações globulínicas, é o aumento da euglobulina e a presença da fração 13,5%, verificadas em 100% dos casos, enquanto que só em 33% (2 casos) constatou-se aumento da pseudoglobulina I e II.

Igualmente nos portadores de hepatite infecciosa, observou-se a inversão do índice serina/globulina em 2 casos (7 e 9), com diminuição da serina e aumento das globulinas em ambos. Também nestes dois pacientes, havia aumento da euglobulina e, no caso 9, a pseudoglobulina I achava-se acima do limite normal. Em todos os doentes de hepatite infecciosa, constatou-se a presença da fração 13,5%.

O caso 8 tratava-se de uma hepatite infecciosa provocada por uma septicemia estafilocócica. Pôde-se acompanhar esta paciente mais minu-

QUADRO 1

Fracionamento protéico

Caso	DIAGNÓSTICO	PORCENTAGEM DE SULFITO USADA					Globulinas totais	Proteínas totais
		12,5	13,5	15	18	21		
				Eugl.	Pse. I	Pse. II		
1	Cirrose portal	0,44	0,73	1,61	1,11	1,98	4,70	7,49
2	" "		1,26	2,28	0,29	0,15	2,72	7,20
3	" "	0,22	1,03	1,48	0,87	0,23	2,58	6,91
4	" "		0,90	2,11	0,15	0,61	3,17	6,94
5	" "	0,33	0,31	1,97	0,45	0,15	2,57	4,38
6	" "	0,28	0,76	1,03	1,54	1,54	4,11	7,44
7	Hepatite infecciosa	0,74	2,06	2,66	0,46	0,07	3,19	6,81
8	" "	0,58	0,60	0,91	0,75	0,23	1,89	5,28
		0,41	1,35	1,86	1,28	0,43	3,57	5,14
			2,25	2,36	1,21	0,91	4,48	8,96
			1,41	2,18	0,51	2,05	4,74	8,32
			0,57	0,96	0,67	0,77	2,40	5,37
9	" "	0,26	0	0,57	0,96	0,38	1,92	5,95
		0,55	1,82	1,95	1,11	0,31	3,37	6,43
10	Atrofia amarela aguda	0,65	2,20	3,67	0,74	1,03	5,44	8,08
11	Icterícia obstrutiva	0,51	0	0,45	1,51	0,38	2,34	6,41
12	Cirrose biliar obstrutiva	0,25	1,00	1,58	1,16	0,79	3,53	7,50
		0,69	1,86	2,25	0,54	0,74	3,53	7,24
		0,72	0,96	1,34	1,35	0,28	2,97	6,14
		0,51	0	1,83	0,10	0,27	2,20	5,18
13	" " "	0,47	2,04	2,04	2,31	1,02	5,37	8,44
		0,57	1,92	2,82	0,25	0,65	3,72	7,04
			2,17	2,55	0,68	0,76	3,99	6,39
		0,51	0	1,53	0,29	0,48	2,30	4,80
14	Câncer de fígado	0,38	0,72	1,88	0,43	2,01	4,32	5,76
15	Angiocolite subaguda	0,32	1,91	1,98	0,44	0,69	3,11	5,68
16	" "	0,49	1,66	2,42	0,68	0,07	3,17	6,64
17	" "	0,44	0,67	1,35	0,23	1,00	2,58	5,85
18	Colelitíase		0	0,78	0,22	2,33	3,33	6,99
			1,30	1,57	0,51	0,52	2,60	7,20
		0,35	0	0,49	0,67	0,37	1,53	5,88
19	Doença de Hodgkin	0,65	0,68	1,80	0,70	0,57	3,07	7,68
20	" " "	0,57	1,20	2,60	0,58	0,42	3,60	7,20

Caso n.º	Idade	Sexo	Proteínas totais g. %	Serina g. %	Globulinas g. %	Euglobulina g. %	Pseudo-globulina I g. %	Pseudo-globulina II g. %	Fibrinogénio g. %	Fração 13,5% g. %	Reação de Hanger
1	38	F	7,49	2,79	4,70	1,61	1,11	1,98	0,44	0,73	++++
2	69	M	7,20	4,48	2,72	2,28	0,29	0,15		1,26	++++
3	54	M	6,91	4,33	2,58	1,48	0,87	0,23	0,22	1,03	++
4	50	M	6,94	3,77	3,17	2,41	0,15	0,61		0,90	+
5	50	M	4,38	1,81	2,57	1,97	0,45	0,15	0,33	0,31	+++
6	63	F	7,44	3,33	4,11	1,03	1,54	1,54	0,28	0,76	++++
7	28	M	6,81	3,62	3,19	2,66	0,46	0,07	0,74	2,06	±
8	26	F	5,28	3,39	1,89	0,91	0,75	0,23	0,58	0,60	+
			5,14	1,57	3,57	1,86	1,28	0,43	0,41	1,35	++
			8,96	4,48	4,48	2,36	1,21	0,91	2,25	1,41	—
			8,32	3,58	4,74	2,18	0,51	2,05	0,57	0,57	—
			5,37	2,97	2,40	0,96	0,67	0,77	0	0	—
5,95	4,03	1,92	0,57	0,96	0,38	0,26	0	0	—		
9	26	F	6,43	3,06	3,37	1,95	1,11	0,31	0,55	1,82	++
10	45	F	8,08	2,64	5,44	3,67	0,74	1,03	0,65	2,20	++++
11	40	M	6,41	4,07	2,34	0,45	1,51	0,38	0,51	0	—
12	34	F	7,50	3,97	3,53	1,58	1,16	0,79	0,25	1,00	++
			7,21	3,71	3,53	2,25	0,54	0,74	0,69	1,86	++++
			6,14	3,17	2,97	1,34	1,35	0,28	0,72	0,96	—
			5,18	2,98	2,20	1,83	0,10	0,27	0,51	0	—
13	48	F	8,44	3,07	5,37	2,04	2,31	1,02	0,47	2,01	+
			7,04	3,32	3,72	2,82	0,25	0,65	0,57	1,92	+++
			6,39	2,40	3,99	2,55	0,68	0,76	0,51	2,17	—
			4,80	2,50	2,30	1,53	0,29	0,48	0,51	0,19	—
14	61	F	5,76	1,44	4,32	1,88	0,43	2,01	0,38	0,72	+++
15	61	M	5,68	2,57	3,11	1,98	0,44	0,69	0,32	1,91	+
16	54	F	6,64	3,47	3,17	2,42	0,68	0,07	0,49	1,66	+
17	31	F	5,85	3,27	2,58	1,35	0,23	1,00	0,44	0,67	—
18	32	F	6,99	3,66	3,33	0,78	0,22	2,33		0	—
			7,20	4,60	2,60	1,57	0,51	0,52	0,35	1,30	+++
			5,88	4,35	1,53	0,49	0,67	0,37	0,35	0	—
19	26	F	7,68	4,61	3,07	1,80	0,70	0,57	0,65	0,68	—
20	24	F	7,20	3,60	3,60	2,60	0,58	0,42	0,57	1,20	++

CLÍNICOS

Bilirrubina total mg. %	Bilirrubina direta mg. %	Bilirrubina indireta mg. %	Prova do ácido hipúrico endoven. s.de ácido benzóico	Coolesterol total mg. %	DIAGNÓSTICO CLÍNICO	EXAME ANATOMO-PATOLÓGICO
3,45	2,20	1,25	0,64	225,0	Cirrose portal	
2,62	1,12	1,50	0,69	244,6	" "	
0,62		0,62		227,3	" "	
0,74		0,74		289,0	" "	
1,63	0,49	1,14	1,02	220,0	" "	
4,74	2,12	2,62	0,90	224,0	" "	
1,30	0,98	0,32	0,76		Hepatite infecciosa	
5,08	4,15	0,93			" "	
2,38	1,99	0,39	0,45	240,0		
0,65	0,49	0,16	1,20			
19,80	12,80	7,00	0,94		" "	
111,0	76,5	34,50	0,38		Atrofia amar. aguda	Necrose aguda tóxica
3,39	2,43	0,96	0,74	200,0	Icterícia obstrutiva	Colangite discreta
5,53	4,60	0,93	0,57	375,0	Ict. Obst.; Cirrose biliar	Cirrose biliar
25,50	18,31	7,19				
27,79	18,31	9,48				
18,96	12,42	6,54	0,64	262,5		
10,60	7,66	2,94	0,40	180,0	" " " "	Cirrose biliar
23,54	15,69	7,85				
16,67	13,40	3,27				
19,62	13,08	6,54	0,61			
2,16	2,00	0,16	0,26	200,00	Câncer de fígado	
25,00	13,00	12,00		394,0	Angiocolite	Angiocolite supur. subaguda
15,02	12,60	2,42	0,49	517,0	"	" " "
10,46	6,21	4,25		282,8	"	" " "
0,61			0,68	200,0	Colelitíase	
11,26	10,72	0,54	0,45			
1,63	0,98	0,65	0,72			
0,46	0,30	0,16	0,76		Doença de Hodgkin	
0,61	0,30	0,31	0,94		" " "	

ciosamente do que os outros e nêle se fizeram 6 fracionamentos protéicos. Observa-se (Quadro 1) que, com a agravação da doença, não só aumenta a quantidade das globulinas totais, das diversas frações globulínicas e da fração 13,5%, como também a serina diminui seus valores.

Conforme a paciente foi se restabelecendo, as diferentes frações começaram a normalizar-se e, com a cura, atingiram a normalidade absoluta, com desaparecimento da fração 13,5% no último fracionamento feito.

O caso 10, atrofia amarela aguda com confirmação anátomo-patológica, observa-se a mais alta quantidade de euglobulina e globulina totais encontradas em todos os casos e o índice serina/globulina atinge 0,48.

A única anormalidade existente no caso 11, com icterícia obstrutiva confirmada no ato operatório, foi a elevação da pseudoglobulina I. O exame anátomo-patológico do fígado, por biópsia praticada durante a intervenção, não revelou alterações das células epiteliais hepáticas.

Em ambos casos de cirrose biliar obstrutiva (casos 12 e 13), cujo diagnóstico foi confirmado operatória e anátomo-patologicamente, observa-se a presença da fração 13,5%, diminuição do cociente serina/globulina, diminuição da serina e aumento da globulina.

Após haver sido desobstruída a árvore biliar e embora as outras frações globulínicas houvessem retornado ao normal e a fração 13,5% desaparecido, a euglobulina ainda se manteve em níveis elevados.

Nos pacientes com angiocolite supurativa subaguda, verifica-se em todos a inversão do índice serina/globulina, principalmente por diminuição da serina, elevação da euglobulina, presença de fração 13,5% e, no caso 17, valores altos de pseudoglobulina II.

O estudo clínico-laboratorial do caso 17 conduzia para o diagnóstico de icterícia obstrutiva, mas havia discordância na presença da fração 13,5% e no aumento da euglobulina, que não costumam sofrer alteração nos casos de obstrução mecânica pura das vias biliares, sem alteração parenquimatosa do fígado.

No ato operatório constatou-se a existência de colelitíase, permeabilidade completa do colédoco e, o exame anátomo-patológico do fígado por biópsia, acusou a existência de angiocolite supurativa, que explicava então a anormalidade das frações globulínicas citadas.

Muito interessante foi o aspecto assumido pelo caso 18. Esta senhora internou-se por sofrer de cólicas hepáticas repetidas e o colecistograma revelou a presença de colelitíase. As provas do ácido hipúrico, reação de Hanger, bilirru-

binemia, colesterol total e fracionamento protéico, realizadas antes do ato cirúrgico, revelaram um bom funcionamento hepático.

A operação, que foi bastante demorada, constatou a presença de cálculos vesiculares e a permeabilidade coledociana. Entretanto, 48 horas após a intervenção, a paciente estava icterica e com mau funcionamento hepático revelado pelas mesmas provas que no pré-operatório haviam sido normais. Além disso, surpreendeu-se a presença, no fracionamento protéico, da fração 13,5%. Passados alguns dias e com a terapêutica adequada, tôdas as provas se normalizaram, a icterícia desapareceu e não se verificou mais a existência da fração 13,5% no sôro.

Nos dois casos de Doença de Hodgkin, havia aumento da euglobulina e presença da fração 13,5%, ao passo que as outras frações encontravam-se normais.

Fibrinogênio: É comum encontrar-se referências, na literatura médica, sobre a diminuição do fibrinogênio plasmático nos casos de lesão parenquimatosa do fígado. Entretanto, considerando como valores normais as quantidades de gr. 0,30 a 0,40%, verifica-se, em nossos casos, uma divergência do conceito geral acima exposto.

Realmente, analisando o Quadro 1, observa-se que somente em dois pacientes com cirrose portal, êle achava-se discretamente diminuído, levemente elevado em um e normal em outro.

Em todos os casos de hepatite infecciosa, êle encontrava-se aumentado e diminuiu sua quantidade, no caso 8, quando a paciente estava curada.

Mais sugestivo que os casos citados, é o valor quantitativo apresentado pelo paciente 10, com atrofia amarela aguda comprovada anatomopatologicamente, e no qual o fibrinogênio atingiu gr. 0,65%.

Na cirrose biliar obstrutiva, em uma única ocasião verificou-se diminuição do fibrinogênio (caso 12, primeiro fracionamento), que se conservou elevado em tôdas as restantes dosagens.

Também em dois casos de angiocolite supurativa observa-se seu discreto aumento.

Procurando na bibliografia alguma referência a respeito desta divergência sobre o aumento do fibrinogênio, encontramos que Jimenez Dias constatou o mesmo fenômeno e quer, em vista de suas observações, demonstrar que a parte do fígado em sua formação não é tão importante como salientaram.

Não concordamos, neste ponto, com o autor espanhol e, no que diz respeito às nossas constatações sobre o aumento do fibrinogênio nos casos de lesão parenquimatosa do fígado,

apenas as registramos sem encontrar para elas uma explicação plausível.

Comparação entre outros testes de função hepática e a fração 13,5%: Em nossos pacientes, realizamos 30 reações de Hanger e 21 provas do ácido hipúrico endovenosa. Comparando estes dois testes com a fração 13,5%, verifica-se que em 66% das vezes existe relação entre ela e a positividade da reação de Hanger e, em 38%, com diminuição da prova de Quick.

Nas ocasiões restantes, não se observa coincidência entre aquêles testes e esta fração.

DISCUSSÃO

Dos 20 pacientes estudados, em 19 havia lesão parenquimatosa do fígado. Entram neste cálculo os casos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, (no post-operatório), 19 e 20

Em 14 casos, portanto em 73%, existia alteração do cociente serina/globulina por diminuição da serina e aumento da globulina. Além disso, em 94% dos casos, constatou-se aumento da euglobulina e, em 100% destes doentes, a fração 13,5% achava-se presente.

Nos pacientes em que se acompanha a evolução da doença, executando-se diversos fracionamentos, verifica-se que ao sobrevir a cura, normaliza-se a euglobulina e a fração 13,5% desaparece. Constituem exceção a esta regra, os casos de cirrose biliar obstrutiva, nos quais, embora desapareça a fração 13,5%, a euglobulina ainda continua aumentada.

Parece, em vista disso, que ao fígado doente falta capacidade para formar serina e compensa uma provável diminuição das proteínas totais constituindo grandes moléculas de globulinas, a fim de substituir as pequenas moléculas de seroalbumina.

Em dois casos, (11 e 18, no pré-operatório) sem alteração parenquimatosa do fígado, a euglobulina encontrava-se normal e não existia fração 13,5%.

BIBLIOGRAFIA

1 — Addis, T.; Poo, L. J. e Lew, W.: The quantities of protein lost by the various

organs and tissues of the body during a fast. — J. Biol. Chem., 115:111-116, 1936.

- 2 — Campbell, W. R. e Hanna, M. I.: The albumin, globulins and fibrinogen of serum and plasma. — J. Biol. Chem., 119:15, 1937.
- 3 — Campbell, W. R.; Dauphinee, J. A. e Hanna, M. I.: Serum protein fractionation in certain diseases. — Trans. Assoc. Amer. Physicians, 57:82-87, 1942.
- 4 — Dauphinee, J. A. e Campbell, W. R.: Serum proteins in hepatic disease. — Med. Clin. of North America, 32:455, 1948.
- 5 — Filinski, W.: Augmentation du taux de la globuline dans le serum du sang comme resultat de l'insuffisance hépatique. — Presse Medicale, 30:236, 1922.
- 6 — Foley, E. F.; Keeton, R. W.; Kendrick, A. B. e Darling, D.: Alterations in serum protein as an index of hepatic failure. — Arch. Int. Med., 60:64-76, 1937.
- 7 — Gray, S. T. e Guzman Barron, E. S.: The electrophoretic analyses of the serum proteins in disease of the liver. — J. Clin. Investig., 22:191-200, 1943.
- 8 — Knutti, R. E.; Erickson, C. C.; Madden, S. C.; Rekers, P. E. e Whipple, G. H.: Liver function and blood plasma protein formation. — J. Exper. Med., 65:455-467, 1937.
- 9 — Howe, P.: The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. — J. Biol. Chem., 49:93-107, 1921.
- 10 — Luck, J. M.: Liver proteins: I. The question of protein storage. — J. Biol. Chem., 115:491, 1936.
- 11 — Smith, H. P.; Warner, E. D. e Brinkhous, K. M.: Prothrombin deficiency and the bleeding tendency in liver injury (chloroform intoxication). — J. Exper. Med., 66:801-811, 1937.
- 12 — Whipple, G. H.: Hemoglobin and plasma proteins: Their production, utilization and interrelation. — Am. J. Med. Sci., 203:477-489, 1942.