

Universidad de San Carlos de Guatemala

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

**Cambios de Bilirrubinemia en Recién
Nacidos Normales Durante las Primeras
72 Horas de Vida**

TESIS

Presentada a la Junta Directiva de la
Facultad de Ciencias Médicas
de la Universidad de San Carlos de Guatemala

Por

Felipe Nery Fernández Gradiz

Ex-interno por oposición de los siguientes servicios: Clínica de Medicina, Endocrinología Metabolismo y Nutrición de la consulta Externa del Hospital General; Ex-interno por oposición de: 1a. Medicina de Hombres, 2a. Cirugía de Mujeres y Oncología "A", del Hospital General; Ex-asistente de Médico Residente por oposición del servicio de Emergencia del Hospital General; Ex-interno del servicio de Recién Nacidos del Hospital Roosevelt. Actual Asistente de Residente del Depto. de Pediatría del Hospital Roosevelt; Ex-miembro de la Junta Directiva de la Juventud Médica; Ex-interno de la casa de salud particular Unión Médica; Ex-interno del Hospital Pedro de Betancourt; Actual asistente a la clínica de Medicina del Comité de Ciegos de Guatemala.

En el acto de su investidura de
MEDICO Y CIRUJANO



Guatemala, Noviembre de 1958.

PLAN DE TESIS

- 1o. __INTRODUCCION
- 2o. __HISTORIA
- 3o. __BIOQUIMICA Y FISIOLOGIA DE LA BILIRRUBINA
- 4o. __ICTERICIA, CLASIFICACION
- 5o. __MATERIAL Y METODO: DESCRIPCION
- 6o. __BILIRRUBINEMIA EN RECIEN NACIDOS EN GUATEMALA
- 7o. __DISCUSION
- 8o. __RESUMEN
- 9o. __CONCLUSIONES
- 10o. __BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION

El motivo primordial de este estudio fué encontrar los valores de bilirrubinemia en Recién Nacidos normales de nuestra población. Con este objeto seleccionamos un número determinado de niños nacidos en el Hospital Roosevelt, quienes fueron sometidos a un estudio clínico cuidadoso y practicándoles determinaciones periódicas de bilirrubinemia. El micrométodo usado para este estudio está basado en las técnicas de Malloy y Evelyn, con algunas modificaciones.

Las muestras de sangre para este estudio fueron tomadas de la planta del pie a través de una pequeña incisión.

Este trabajo lo llevamos a cabo en los laboratorios de Bioquímica y Fisiología del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.

Las fotografías fueron tomadas en el Departamento de dicha institución.

Historia:

Ehrlich demostró que cuando una solución de bilirrubina se agrega ácidos sulfamílico y nitrito de sodio, aparecía un producto coloreado. Van den Bergh y Muller en 1916 reportaron que la bilirrubina del plasma sanguíneo daba diferente reacción frente al reactivo (diazoreactivo) según se tratara de pacientes con ictericia hepatógena, obstructiva o hemolítica apareciendo una rápidamente y la otra tardía.

Así creó la primera distinción cualitativa, creándose la reacción directa inmediata y la retardada o indirecta.

Aparecen luego varias técnicas: la de Van den Bergh modificada por Thannhauser y Aderson (23) presentada en 1921 quienes ponen un Standard a base de solución de cobalto.

En 1925 Greene, C.H. Snell, A.M. y Walters, Waltman presentan nuevamente este trabajo.

A estos trabajos se le han objetado varios errores como es la dificultad de comparar los hallazgos con el standard; que valores por abajo de un miligramo son difíciles de leer, además el enturbamiento del suero no permite buenas lecturas.

Grunenberg (24) notó el diferente comportamiento de la bilirrubina directa e indirecta en presencia de cloroformo, demostrando que el pigmento de un paciente con ictericia hemolítica era soluble en cloroformo mientras que cuando se trataba de pacientes con ictericia obstructiva o hepatocelular no se disolvía; algunos otros como Collison, Roberts y Newman han confirmado estos resultados.

Luego Fergl y Querner modificaron la interpretación de la reacción de Van den Bergh cualitativa, considerándose desde entonces: primero una reacción directa inmediata; segundo una reacción indirecta retardada y un tercero la reacción bifásica.

En 1937 Malloy y Evelyn (8) demostraron que se verifica un acoplamiento completo de bilirrubina indirecta y diazo-reactivo en presencia de las proteínas del suero, siempre que la concentración de alcohol sea del 50%, y que esta reacción puede obtenerse sin precipitación de proteínas siempre que el suero sanguíneo sea diluido en agua. La dosificación de la directa

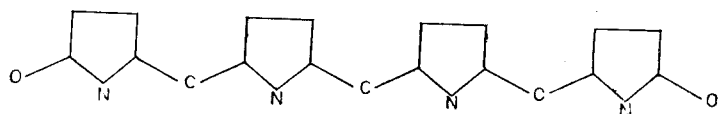
la basan en el acoplamiento directo de la bilirrubina con el diazo-reactivo sin la adición de alcohol.

Bioquímica (2—6—7—16—17—18—19)

Pigmentos biliares:

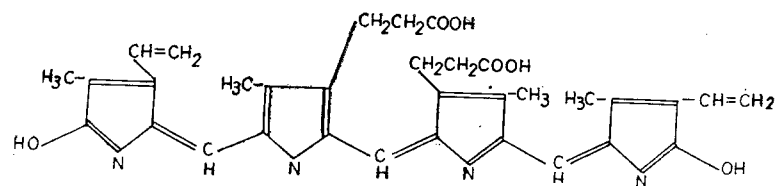
Son sustancias que proceden de la hemoglobina. Posiblemente la primera etapa de la descomposición de ella es un compuesto que existe en muy pequeña cantidad en el interior de los eritrocitos, llamado Coleglobina y que pertenece al grupo de hemoglobinas alteradas (verdohemoglobinas). La etapa siguiente es la ruptura de la molécula de la hemoglobina separándose la proteína (globina) de la protoporfirina ferruginosa (hem) y abriéndose el anillo de la porfirina con desprendimiento del hierro. La nueva estructura, un tetrapirano, es la básica de los pigmentos biliares:

Extructura básica de los Pigmentos Biliares..



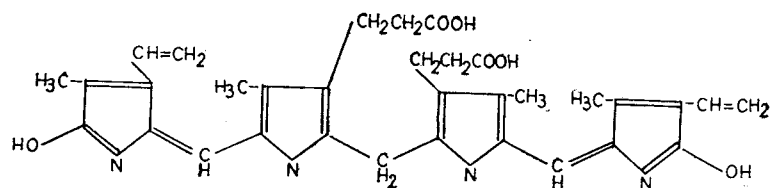
El pigmento biliar más estrechamente relacionado con la estructura de la protoporfirina es la biliverdina verde:

Biliverdina



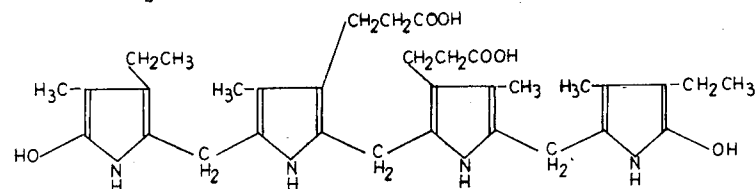
Esta se convierte probablemente en bilirrubina, que es el pigmento biliar más abundante; es una forma parcialmente reducida de la biliverdina y es de color anaranjado:

Bilirrubina



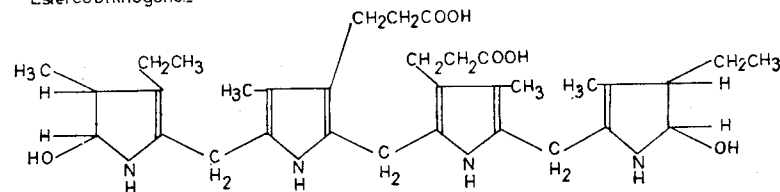
La reducción de la bilirrubina produce el mesobilirrubinógeno incoloro:

Mesobilirrubinógeno

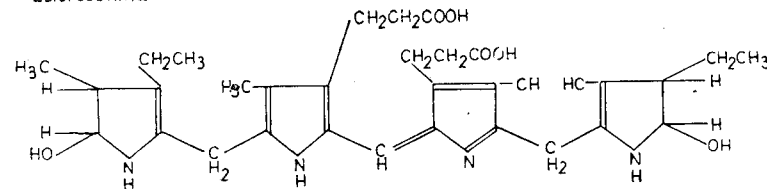


La mayor parte de los pigmentos biliares son excretados con las heces en forma de estercobilinógeno incoloro, el cual expuesto al aire pasa a estercobilina amarilla. Una parte de los pigmentos biliares se reabsorben en la circulación y luego se reexcretan por la bilis al tracto intestinal. Sin embargo, parte de ellos pueden excretarse por la orina al estado de urobilinógeno, que expuesto al aire pasa a urobilina. Estos dos últimos compuestos son análogos al estercobilinógeno y a la estercobilina, respectivamente:

Estercobilinógeno..



Estercobilina -



FISIOLOGIA (3—4—5—8—11—16—18—19)

La bilirrubina es el pigmento de la bilis humana y existe en el plasma sanguíneo y a ella debe principalmente su color

amarillo. El plasma normal en adultos contiene 0.6 mg en 100 cc. (0.4 a 0.8 mg en 100 cm³).

Esta sustancia deriva principalmente del núcleo prostético hem de la hemoglobina. Es fácil demostrarlo, puesto que se observa un rápido aumento de la bilirrubina excretada en la bilis, por el hepático o colédoco, cuando se inyecta hemoglobina o hem en la circulación; también se le hace aparecer provocando una hemolisis exagerada dentro de los vasos.

In vitro, por oxidación acolada de hemoglobina (o hematina) y ácido ascórbico se forma verdohemocromógeno y éste se transforma en biliverdina. Esta da origen a la bilirrubina (Lemberg y Legge, 1949). Sin embargo, una parte de la bilirrubina (lo menos 11%) parece no provenir de la hemoglobina (London y col., 1950). (5)

Numerosos experimentos han permitido demostrar que la bilirrubina tiene un doble origen: hepático y extrahepático.

ORIGEN EXTRAHEPÁTICO:

La formación local de bilirrubina en los tejidos fué sospechada desde hace tiempo, por varios hechos:

- Alrededor de las extravasaciones sanguíneas, como las equimosis cutáneas aparece un color amarillo;
- En las extravasaciones de sangre antiguas pueden hallarse cristales, que se llamaron hematoïdina y luego se comprobó que eran de bilirrubina;
- Se sospechó que el hígado fuera el sitio de eliminación de la bilirrubina más bien que el lugar de su formación, puesto que en diversas enfermedades hepáticas llamaba la atención que aparecía ictericia existiendo una destrucción enorme de las células hepáticas.

Pero la prueba decisiva del origen extrahepático fué dada por Mann y Magath, con sus ingeniosos métodos de extirpación del hígado (sólo o con el intestino) en el perro; al cabo de 3 a 6 horas de extirparlo aparece un color icterico de los tejidos y se comprueba el aumento de bilirrubina en el plasma (20). Esta se eleva más cuando se inyecta hemoglobina. En la rata eviserada se observa lo mismo si se mantiene viva por 48 horas.

Se suele considerar al sistema reticuloendotelial del bazo y de la médula ósea como sitio de formación extrahepática de bilirrubina. La hemoglobina es fijada por sus macrofagos y sería luego transformada en bilirrubina. Mann (citado por Wintröbe, 8) y sus colaboradores hallaron más bilirrubina en la sangre eferente que en la afarente del bazo y de los miembros; esta diferencia desaparecía al extirpar los huesos porque en esa forma se elimina la médula ósea.

La extirpación del bazo no impide que se forme bilirrubina. Al bloquear el sistema reticulo-endotelial por la inyección de coloides (ej.: hierro coloidal) se han observado disminuciones transitorias de bilirrubina en la bilis.

ORIGEN HEPÁTICO: (21)

El papel del hígado fué demostrado claramente en las aves (ganso), pues en ellas la inhalación de hidrógeno arseniado produce hemólisis y hemoglobinemia, que es seguida de ictericia; pero no aparece la ictericia si se les extirpa el hígado. (Minkoskowsky y Naunyn) Esta ausencia de ictericia se atribuyó a la ausencia de las células hepáticas, pero Mc Nee piensa que se debe a que la hepatectomía suprime el sistema reticuloendotelial, que en dichos animales está concentrado principalmente en el hígado.

En el perro la inyección de la toluidinamina produce ictericia, pero ésta sólo llega a un tercio de su intensidad si al animal se le extirpa el hígado. (Melchior, Rosenthal y Licht) 5b. Estos autores creen que la célula hepática forma dos tercios de la bilirrubina y sólo un tercio tendría origen extrahepático.

En resumen: el origen extrahepático y hepático, es admitido por todos los experimentadores. Lo que se discute aún es:

- Si la formación mayor es extrahepática (Mann) o hepática (Rosenthal); 5a y 5b.)
- si la bilirrubina se forma en el sistema reticuloendotelial (Aschoff) (5a.) (Mc Nee) o si su origen principal está en la célula hepática (rosenthal) (5b.)

ICTERICIA: (8-9-10-11-13)

La ictericia se refiere a un estado en que las escleróticas, la piel del paciente y en cierto grado las mucosas, toman un tinte amarillento verdoso como resultado de la tinción que sufren por los pigmentos biliares.

La intensidad de la ictericia varía mucho, pasando desde una coloración apenas perceptible de las escleróticas, sin cambio evidente en la piel, hasta una pigmentación muy evidente en las escleróticas y la piel, que tiene color amarillo intenso y la segunda casi café.

La ictericia mínima puede ser descubierta, en la mucosa del paladar duro o en los labios cuando se comprimen en una lámina de vidrio.

Los términos "ictericia latente o subclínica" se usan algunas veces para indicar un grado de bilirrubinemia que es tan ligero que no se nota en la piel y las escleróticas tienen apariencia normal; o están muy ligeramente teñidas. En tales casos la anomalía se reconoce sólo por procedimientos de laboratorio.

Los pigmentos de la bilis se derivan de los glóbulos rojos. Se presenta un aumento por encima de lo normal de los pigmentos biliares del plasma, cuando la destrucción de glóbulos rojos es mayor que lo normal, o cuando hay alteración de las funciones hepáticas.

Cuando la concentración de pigmentos biliares del plasma excede de 2 mg % se observa ictericia.

La interpretación de la ictericia requiere el conocimiento del proceso normal de la destrucción sanguínea y la comprensión de la función hepática, así como de las distintas pruebas empleadas para medir estas funciones, incluyendo los medios por los cuales se puede determinar la permeabilidad de las vías biliares.

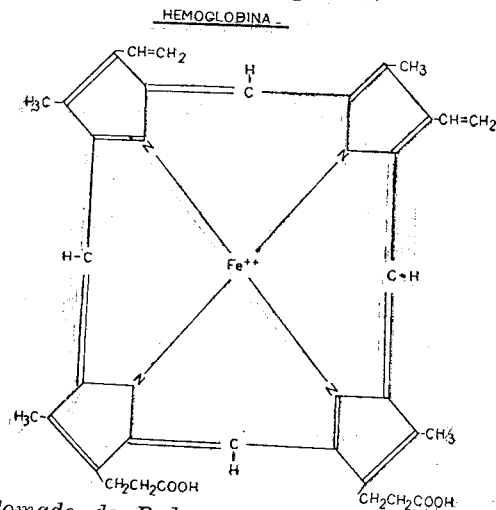
PROCESO NORMAL DE LA DESTRUCCION SANGUINEA: (7-9-14)

En condiciones normales, como resultado del paso de los glóbulos rojos por la circulación, son destruidos diariamente

alrededor de 120 de todos los eritrocitos del cuerpo, esto es la vida media del eritrocito, se cree que es de unos 120 días. No se conoce el modo exacto de destrucción pero parece que lo llevan a cabo las células del sistema reticuloendotelial. Estas células se encuentran sobre todo en el hígado, el bazo y la médula osea, pero también están presentes en todo el cuerpo. Es por estas células que en una contusión o hemorragia bajo la piel se ve el cambio de coloración azul oscuro a café, verde y por fin amarillo, correspondiendo estos cambios a la fragmentación de los eritrocitos y a que los productos de desintegración son movilizadas de modo gradual. El hígado se encarga de la bilirrubina liberada por el sistema reticulo-endotelial.

Es la alteración de esta función la que conduce al desarrollo de la ictericia, a través de una enfermedad hepática, obstrucción o incapacidad del hígado para manejar las cantidades crecientes de pigmento biliar que le llegan.

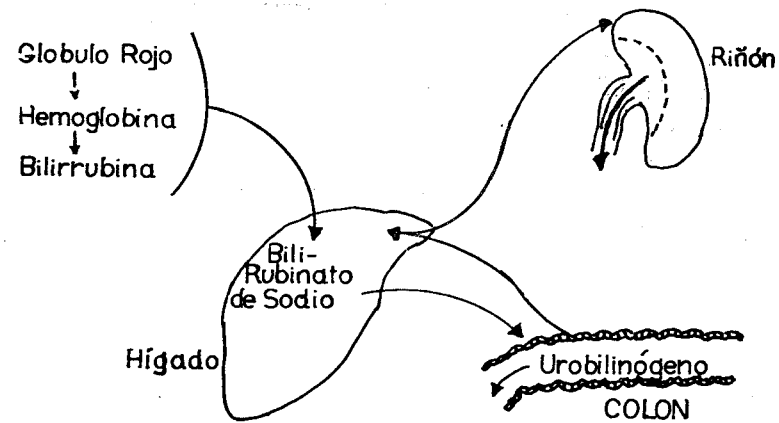
La hemoglobina forma cerca del 90% del glóbulo rojo. Como se demuestra en el cuadro adjunto (9) la hemoglobina se compone de Porphirina, hierro, y globina. La porfirina ha sido llamada protoporfirina 9, tipo III. Como otros anillos de porfirina consta de cuatro núcleos pirrólicos conectados unos con otros por fuentes de meteno (CH-). El complejo porfirina hierro se conoce como *heme*, cuatro de estas moléculas heme están unidas a una molécula de globina.



Tomado de Pedro Pons. Patología Médica

En la actualidad se cree, aunque no ha sido completamente comprobado, que la hemoglobina es fraccionada primero por la apertura del puente (a) meteno en el núcleo por fin, permaneciendo el hierro y persistiendo la unión con la globina para formar un compuesto biliar verde de pigmento hierro-proteína conocido como VERDEHEMOGLOBINA. Entonces el hierro es separado y viaja de ahí en adelante con la fracción globina del plasma como "hierro plasmático". La globina probablemente permanece ligada por un tiempo a la hemoglobina restante, en especial bilirrubina, en cuya forma es acarreada en la fracción albúmina del plasma. En esta forma ("bilirrubinoglobina") es como se presenta la bilirrubina al hígado en donde, a través de la actividad de las células de Kupffer o células de parenquima hepático la hemoglobina es separada y regresada a la reversa corporal de proteínas. La bilirrubina, liberada ahora de hierro y globina, es un producto desecho. Pasa a los canalículos biliares y de allí a los conductos biliares, al colédoco y al duodeno. (Todo este proceso puede apreciarse en el cuadro aquí presente).

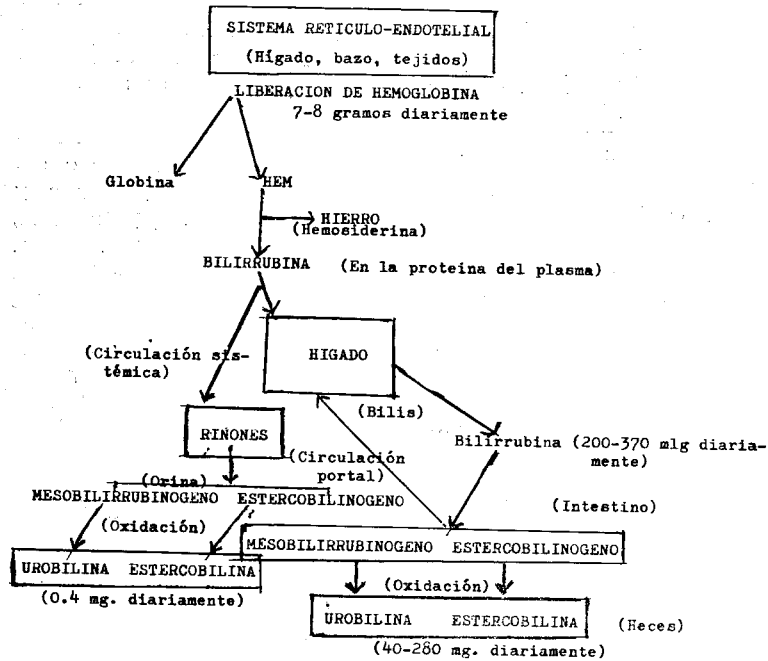
SISTEMA "RETICULO-ENDOTELIAL"



El destino ulterior de la bilirrubina es de gran interés, ya que en estado patológico, y en cierta proporción, en el in-

dividuo normal, parece que algunos derivados son absorbidos en el intestino. La bilirrubina es reducida y convertida en el colon, por la actividad de la flora bacteriana intestinal.

FORMA GRAFICA PARA DEMOSTRAR EL CALEOLISMO DE LA BILIRRUBINA.



(Esta gráfica fué tomada de L. Emmett y John Howland. Tratado de Pediatría Tomo I. Pag. 113)

CLASIFICACION DE ICTERICIA:

CAUSA

MECANISMO FUNCIONAL

EJEMPLOS CLINICOS

MECANISMO FUNCIONAL	CAUSA	EJEMPLOS CLINICOS
Producción excesiva	Enfermedad hemolítica y reacciones.	Enfermedades hemolíticas del recién nacido. Ictericia acolúrica (Esferocítica). Otras anemias hemolíticas. Reacciones hemolíticas por drogas. Transfusión de sangre incompatible.
Retención.	Inmadurez del hígado. Hipofunción hepática (anoxia).	Ictericia fisiológica del recién nacido. Hiperbilirrubinemia familiar constitucional.
	Infección.	Congestión pasiva crónica. Sepsis neonatal. Enfermedad de Weil's. Fiebre amarilla. Hepatitis a virus.
	Drogas y pociones.	Fósforo, bismuto. Tetracloruro de carbono. Cloroformo. Arsénico, Oro. Hongos.
	Desorganización estructural. Infección.	Cirrosis (portal) Colangitis.
	Anomalias congénitas. Cálculos.	Atresia biliar de colédoco o cístico. Colédoco litiasis.
	Desconocidas. Desconocidas.	Cirrosis de Hanot.

Ictericia no obstructiva.

Ictericia obstructiva (regurgitación).

Método usado anteriormente en el Hospital Roosevelt.

Este método está basado en la técnica de Malloy y Evelyn, es un macrómetro verificando las lecturas en un foto-colorímetro Klett-Summerson.

Para el estudio que nosotros seguimos se usó un micrométodo que se describe a continuación:

Objetivos de desarrollo de un Micrométodo:

- a) Trabajar con sueros de recién nacidos normales, en los cuales se pensaba encontrar cantidades bajas de bilirrubina que no era posible dosificar exactamente con el método anterior.
- b) Estudiar niños recién nacidos en quienes es imposible obtener grandes cantidades de sangre, como la usada en los macrométodos.
- c) Por haberse comprobado en repetidas oportunidades que la lectura de la muestra daba valores altos, debido a que el suero se enturbiaba por la precipitación de las proteínas en contacto con el alcohol metílico, se trató en el nuevo método de obviar este inconveniente y motivo de error.
- d) Estudiar niños que necesiten determinaciones de bilirrubina repetidas cada cierto número de horas. En el Hospital Roosevelt se había tropezado con la dificultad de obtener 0.5 mL de suero varias veces al día en el mismo niño, cuando había interés de establecer una curva de bilirrubina, especialmente en los casos de Enfermedad Hemolítica del recién nacido.

Descripción del Método.

MATERIAL NECESARIO.

A) Reactivos:

- a) Solución de ácido sulfanílico al 13.5%
- b) Solución de nitrito de sodio al 0.5%

(Esta solución debe renovarse cada 8 días).

- c) Solución de ácido clorhídrico al 1.5%
- d) Alcohol metílico.
- e) Solución de ácido tricloracético al 13. %

B) Cristalería:

- a) Tubos de hemólisis de 50 mm. de longitud y 5 o 6 mm. de calibre.
- b) Gradillas para tubos de hemólisis.
- c) Pipetas.

2 pipetas de 1 mL graduadas al centésimo.

Pipetas de construcción tipo Long-Levy de los siguientes tamaños:

- Pipeta 0. 180 c.c.
- Pipeta 0.1100 c.c.
- Pipeta 0. 080 c.c.
- Pipeta 0. 020 c.c.

C) Material y equipo para recolectar muestras:

- a) Tubos de hemólisis y sus tapones de hule.
- b) Bisturi No. 65.
- c) Espectrofotómetro de Beckman, modelo Du con micro adaptador para cantidades de 0.060 c.c. de solución Beckman Instruments Inc., Fullerton, California, U.S.A.

Forma de tomar muestra:

La primera muestra se puede tomar en el momento de nacer el niño del cordón umbilical, las siguientes muestras se tomarán del talón a través de una punción en el talón con el bisturi. Para recoger las muestras se utiliza el tubo de hemólisis.

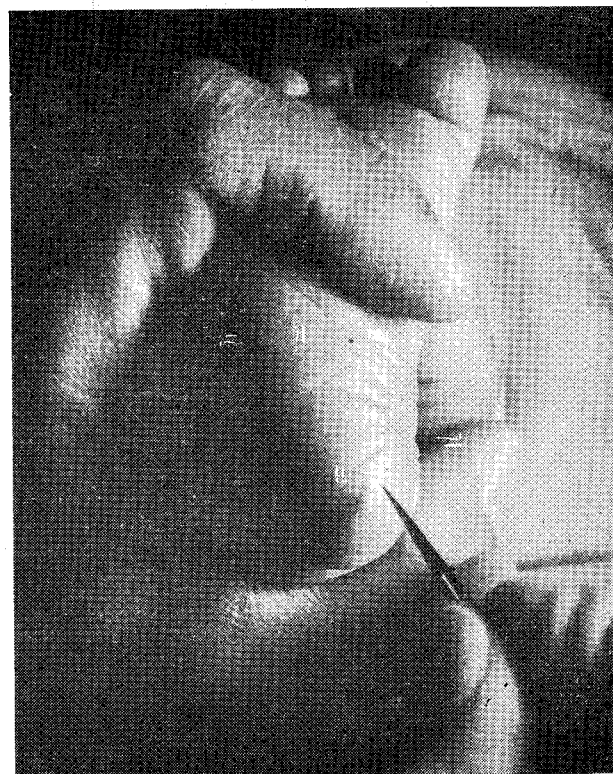
No se usaron los vasos capilares que describe Diamond y Allen (12), "Micro-Hinton Tubes", porque se trató de obtener mayor cantidad de suero para otras determinaciones.

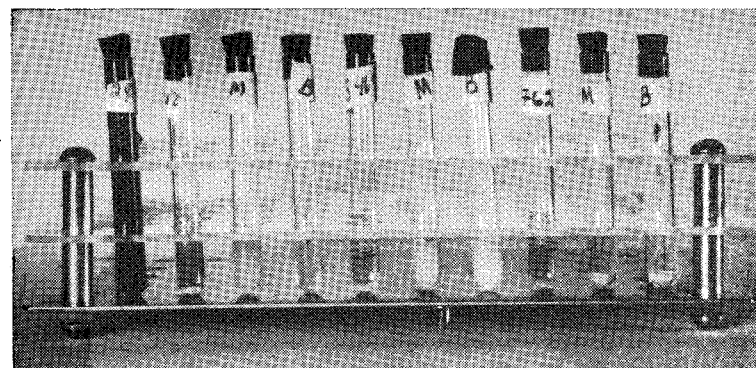
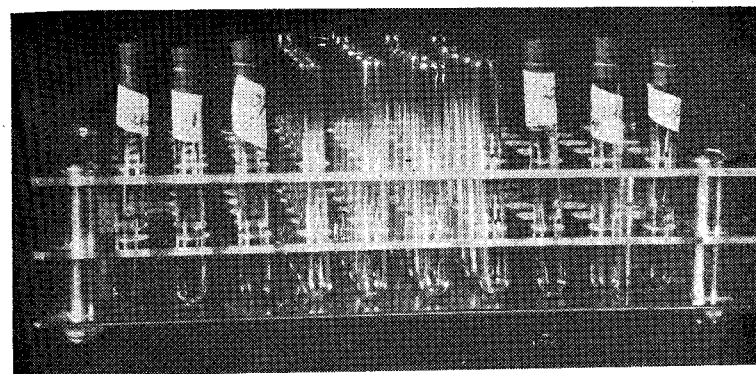
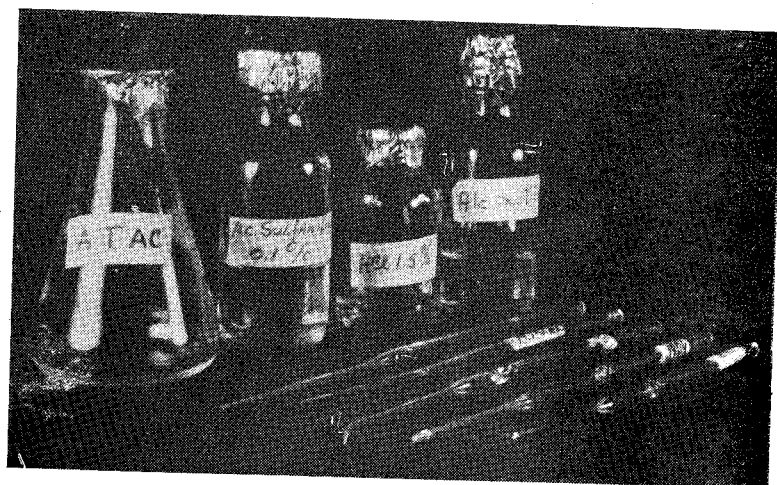
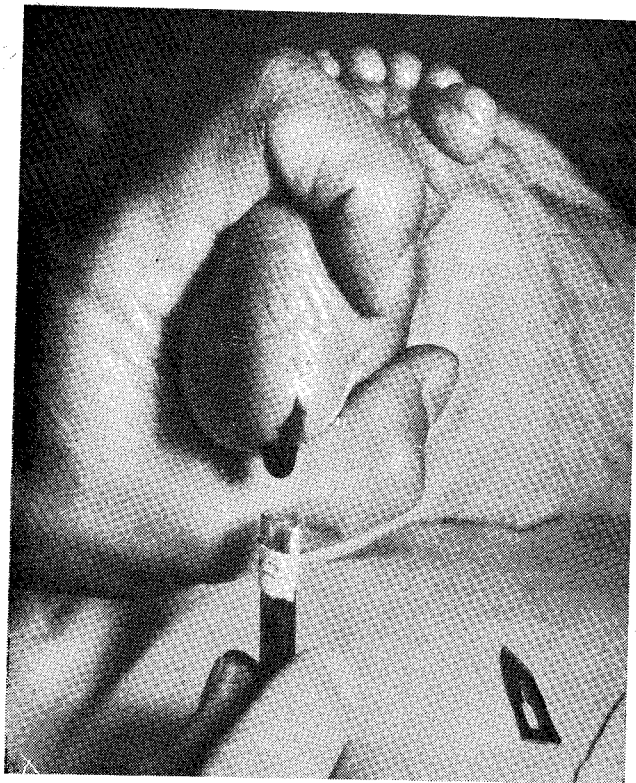
En el momento de tomar la muestra se practica poca presión en la planta del pie, con lo que se obtiene un mejor sangramiento. Hemos comprobado que no se produce hemólisis con este método; obteniendo simultáneamente muestras del ta-

lón por punción de la vena femoral y otras, sin encontrar en ningún caso hemólisis.

Cuando es necesario tomar varias muestras de sangre en un mismo niño, con sólo limpiar bien la pequeña herida anterior, se obtiene una cantidad de sangre similar a la obtenida la primera vez. En nuestra experiencia se pudo recolectar sangre de la primera incisión hasta 36 horas después de efectuada ésta.

Una vez se han tomado las muestras, se dejan a la temperatura del ambiente durante media hora, luego un lapso de tiempo igual en el refrigerador y finalmente se centrifugan a 3,000 rpm obteniéndose con ésto aproximadamente el 45% de suero.





TECNICA PARA DETERMINAR VALORES DE BILIRRUBINA EN EL SUERO.

1. Preparación del diazo-reactivo (poco antes de usarse).

Mezclar en el tubo de ensayo 1 cc. de solución de ácido sulfanilaco y 0.3 cc. de nitrito de sodio.

2. Dilución de los Sueros:

Mezclar en tantos tubitos de ensayo pequeños como pruebas a hacer, 180 lambdas de agua destilada y 180 lambdas de suero.

3. Bilirrubina total:

Tubos de ensayo: colocar en la gradilla 2 tubos para cada muestra (uno servirá para la prueba (A) y el otro para el blank (B)).

- a. En todos los tubos pipetear 100 lambdas de alcohol metílico.
- b. En todos los tubos (B) pipetear 20 lambdas de HCl al 1.5%.
- c. En todos los tubos (A) pipetear 20 lambdas de diazo reactivo.
- d. En todos los tubos (A) pipetear 80 lambdas de suero diluido y tomar tiempo.
- e. A los 30 minutos agregar 20 lambdas de ácido tricloroacético al 13%, y dejar reposar por 10 minutos. Centrifugar a toda velocidad (3000 rpm) por 10 minutos.
- f. Transvasar el sobrenadante claro a cubetas del Beckmán y leer la densidad Optica a 540 mu.

4. Bilirrubina Directa:

Tubos de ensayo: Colocar en la gradilla 2 tubos para cada suero, igual que en la bilirrubina total.

- a. Pipetear en todos los tubos 100 lambdas de agua destilada.
- b. Pipetear en los tubos (B) 20 lambdas de HCl al 1.5%.
- c. Pipetear en los tubos (A) 20 lambdas de diazo-reactivo.
- d. Agregar al tubo (A) y (B) 80 lambdas de suero diluido y tomar tiempo.

- e. Durante el minuto de espera mezclar y transvasar a las cubetas del Beckman y leer al minuto exacto.
- f. Vaciar las celdas del Beckman con succión y proceder con cada una de las muestras restantes en igual forma.

PREPARACION DE LA CURVA STANDARD (O TIPO).

Para preparar el Standard se tomó bilirrubina pura (Armour Laboratories No. M470109 and M480602 and Hoffmann-La Roche, Inc. 8508174), disolviendo 10 miligramos en 100 cc. de cloroformo; seguidamente se hicieron diluciones de ésta en alcohol metílico en la forma siguiente:

- a) 1 miligramo de solución de bilirrubina en 100 cc.=1 mg.
- b) 2.5 miligramos de solución de bilirrubina en 100 cc.
- c) 3.3 miligramos de solución de bilirrubina en 100 cc.
- d) 4.0 miligramos de solución de bilirrubina en 100 cc.

Estas diluciones se trataron como si fueran muestras de sueros humanos utilizando los mismos reactivos y el mismo tiempo tanto para la bilirrubina directa como para la total. Para el Standard de bilirrubina directa se usó alcohol metílico en vez de agua, debido a que ésta no se mezcla con el cloroformo.

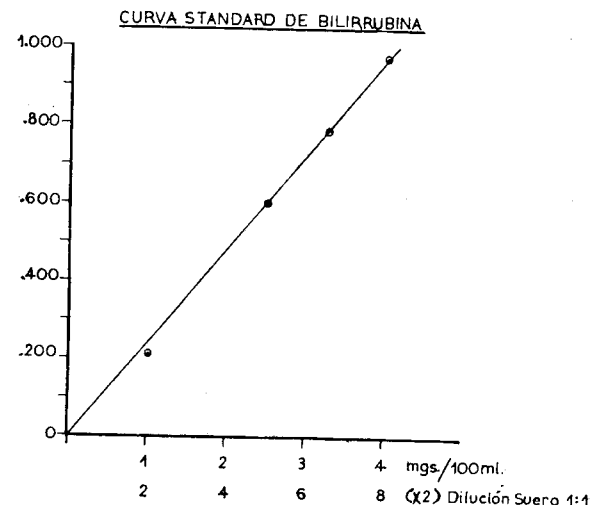
El resultado del Standard para la Bilirrubina Directa no se pasó a una gráfica por ser semejante a la curva de la B. Total.

Cálculo:

$$\frac{\text{D.O. Muestra}}{\text{D.O. Standard}} \times \text{concentración Standard/ 100 ml} \times 2 = \frac{\text{mlgs Bilirrubina}}{\text{/ 100 ml suero.}}$$

D.O. = Densidad Óptica leída en el Espectofotómetro.

A continuación presentamos la curva Standard o tipo.



Cálculo:

$$\frac{\text{D.O. de Muestra}}{\text{D.O. de Standard}} \times \text{Concentración St/100ml.} \times 2 =$$

= mgs. Bilirrubina / 100 ml de Suero

CUALIDADES QUE ENCONTRAMOS CON EL MICROMETODO:

- 1) La cantidad de sangre que se necesita es de 180 lambdas (0.180 de cc.) de suero.
- 2) Con el uso de la pequeña incisión en el talón del pie se evita la punción venosa con aguja y jeringa, método que plantea problemas al niño, y especialmente en el recién nacido y prematuro.
- 3) Posibilidad de obtener varias muestras de la misma incisión aún 36 horas después de efectuada ésta. Nos parece ésta una de las mayores ventajas de usar el micrométodo referido, especialmente cuando se necesita una curva de bilirrubina, como en el caso de los niños con eritroblastosis.

- 4) En las técnicas anteriormente descritas por otros autores (14-23-24-25) la lectura de las muestras en el espectofotómetro o en colorímetros es alterada por la precipitación de las proteínas plasmáticas en contacto con el alcohol metílico. En el método que presentamos, creemos que esta dificultad desaparece por la adición del ácido tricloroacético y centrifugación posterior, que elimina las proteínas y por consiguiente el enturbiamiento.
- 5) El uso del Espectofotómetro de Beckman da mayor sensibilidad al procedimiento.

BILIRRUBINA EN RECIEN NACIDOS NORMALES DE GUATEMALA.

Método y material de estudio.

Se estudiaron 60 niños recién nacidos en sus primeras 72 horas de vida haciendo determinaciones de bilirrubina cada 12 horas siguiendo el método anteriormente descrito.

MADRES:

De las 60 madres de nuestros pacientes, 32 asistieron a la consulta prenatal y representa un 53.33% de los casos. A todas las pacientes se les practicó estudio social.

Todas las pacientes han tenido historia clínica y examen clínico de rutina, con cuidadosa anotación de su historia obstétrica, condiciones al nacimiento y período neonatal de sus hijos anteriores; se les ha practicado grupo sanguíneo, factor Rh, recuento fórmula y hemoglobina, orina, heces, test serológicos investigando sífilis, gota gruesa investigando hematozooario. Los partos fueron atendidos en la maternidad del Hospital Roosevelt.

NIÑOS:

Todos los niños han tenido historia y examen físico de rutina, investigación cuidadosa de aparición de ictericia, tamaño del hígado y bazo. Controles clínicos periódicos cada 12 horas.

Se les practicó examen, investigando grupo sanguíneo y factor Rh, determinación de bilirrubina cada 12 horas, tomándose la primera muestra del cordón umbilical y las subsiguientes de sangre periférica.

Se seleccionaron para este estudio aquellos niños en quienes se eliminó la posibilidad de incompatibilidad AB/O, y de sistema Rh.

También fueron eliminados aquellos que presentaban cualquier circunstancia capaz de elevar la bilirrubinemia (Enfriamiento, premadurez, anoxia, traumatismos, anomalías congénitas u otras enfermedades).

RESULTADOS:**PESO DE LAS MADRES**

Libras	100-110	110-120	120-130	130-140	140-150	150-160
No. de madres	4	30	12	7	4	3
Porcentaje	6.6%	50%	20%	11.6%	6.6%	5%

TALLA DE LAS MADRES

Libras:	142-144	144-146	146-148	148-150	150-152	152-154	154-156	156-158	160
No. de madres:	2	8	5	17	15	3	6	3	1
Porcentaje:	2.33%	13.33%	8.33%	28.33%	25%	5%	10%	5%	1.66%

HISTORIA OBSTETRICA DE LAS MADRES

	Embarazo mayor de 40 semanas	Embarazo menor de 40 semanas	Embarazo Normal	Embarazo Anormal	Parto Eutócico	Parto Distócico	Cesárea
No. de madres:	43	17	60	0	59	1	0
Porcentaje:	71.66%	28.33%	100%	0%	98.33%	1.66%	0%

Enfermedades de las madres:

De las 60 madres estudiadas, 14 (23.33%) padecían de parasitismo intestinal, encontrándose con mayor frecuencia *Ascárides* y *Trichuris Trichiura*. Tres de ellas padecían de anemia del embarazo, que habían sido tratadas en el servicio prenatal del Hospital Roosevelt, y dos padecían de desnutrición.

Todas las pacientes fueron controladas con examen de cardiolipina, siendo en todos los casos negativo; en igual forma se les practicó investigación de hematozorrio por medio de "gota gruesa" que resultó negativa para los 60 casos.

Condiciones clínicas de los niños.

Embarazo: Los 60 niños estudiados no presentaron ninguna anormalidad en el curso de su embarazo, siendo el 71.66% de los casos de 40 o más semanas de embarazo.

Parto: En el —98.33% de los casos el parto fué eutócico simple, sólo un niño nació por forceps debido a que la madre padecía de pelvis parcialmente estrecha. En este caso se administró a la madre anestesia trilete cuando egresó a las 72 horas de nacido, se encontraba clínicamente en buenas condiciones.

Evolución.

Todos los niños fueron examinados inmediatamente después del nacimiento, y en los días sucesivos de su hospitalización; se les practicó un examen clínico inicial y exámenes periódicos cada 12 horas.

De los niños controlados 55 (91.33%) se encontraron normales, y 5 (8.33%), presentaron anormalidad. Las alteraciones encontradas fueron las siguientes: 3 niños padecieron de conjuntivitis aguda; uno presentó sangramiento excesivo a nivel de la pequeña punción practicada para obtener la muestra de sangre, y manchas petequiales en diferentes partes del cuerpo, esta condición no fué diagnosticada. Otro niño presentó alza febril de 38.5 grados centígrados que se consideró como fiebre por deshidratación.

Condiciones al nacimiento.		Evolución.	
Normal	Anormal	Normal	Anormal
59	1	55	5
98.33%	1.66%	91.66%	8.33%

Ictericia y tiempo de aparición.

De los 60 niños estudiados 30 (50%), presentaron ictericia desde el punto de vista clínico, la ictericia la clasificamos como leve, mediana y fuerte. El momento en que ésta apareció, como puede verse en la gráfica, fué desde las 24 horas hasta 48 horas después de nacidos. En el 50% de los casos apareció entre las 36 y 48 horas después del nacimiento.

Ictericia.		Tiempo de aparición.			
Presente	Ausente.	0-12	12-24	24-36	36-48
30	30	0	1	14	15
50%	50%	0%	3.33%	46.66%	50%

Grupo Sanguíneo y factor Rh en las madres y niños.

Como puede verse en los cuadros referentes a grupos sanguíneos y Rh el 85% de las madres tenían grupo sanguíneo y el 98.33% fueron Rh positivo.

De los niños estudiados el 71.66% eran grupo sanguíneo y factor Rh positivo en todos los casos.

MADRES

Grupo sanguíneo.				Rh (anti D, Rho).	
O	A	B	AB	Rh+	Rh—
51	9	0	0	59	1
85%	15%	0%	0%	98.33%	1.66%

NIÑOS

Grupo sanguíneo.				Rh (anti D, Rho).	
O	A	B	AB	Rh+	Rh—
43	12	5	0	60	0
71.66%	20%	8.33%	0%	100%	0%

Sexo, peso y talla de los niños.

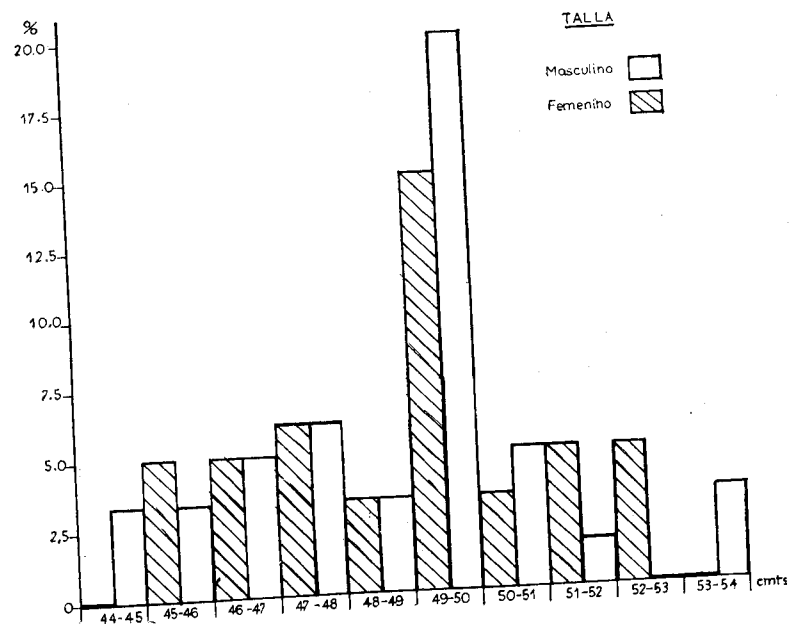
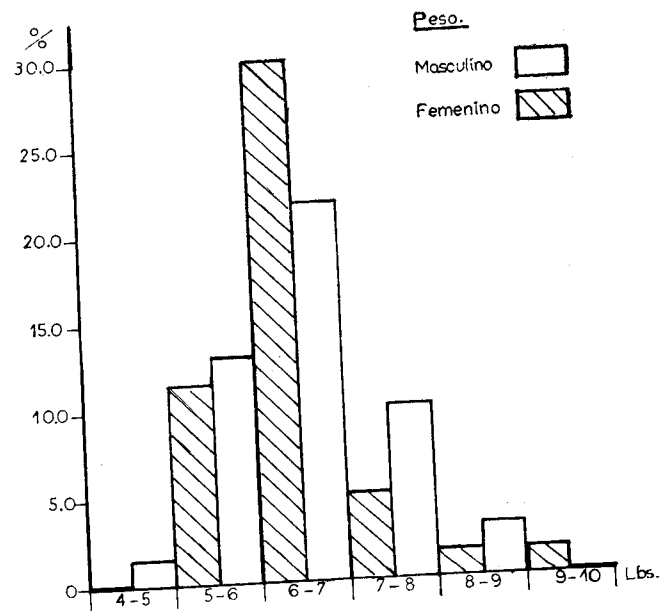
De los niños estudiados 30 fueron de sexo masculino y 7 de sexo femenino. El 71.9% de los niños estudiados de ambos sexos, pesaron entre 5±7 libras; sólo un niño pesó 4 libras onzas. De los niños estudiados 7 fueron prematuros por peso pesando menos de 5 libras, lo que da un porcentaje de 11.66% de los casos.

La talla de los niños estudiados varió entre 44 y 56 centímetros. El 54.8% de los casos midió entre 46 y 50 cm.

Los niños comprendidos entre 44 y 46 centímetros de ambos sexos fué de 8.6% y de 50 a 54 cm. fué de 23.26% de los casos.

PESO DE LOS NIÑOS

Peso	4+—5	5+—6	6+—7	7+—8	8+—9	9+—10
Masculinos.	1	8	13	6	2	0
	1.66%	13.3%	21.6%	10%	3.3%	0%
Femeninos.	0	7	18	3	1	1
	0%	11.66%	30%	5%	1.66%	1.66%



TALLA DE LOS NIÑOS

T =	44+	45	45+	46	46+	47	47+	48	48+	49	49+	50	50+	51	51+	52	52+	53	53+	54	54+	55
M =	2	2	2	3	3	4	4	2	2	12	3	1	0	2	0	3.3%	0%					
	3.3%	3.3%	3.3%	5%	5%	6.6%	6.6%	3.3%	3.3%	20%	5%	1.66%	0%	3.3%	0%							
F =	0	3	3	3	4	2	2	9	3	2	3	3	0	0	0	0%	0%					
	0%	5%	5%	5%	6.6%	3.3%	3.3%	15%	3.3%	5%	5%	5%	0%	0%	0%							

T- Talla; M- Masculino; F- Femenino

A continuación presentamos el estudio de un niño como ejemplo:

Caso No. 39.

Record = 18,389. Nombre de la madre: Tan Liques Modesta.
Fecha y hora del nacimiento: 8 de Octubre de 1958 a las 20.24 horas.

Madre: Peso: 120 libras; talla: 149 cm.; Tiempo de embarazo: 40 semanas. Tipo de parto: Eutócico simple; condiciones físicas: buenas.

Grupo sanguíneo: 0. Cardiolipina: Negativa.
Rh (anti D, Rho): + Gota gruesa: Negativa.

Niño: Sexo masculino, peso 7 libras 3 onzas, talla 50 cm.
Condiciones clínicas al nacer: buenas.

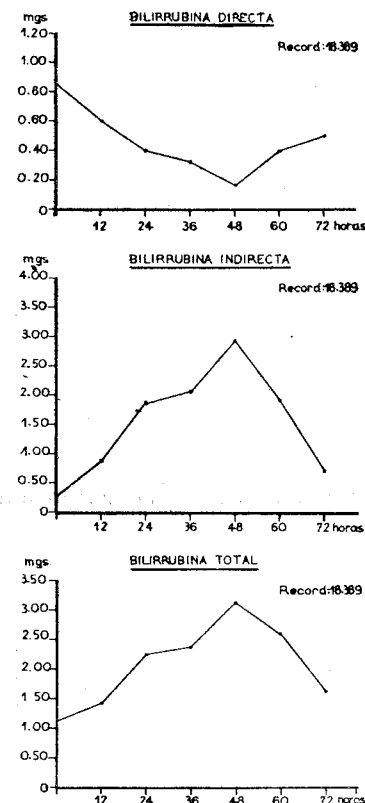
Evolución: Niño controlado desde su nacimiento con intervalos de 12 horas a las 36 horas de nacido, presenta ictericia de carácter leve; no hay hepato ni esplenomegalia, succiona fuerte.

Grupo sanguíneo: 0, factor Rh: positivo.

BILIRRUBINEMIA DETERMINADA CADA 12 HORAS

Horas	0	12	24	36	48	60	72
Directa	0.87	0.60	0.40	0.32	0.18	0.40	0.90
Total	1.18	1.45	2.25	2.34	3.16	2.30	1.67
Indirecta	0.30	0.87	1.85	2.01	2.99	1.90	0.70

A continuación presentamos la curva de bilirrubinemia de este caso. Como puede observarse se determinaron los valores de bilirrubina directa, indirecta y total, a pesar de las pequeñas cantidades de sangre obtenidas para dichas determinaciones.



Curvas de bilirrubinemia encontradas en nuestros casos.

Todos los autores que se consultaron para este estudio están de acuerdo en la forma y causa de la producción de bilirrubinemia, especialmente en recién nacidos. Los valores encontrados por Gaisford (15), Potte (3), Smith (4), se encuentran altos comparándolos con los nuestros; sin embargo, debe tomarse en cuenta el método seguido por ellos, la clase de pacientes, y el número estudiado. En nuestros casos hubo niños que presentaron valores hasta de 9 mlgs.; pero al sacar de todos los casos el promedio y sus desviaciones standard, pudo comprobarse que el valor más alto de bilirrubinemia encontrado fué de 5.60 mlgs. Nosotros consideramos como causa primor-

dial de estos valores, que el método usado por nosotros evita la turbidez que es la que seguramente hace que los datos sean falsados.

Como puede verse en la curva de bilirrubina directa, ésta permaneció en todos los casos con niveles bajos como lo reportado por otros estudios. (3-4-21). La desviación standard la consideramos de gran importancia porque con ella podemos hacer un límite entre los valores normales máximos, y todos los que se encuentren a determinadas horas por encima de dicha curva pueden considerarse como anormales.

En las curvas que presentamos, con intervalos de 3 horas para cada muestra, comenzando desde la hora "0" que es la sangre obtenida en el momento del nacimiento del cordón umbilical hasta las 64 horas de vida, no fué posible hacerla hasta las 72 horas, debido a que muy pocos niños permanecen ese tiempo en el hospital.

Sangre Obtenida del Cordón Umbilical

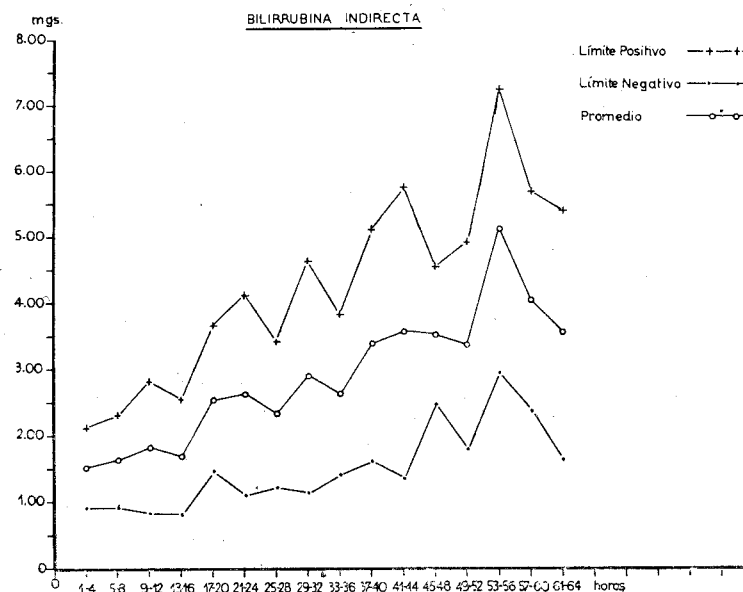
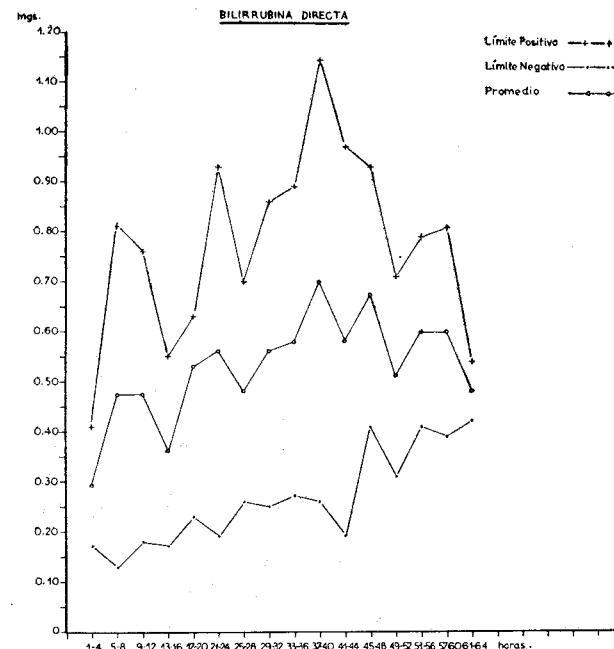
Directa:	Promedio	0.42	mlgs%,
	Desviación positiva	0.75	mlgs%,
	Desviación negativa	0.09	mlgs%,
Indirecta:	Promedio	1.02	mlgs%,
	Desviación positiva	1.66	mlgs%,
	Desviación negativa	0.38	mlgs%,
Total:	Promedio	1.44	mlgs%,
	Desviación positiva	2.06	mlgs%,
	Desviación negativa	0.82	mlgs%.

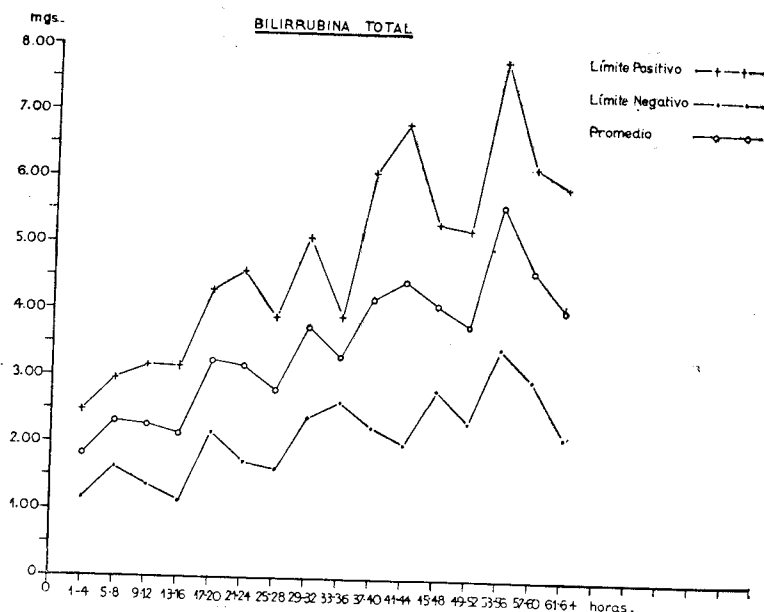
Forma de obtener la desviación standard:

$$X_1 = \frac{\sum X_i}{n_1} = \text{Promedio.}$$

$$S^2 = \left[\frac{\sum X_i^2}{n_1} - \frac{(\sum X)^2}{n_1} \right] / n_1 - 1 = \text{Desviación Standard}$$

$$S = \sqrt{S^2}$$





DISCUSION

Como puede observarse en las curvas de bilirrubinemia, las gráficas comienzan en las primeras 4 horas de nacido el niño y terminan a las 64 horas.

La muestra considerada como la "0" horas corresponde a la tomada del cordón umbilical; la cual no fué tomada en cuenta para estas gráficas porque consideramos que es un dato diferente, porque en éste intervienen otros factores: Como son la placenta, circulación materna, estado clínico de la madre, además estas muestras fueron refrigeradas por un mayor número de horas, que las tomadas después de nacido el niño.

La Bilirrubinemia de las 64 a las 72 horas no aparece en las gráficas debido al pequeño número de muestras obtenidas en estos niños; pues las madres fueron dadas de alta antes de las 72 horas de nacido el niño.

Los valores de bilirrubinemia encontrados en recién nacidos del Hospital Roosevelt de Guatemala, son variables de acuerdo con las horas de vida.

En Bilirrubina directa, el valor promedio más alto encontrado fué de 0.70 mlgs. % entre las 37 y 40 horas después del nacimiento. Mientras que en las primeras cuatro horas de vida de estos niños, el promedio de bilirrubina Directa fué de 0.30 mlgs. %, con una desviación positiva de 0.12 mlgs. %.

Bilirrubina Total.

Los valores promedios encontrados como puede apreciarse en las gráficas, son bajos comparados con los otros autores (4).

Clement A. Smith, en su libro "The Physiology of the New-born infant" da valores hasta de 12 mlgs. %.

En nuestros casos el valor promedio más alto fué de 5.60 mlgs. % con una desviación positiva de 7.75 mlgs. %; que se presentó entre la 53 y 56 horas de nacidos.

La curva de bilirrubina indirecta varía también como las anteriores, de manera irregular. Los valores encontrados por nosotros son bajos en comparación con los datos obtenidos por Clement A. Smith (4).

El micrométodo usado para estas determinaciones, nos permitió llevarlas a cabo con pequeñas cantidades de sangre (180 lambdas).

No se usaron los micro-Minton Tubes descritos en la técnica de Allen y Diamond (12) por no tener microcentrifugas y necesitar mayor cantidad de sangre para otras determinaciones.

El artículo de David White publicado en "Clinical Chemistry" (27), usan tubos capilares de diámetros standard, microcentrífuga que da 10,000 rmp y usan de 20 a 50 lambdas de suero para sus determinaciones. Este trabajo no puede compararse con los datos nuestros porque en él no se encuentra especificado las horas en que fueron tomadas las muestras, que como lo demuestran nuestras gráficas son variables.

S U M A R I O

El presente estudio se refiere a la determinación de la bilirrubinemia en recién nacidos normales a término, nacidos en la maternidad del Hospital Roosevelt.

El número de niños estudiados fué de 60; se les dosificó la bilirrubinemia con intervalos de 12 horas a cada uno.

Los valores encontrados fueron variables de acuerdo a las horas de vida del recién nacido.

El método usado para estas dosificaciones está basado en la técnica de Malloy y Evelyn, con algunas modificaciones.

Las lecturas fueron practicadas en el espectrofotómetro de Beckman.

CONCLUSIONES:

- 1) El presente trabajo será de gran utilidad para estudios posteriores en los problemas de bilirrubinemia.
- 2) Las curvas de bilirrubinemia en los niños estudiados, no fué alterada por ninguna causa posible de las ya conocidas.
- 3) Los valores de bilirrubinemia en recién nacidos normales a término, varían en forma irregular, incluso cada hora.
- 4) La ictericia (desde el punto de vista clínico) de recién nacido, debida a causas fisiológicas, aparece en la mayoría de nuestros casos entre las 24 y 48 horas de vida.
- 5) El 50% de los niños estudiados por nosotros, presentaron ictericia, lo que está de acuerdo con los datos encontrados por otros autores (1-4).
- 6) Los niños prematuros incluidos en este trabajo, presentaron bilirrubinemia más alta que los niños normales a término, en igual forma la ictericia apareció más precozmente; esto confirma los datos que traen todos los estudios consultados para este trabajo.
- 7) Los niños recién nacidos, que presenten valores de bilirrubinemia por arriba de la desviación standard positiva encontrada en este estudio; deben de ser cuidadosamente evaluados, por la posibilidad de padecer de una incompatibilidad de grupo o de factor Rh.
- 8) El valor promedio de bilirrubina total encontrado en nuestros casos, es de 5.6 mgls. %.
- 9) La toma de muestras por medio de una pequeña punción en el talón, nos permite evitar mayores traumatismos al recién nacido, poder obtener varias muestras de la misma punción, menores riesgos y sufrimiento mínimo para el niño.
- 10) Las cantidades de sangre utilizadas para la dosificación de bilirrubinemia son mínimas, lo que representa una de las mejores ventajas de el micrométodo usado, sobre todo cuando se trabaja con recién nacidos y prematuros.
- 11) El uso del ácido tricloroacético nos permite lecturas exactas, sin enturbiamiento que es una causa de error apreciable.

Felipe Nery Fernández Gradiz.

Vo. Bo.
Dr. Carlos Vizcaino Gámez.

Imprimase:
Dr. Ernesto Alarcón B.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Neva M. Abelson, M.D. and Thomas R. Boggs Jr. M.D. "Erythroblastosis Fetalis Reprinted from Current Therapay, 1954. Published by W. B. Saunders Company.
- 2.—William Dameshek, M.D. and Martin C. Rosenthal M.D. "The Treatment of Acquired Hemolytic Anemia". The medical Clinics of North America Vol. 35, No. 5, September, 1951.
- 3.—Edith. L. Potter M.D. "Pathology of the Fetus and the Newborn. Capter 28. Page 536-543.
- 4.—Clement A. Smith M.D. "The Phisiology of the Newborn infant.
- 5.—Bernardo a Houssay "Fisiología Humana Cap. 4 pág. 30-43.
 - a) López García A. El síndrome coledociano Hachette, Buenos Aires 1943.
 - b) Rosenthal, F. Lich. y Melchior E. Klin Wschs 1927. "Origen Ictericia".
- 6.—Harrow. y Matzur. Tratado de Bioquímica Cap. 7, páginas 131-141.
- 7.—Callender, S. T. Powell E. O. y Witts, L. J. "The life-Span of the red cell in man". Jour. Path. 57,129 (1945).
- 8.—Wuintrobe. Hematología Clínica, cap. 3, pág. 59-106.
- 9.—Dr. Pedro Pons. Tratado de Patología Médica. Tomo 5. Enf. de la sangre. Pág. 246-253.
- 10.—Dr. Max Block. "Bilirrubinemia. Concepto Clínico. "Arch. Col. Med. El Salvador. Vol 2 No. 4. Diciembre 1949. Pág. 243-247.
- 11.—T. H. Harrison. Medicina Interna. Tomo I. Pág. 143-154.
- 12.—Fred H. Allen J. M.D. and Luis K. Diamond, M.D. "Erythroblastosis Fetalis". 1958.
- 13.—Dr. William A. Sodeman. "Fisiopatología Clínica. 1949. Pág. 538-586.
- 14.—M. M. Pickles. M.D. "Haemolitic Disease of the Newborn". 1949.
- 15.—Wilfrid Gaisford M.D. and Reginald Lightwood. Pediatrics for the Practitioner. (1953). Vol. I. Pág. 89.
- 16.—Dr. L. Emmett Holt y Dr. John Howland 1947. Tratado de Pediatría.

- 17.—Dr. G. Fanconi y Dr. A. Wallgreen. *Tratado de Pediatría* 1950.
 - 18.—Willrid Sheldon M.D. "Disease of Infancy and Childhood. 1955. Seventh Edition.
 - 19.—Abraham White. P.h.D. and Philip Handler. P.h.D. "Principles of Biochemistry.
 - 20.—Philip H. Mitchell. *Bioguinica*. 1956.
 - 21.—Hans Popper. M.D. Ph.D. and Fenton Schaffner, M.S., M.D. "Liver Structure and Function. 1957.
- Métodos.**
- 22.—Abraham Cantarow. M.D. and Max Trumper Ph.D. *Clinical Biochemistry* Fifth edition. 1955.
 - 23.—George Y. Shnowara. Ph.D. *Spectrophotometric Studies on blood and plasma. The Physical determination of hemoglobin and bilirubin* Am. J. Clin. Path. Med. 1954.
 - 24.—Philip B. Hawk. Ph.D., Bernald L. O. Ser. Ph.D. and William H. Summerson. Ph.D. *Practical Physiological Chemistry*, 1947. Cap. 23.
 - 25.—Gradwohl. *Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*. R. R. Race Ph.D. and Ruth Sanger Ph.D. *Blood Groups in Man* 1950.
 - 27.—David White, George Abu Haidar, and John G. Reinhold. Ph.D. *Spectrophotometric Measurement of Bilirubin Concentration in the serum of the Newborn by the Use of a Microciliary Method*. June. 1958. Volume 4 No. 3. *Clinical Chemistry*.
 - 28.—Ultra-micro Procedures in clinical Chemistry. Wendell T. Caraway and Helbert Fanger. M.D. *American Journal of Clinical Pat.* Vol. 25. Pag. 327. 1955.
 - 29.—Ultra micro Method; for serum Bilirubin by Diazo blue Reaction. Ramon E. Stones and Hary F. Weisberg. Vol. 3. No. 1, 1957.