

# LA ACTIVIDAD DE LA ANHIDRASA-CARBONICA EN LOS GLOBULOS ROJOS DE TRES PACIENTES COLOMBIANAS QUE PADECEN DE MICROLITIASIS ALVEOLAR PULMONAR\*

POR

ALFONSO ESGUERRA-FAJARDO  
y F. R. HUNTER PH. D.

Departamento de Biología de la Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia \*\*

La Microlitiasis alveolar pulmonar es una enfermedad muy rara. El primer caso fue publicado por Harbitz en 1918<sup>1</sup>. Schildknecht<sup>2</sup> describió por primera vez las características radiológicas en 1932. Y Puhr<sup>3</sup> un año más tarde, le dio a la enfermedad el nombre que hoy lleva.

En 1957 Sosman y sus colaboradores<sup>4</sup> presentaron un estudio muy completo que incluía 21 casos descritos anteriormente en la literatura médica, y 25 casos adicionales recogidos personalmente por los autores. Los únicos casos de esta enfermedad conocidos en Colombia son los descritos por G. Esguerra-Gómez y sus colaboradores<sup>5</sup> en 1959. Se trataba de 4 hermanas en una familia que consta de 5 hermanas y 2

hermanos (los 2 hermanos y 1 hermana no padecían la enfermedad) que vivían en la Mesa de los Santos, cerca de Bucaramanga (Santander). Una de las 4 hermanas murió, y en la autopsia se confirmó el diagnóstico de Microlitiasis.

El diagnóstico se hace casi siempre en exámenes radiológicos rutinarios del tórax porque los pacientes no presentan, por lo general, ningún síntoma clínico aparente. La enfermedad se caracteriza por la presencia en el interior de los alvéolos pulmonares, de microlitos de carbonato y fosfato de calcio, los cuales se hallan libres en el interior de dichos alvéolos. Y la imagen radiológica muestra numerosísimas y pequeñas calcificaciones del tamaño de granos de arena, distribuidas a lo largo de todas las ramificaciones bronquiales y con un aspecto radiológico característico.

La etiología de la Microlitiasis es desconocida, pero se ha supuesto que la enfermedad es el resultado de un disturbio en el metabolismo respiratorio del bióxido de carbono, que al al-

---

\* Una breve nota clínica de este trabajo apareció en el *Journal of the American Medical Ass.* Vol. 174, pág. 889, 1960.

\*\* Los autores están muy reconocidos con la Fundación Rockefeller por una Donación, y con los doctores G. Esguerra-Gómez y Jiménez por su cooperación para obtener las muestras de sangre de Bucaramanga.

calinizar el medio en las superficies alveolares favorece la precipitación de los microlitos. Sosman y sus colaboradores<sup>4</sup> emiten la hipótesis de que este disturbio metabólico puede ser causado por un cambio en la actividad de la enzima anhidrasa carbónica.

El presente trabajo se ha hecho con el propósito de confirmar o infirmar dicha hipótesis, basados en el estudio comparativo de la actividad de la anhidrasa carbónica en los eritrocitos de las 3 pacientes colombianas mencionadas arriba, que sufren de Microlitiasis, y de un grupo de 16 individuos sanos, 15 de ellos estudiantes de la Universidad de los Andes.

Las sangres fueron obtenidas por punción venosa y se emplearon heparina o citrato para prevenir la coagulación. La sangre de las 3 hermanas enfermas y de la hermana sana, fueron traídas entre hielo y por avión a Bogotá. Las pruebas se hicieron antes de cumplirse 6 horas de haber sido extraída la sangre. Las otras sangres controles se usaron inmediatamente después de obtenidas. Todas las muestras fueron centrifugadas aproximadamente a 1.500 r x m, y el plasma y la capa de glóbulos blancos se extrajeron por aspiración. Luego se lavaron dos veces los eritrocitos con solución Ringer-Locke. Un c. c. de eritrocitos se separó y fue hemolizado en 10 c. c. de agua. De este hemolizado se hicieron luego otras diluciones en agua, para determinar la actividad de la anhidrasa carbónica. Otro c. c. se tomó de la porción de eritrocitos sin hemolizar y se puso a secar dentro de un crisol en un horno a 100° C, con el objeto de obtener el peso de los eritrocitos.

La actividad de la anhidrasa carbónica se determinó por medio de una modificación hecha por Miyake<sup>6</sup> al método de Philpot y Philpot<sup>7</sup>. El aparato usado se puede ver en la figura 1. Este consta de A: un tanque standard

comercial de CO<sub>2</sub>; B: una botella parcialmente llena de solución de bicarbonato; C: una bureta para medir esta solución; D: una bureta para medir el volumen de azul de bromotimol; E: el tubo de ensayo en el cual se hacen las observaciones; F: un recipiente con hielo para controlar la temperatura a la cual ocurre la reacción, y G: una válvula de escape para regular la salida del CO<sub>2</sub> al tubo de ensayo, en el cual ocurre la reacción.

Los detalles de este experimento son los siguientes: para asegurar la saturación del bicarbonato se burbujea bióxido de carbono durante 10 minutos, entre la solución de la botella B. Después de los 10 minutos y gracias a una llave de vidrio bihoradada en la bureta D, ésta se llena por la presión del CO<sub>2</sub> en la botella B. La llave de vidrio se pone en posición para que el gas pueda pasar al tubo de ensayo, dentro del recipiente con hielo. El gas se escapa también por la válvula G. Cambiando la profundidad de la válvula de escape en G, se puede variar el ritmo al cual sale el CO<sub>2</sub> entre el tubo de ensayo. Se vierten en un tubo de ensayo (12 x 150 cm.) 5 c. c. de la solución de bicarbonato en la bureta C; se añade 0,1 c. c. de azul de bromotimol de la bureta D; se añaden después 0,5 c. c. de agua (para los controles) o de hemolizado de sangre; y finalmente se agrega una gota de alcohol caprílico para reducir la cantidad de espuma. El tubo de ensayo se coloca en el recipiente con hielo y se deja pasar el CO<sub>2</sub> entre la mezcla, por 2 minutos, a un ritmo constante. (El tiempo de reacción depende del ritmo al cual pasa el CO<sub>2</sub> a través de la solución). Al cabo de los 2 minutos, con el CO<sub>2</sub> burbujeando al mismo ritmo, se añaden rápidamente 0,5 c. c. de una solución de carbonato-bicarbonato con una jeringa. Se mide el tiempo requerido para que el color de la

solución cambie de azul a amarillo verdoso.

La solución de bicarbonato se preparó agregando 0,221 grs. de  $\text{NaHCO}_3$  a un litro de agua. Para preparar la solución de carbonato se agregaron 30 grs. de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , y 15 grs. de  $\text{NaHCO}_3$  a 100 c. c. de agua. Esta solución saturada se filtró después de haber estado en reposo 24 horas; y a 27,3 c. c. del filtrado se le agregó agua destilada hasta completar 100 c. c.

Se ajustó el ritmo al cual burbujeaba el  $\text{CO}_2$  entre el tubo de ensayo, en el cual se llevaba a cabo la reacción, para que ésta requiriera, sin enzima, un tiempo de 65 a 75 segundos para el cambio de color. Se hizo una dilución apropiada del hemolizado de sangre para cambiar el tiempo a 25-30 segundos. La actividad de la enzima requerida para efectuar este cambio, en tiempo, es de  $\frac{1}{2}$  unidad Philpot. Sabiendo la dilución necesaria del hemolizado para efectuar el

cambio en el tiempo de reacción, y conociendo el peso de la sangre añadida para hacer el hemolizado, se pudo calcular el número de unidades Philpot por gramo de eritrocitos.

Los resultados se encuentran en el cuadro número 1. Los valores de actividad de la enzima se expresan en unidades Philpot. Puede verse que tanto la sangre del control de Bucaramanga como la de las hermanas que padecen de Microlitiasis muestran una actividad de la anhidrasa carbónica que se halla dentro de los límites de la normalidad.

#### CONCLUSION

Basados en estos experimentos se puede concluir que los glóbulos rojos de las 3 pacientes colombianas que padecen de Microlitiasis alveolar pulmonar tienen una anhidrasa carbónica de actividad normal.

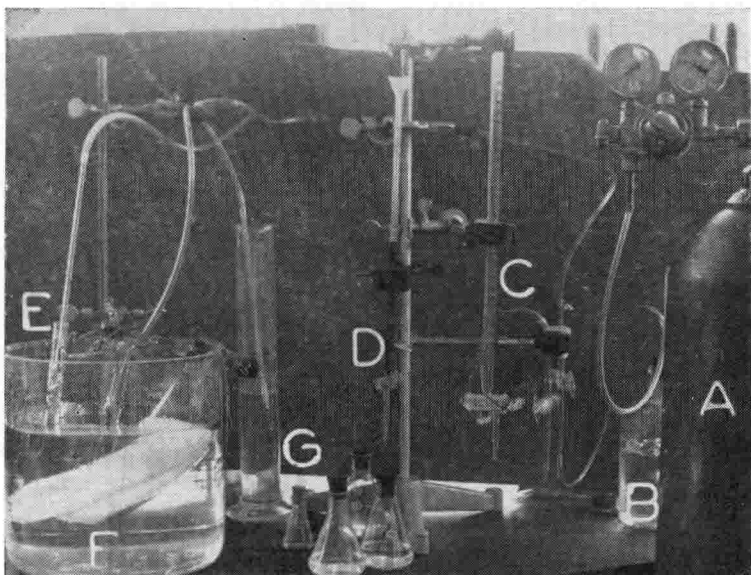


Figura 1. Una fotografía del aparato. Para los detalles, véase el texto.

## CUADRO NUMERO 1

Estudio comparativo de la anhidrasa carbónica en los eritrocitos de individuos normales y de 3 pacientes atacados de Microlitiasis alveolar pulmonar.

Tipo de sangre.	Número de muestras.	Actividad de la Enzima en Unidades Philpot.		
		Promedio.	Máximum.	Mínimum.
Controles . . . . .	15	1.049	952	1.250
Control de Bucaramanga	1	1.112		
Microlitiasis . . . . .	3	1.156	1.134	1.195

## RESUMEN

La actividad de la anhidrasa carbónica se midió por una modificación del método de Philpot y Philpot. La actividad de esta enzima en los eritrocitos de pacientes con Microlitiasis alveolar estaba dentro del alcance normal.

## SUMMARY

The activity of carbonic anhydrase was measured using a modification of the method of Philpot and Philpot. The activity of this enzyme in erythrocytes of patients with alveolar microlithiasis was within the normal range.

## BIBLIOGRAFIA

- <sup>1</sup> HARBITZ, F.: Extensive calcification of lungs as distinct disease. Arch. Int. Med. 21: 139-146, 1918.
- <sup>2</sup> SCHILDKNECHT, O.: Zur Pathogenese verkalkter Schichtungskugeln, sog. "Corpora amylacea", in der Lunge (unter Mitteilung eines ungewöhnlichen Falles). Virchows Arch. f. Path. Anat. 290: 466-480, 1932.
- <sup>3</sup> PUHR, L.: Mikrolithiasis alveolaris pulmonum. Virchows Arch. f. Path. Anat. 290: 156-160, 1933.
- <sup>4</sup> SOSMAN, MERRILL C.; DODD, GERALD D.; JONES, W. DUANE AND PILLMORE, GEORGE U.: The familiar occurrence of pulmonary alveolar microlithiasis, J. Roentg., Radium Therp. and Nuclear Med. 77: 947-1012, 1957.
- <sup>5</sup> ESGUERRA-GÓMEZ, G.; LICHTENBERGER, EGON; SANTAMARÍA, ARMANDO; CARVAJAL, LOPE; JIMÉNEZ-PEÑUELA, BENIGNO; SAAIBÍ, EDMOND; BARRERA A., REY; ORDUZ, ELIO AND CORREA-HERNÁNDEZ, ALFREDO: Familiar pulmonary alveolar microlithiasis: Four cases from Colombia. S. A. Radiology 72: 550-561, 1959.
- <sup>6</sup> MIYAQUE, TAMOTSU AND PINCUS, GREGORY: Progestational activity of certain 19-nor steroids and progesterone derivatives. Endocrinology 63: 816-824, 1958.
- <sup>7</sup> PHILPOT, FLORA JANE AND PHILPOT, JOHN ST. LEGER: Modified colorimetric-estimation of carbonic anhydrase, Biochem. J. 30: 2191-2193, 1936.