

Comunicaciones

libres

(Primera parte)

Bioquímica en la secreción bronquial

Doctor G. Guzmán Blanco

La aplicación de la Bioquímica en Medicina desde hace muchos años resulta imprescindible para detectar gran número de enfermedades de diferente localización. Como es natural, las del aparato respiratorio no iban a ser excepción. Ultimamente se ha incorporado el estudio electroforético e inmunolectroforético del plasma en los casos de enfisema, ya que se ha pensado y al parecer probado que estos enfermos presentan una deficiencia o ausencia de alfa antitripsina en el suero, y esta sustancia se encuentra en su totalidad identificada con la globulina alfa.

Parece lógico pensar que este estudio bioquímico de la secreción bronquial dé más frutos que las investigaciones en la sangre de enfermos respiratorios, puesto que esta secreción es el fiel reflejo de lo que ocurre en la mucosa bronquial.

Hace siete años en un Simposio de Ciba en el que participaban investigadores tan importantes como Hayer, Reid, Hugh Jones, Comroe, etc., no se encontró que hubiera cosas dignas de mencionar en el estudio de la secreción bronquial, a pesar de que éste era el tema a tratar.

La escuela de Medicina de Lille, con Gernez-Rieux a la cabeza, con Biserte, Havez y Voisin entre otros, comenzó sus investigaciones sobre las proteínas de la secreción bronquial obteniendo resultados altamente satisfactorios, estudiando diferentes enfermedades de aparato respirato-

rio, exceptuando la tuberculosis, abscesos de pulmón, etcétera, por motivos de seguridad en la manipulación del material.

Nosotros, en principio, seguimos casi paso a paso sus mismas técnicas utilizando en nuestro estudio soportes de cristal y agarosa exclusivamente, pero poco tiempo después nos dimos cuenta que sin un montaje adecuado, y sobre todo sin contar con personal auxiliar muy adiestrado y con una dedicación completa, nos iba a ser muy difícil continuar nuestras investigaciones. Por todo ello en esta comunicación solamente queremos indicar cuál es nuestra técnica actual y las conclusiones a que hemos llegado.

La técnica de electroforesis en agarosa es universalmente conocida y de magníficos resultados, pero resulta laboriosa en todos los sentidos, desde la preparación de las placas hasta el tiempo de tinción, decolorado, etcétera. Por ejemplo, en Lille tienen un instituto dedicado exclusivamente a la bioquímica de las proteínas y todo el personal, médicos y ayudantes de laboratorio, trabaja únicamente en estas técnicas: preparado de tampones, la pasta de agarosa, cuidado de estufas y neveras, extensión de las placas y preparación de las mismas. Los médicos exclusivamente hacen el trabajo científico, lectura, valoración, etc. En nuestro caso, y creo que el de muchos otros, es bien diferente, ya que es necesario hacer el trabajo material y revisar con-

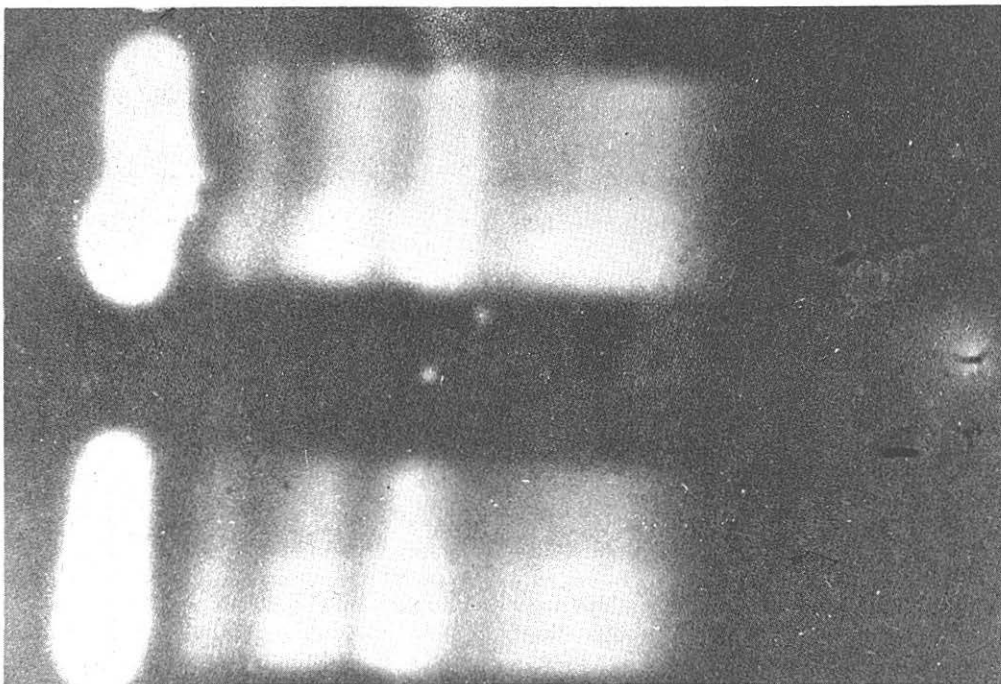


Figura 1

tinuamente lo que han hecho los demás, por los continuos errores, que hacen perder aún más tiempo que si lo hace uno mismo, lo que lleva consigo que el trabajo sea lento, teniendo en cuenta además que nuestra labor es fundamentalmente clínica, y que el dedicado al problema de la secreción bronquial hay que buscarlo como sea.

Por todo ello hemos empezado a utilizar otros materiales, entre los que se encuentran los derivados de acetato de celulosa-celotates, los foroslides de Millipore, etcétera. Estos materiales son costosos y exigen unas curvas distintas de las habituales, incluso, por ejemplo, en el caso de los foroslides la curva es muy especial y también bastante cara. En cambio su técnica es mucho más simple, y sobre todo ocupa directamente mucho menos tiempo, ya que todo el proceso de electroforesis lleva menos de una hora, teñido y secado incluido, y lo mismo ocurre con la inmunoelectroforesis, que si bien lleva mucho más tiempo, no es necesaria una atención directa. También tienen la ventaja que al hacerlos transparentes pueden ser valorados por

densitometría, o al ser cortados por bandas separadas pueden valorarse por procedimientos químicos, colorimétricos, etcétera, lo que no se podía hacer con las placas de agarosa.

La secreción bronquial, después de preparada y reducida, la hacemos liofilizar y conservamos cada muestra en ampollas separadas, para así, de este modo, poder disponer en cualquier momento, y aun pasados semanas o meses, de la misma muestra y poder someterla a distintas técnicas de examen. Cuando no podíamos liofilizar el producto teníamos que hacer en el mismo día todas las técnicas de tinción, etcétera, lo que nos obligaba a trabajar durante muchas horas. El moco bronquial, aun conservado en nevera, pierde sus características, o al menos se producen cambios en su estructura que hacen pierdan valor las investigaciones que se realicen pasadas las primeras veinticuatro horas.

Presentamos imágenes electroforéticas de muestras de moco bronquial pertenecientes a enfermos en distinto momento de su evolución o con distintos procesos broncopulmonares.

En la figura 1 tenemos el trazado electroforético de la sangre efectuado en material foroslide, con cinco bandas perfectamente separadas, veinte minutos, 100 voltios.

En la figura 2, un trazado con el mismo soporte. Secreción bronquial hidrosoluble (nosotros habitualmente trabajamos con moco fibrilar y desechamos el hidrosoluble). Observamos gran diferencia en la densidad de las bandas, sobre todo en globulina gamma, que es débil, ya que falta la parte de gamma A, sólo presente en el moco fibrilar; por tanto, solamente se encuentra su contenido en gamma G, tinción con Ponceau S.

La figura 3 muestra la secreción bronquial de un enfermo afectado de bronquitis trivial sin brote agudo y sin purulencia.

La figura 4 es un enfermo con una bronquitis crónica, habitualmente con expectoración blanca, aunque en el momento actual con un brote agudo y expectoración algo purulenta. Se observa un aumento

Figura 2

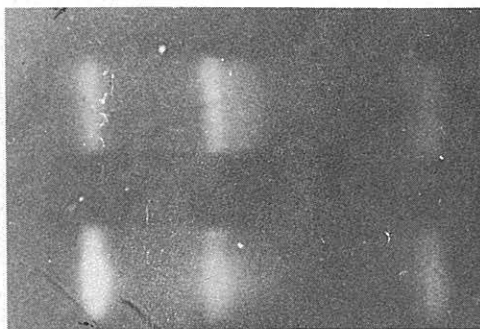
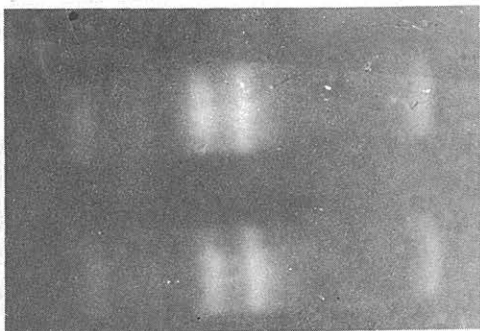


Figura 3

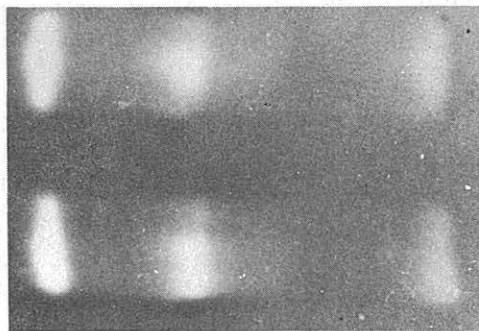


Figura 4

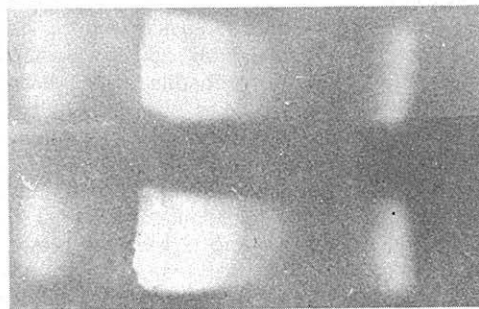


Figura 5

apreciable en la cantidad de globulina gamma y albúmina.

En la figura 5, que pertenece a un enfermo con una bronquitis crónica muy infectada y que sufre de disnea a veces importante, se observa un aumento de la globulina gamma de albúmina y asimismo ensanchamiento de la banda correspondiente a las beta (glucoproteínas).

En la figura 6 tenemos una preparación de secreción bronquial de un individuo con una bronquitis subaguda, sin que nunca haya tenido disnea paroxística. Esta preparación se ha teñido con PAS, específica de las glucoproteínas, observamos una banda muy tenue.

En la figura 7 vemos una preparación de secreción bronquial de un enfermo con una bronquitis crónica, pero que además tiene a intervalos relativamente frecuentes accesos de disnea paroxística espiratoria, que le duran varias horas. La secreción fue tomada durante una de estas crisis y teñida igualmente con PAS. Se observa una banda intensamente teñida, lo que demuestra que

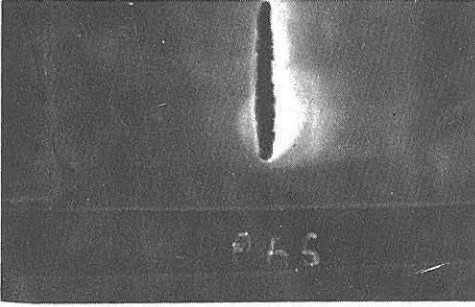
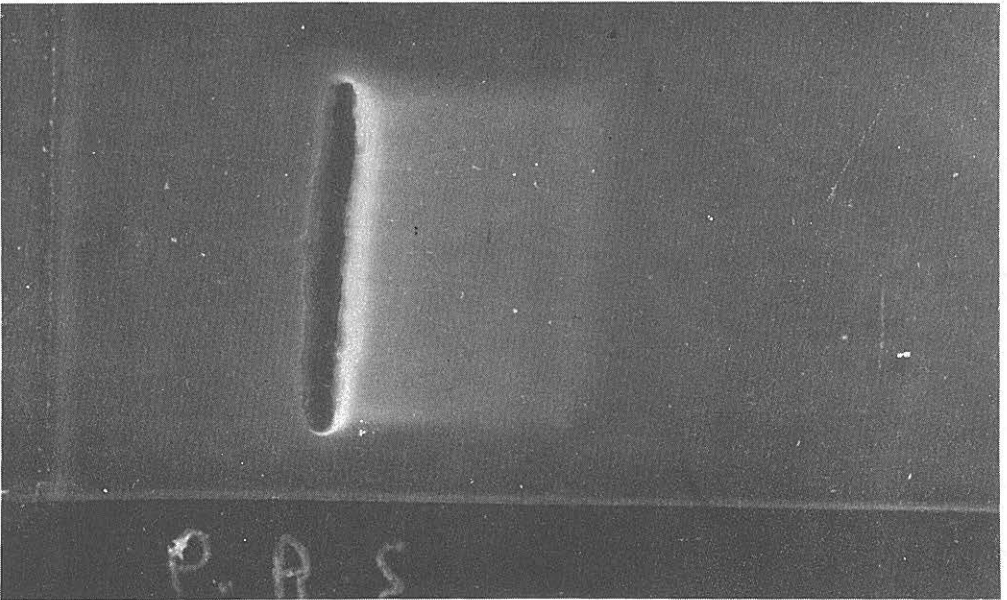


Figura 6

este producto es rico en glucoproteínas, debiendo diferenciar si son debidas a sulfo o sialoglucoproteínas. Esta diferenciación es muy importante, porque se sabe con certeza que las glucoproteínas ácidas, ricas en ácido siálico, son segregadas en los bronquios más finos, mientras que las sulfoglucoproteínas se encuentran en el moco de los gruesos troncos bronquiales.

La figura 8 es de secreción bronquial teñida con azul de toluidina, que tiñe los grupos ácidos. Este moco ha sido previamente tratado con sialidasa, con lo que podemos diferenciar si existe o no aumento por encima de lo normal en ácido siálico.

Figura 7



Si se hacen con la misma muestra de secreción bronquial —dos tomas—, una de las cuales se trata con sialidasa y la otra no y se tiñen con azul de toluidina: si la muestra no contiene mucho ácido siálico y sí en cambio un aumento del grupo sulfato, no encontraremos apenas cambio en la densidad de ambas bandas, que es lo que ocurre en el caso de la figura que representamos.

En la figura 9 sucede todo lo contrario, donde encontramos una gran diferencia en la densidad de las bandas, el debilitamiento de una de ellas tratada previamente con sialidasa demuestra que al desaparecer las sialoglucoproteínas por la acción del fer-

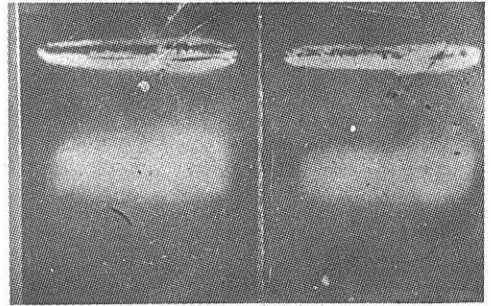


Figura 8

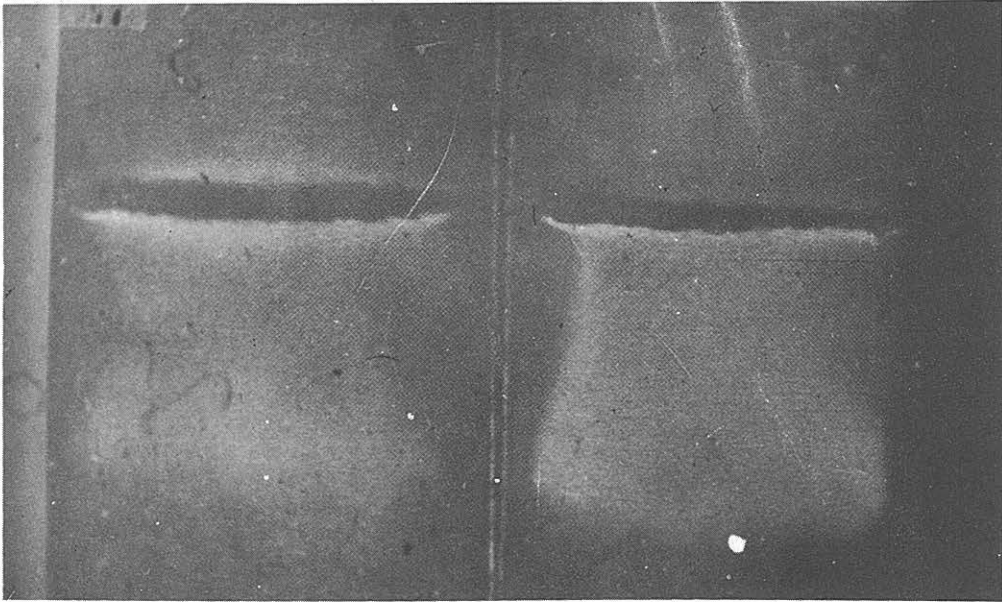


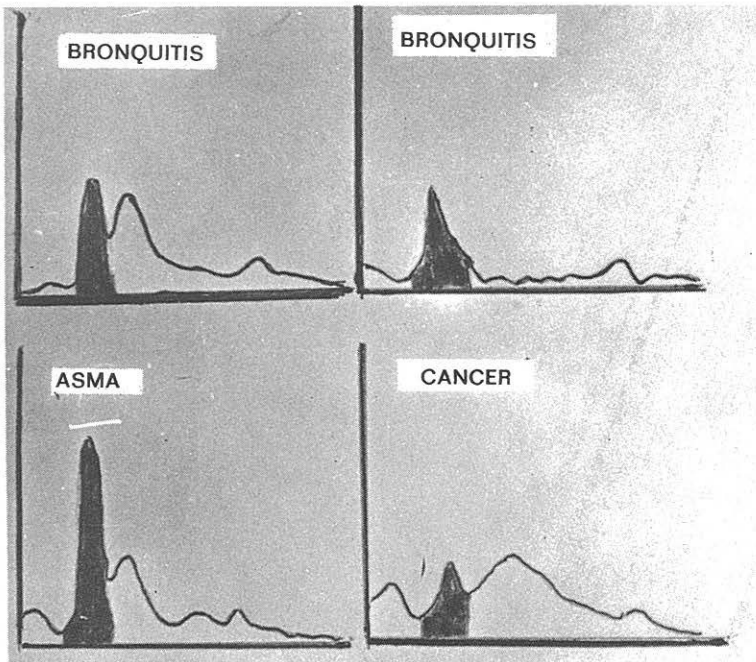
Figura 9

mento esta muestra toma mucho menos el colorante.

En la figura 10, se toman muestras de

moco bronquial de diferentes tipos de bronquitis, de asmáticos y de cáncer bronquial y haciendo determinaciones de glucoproteí-

Figura 10



nas ácidas, separadas con técnicas cromatográficas en columna de Sephadex 200, encontramos una enorme diferencia en el contenido de glucoproteínas ácidas, según el tipo de secreción bronquial.

Es sumamente importante el aumento en todos los casos de asma y la disminución evidente en los casos de cáncer broncopulmonar. El grupo de Lille, que tiene una gran experiencia, afirma que incluso en enfermos que no tienen evidencia clínica ni radiológica de padecer un cáncer broncopulmonar, el hallazgo de glucoproteínas ácidas disminuidas en su secreción bronquial, hace poner en guardia, y pasados varios meses se han encontrado imágenes radiológicas sospechosas y posterior confirmación de la existencia de un cáncer.

En resumen, nosotros creemos que en el estudio de los enfermos no podemos despreciar ninguna técnica, ni aún las más simples, ya que el simple interrogatorio, y según la definición de Fletcher, ya podemos catalogar a un enfermo de bronquítico crónico. Todas las técnicas utilizadas hasta ahora, exceptuando la exploración funcional, puede decirse que ha dado todos sus

frutos. La exploración cada día es más sutil, pero también más complicada.

Estamos seguros que el estudio de la secreción bronquial por procedimientos bioquímicos, por ser un camino muy poco explorado, puede llegar a resultados altamente satisfactorios, y no solamente en el diagnóstico, sino también, y esto es muy importante, para la investigación de la patogenia de muchas enfermedades broncopulmonares.

Tenemos que confesar que cuanto más se ahonda en la cuestión más difícil y complicado resulta el trabajo, y que es necesario un laboratorio importante para llevar a término algunas de las técnicas que se requieren. Por eso resulta indispensable tener la colaboración de varios centros y repartir el trabajo.

El problema de la bioquímica de la secreción, relativamente nuevo, tiene ahora una inquietud, que se observa cada día creciente en distintos países de Europa e incluso se ha hecho la propuesta de que el Congreso de la A. I. E. B., que precisamente se celebrará en España, tenga como una de las ponencias "La bioquímica de la secreción bronquial".