

## ALTERACIONES BIOQUIMICAS DE LAS COLESTASIS. REPERCUSIONES A NIVEL PERIFERICO

A. Martinez Fernandez

Bioquímica. Cidade Sanitaria 1.º de Outubro. Madrid

### I. Bioquímica da colestasis

La función biliar consiste en la secreción y excreción de bilis y otros elementos por las vías biliares al intestino. Esta función es compleja y según los casos el hígado debe realizar:

- *Sintetizar*, con otros compuestos, un elemento ausente en el hígado, tal es el caso de las sales biliares.
- *Transformar* un elemento preformado en la célula hepática p.e. la conjugación de la bilirrubina.
- *Excretar*, sin transformar, algún elemento presente en sangre circulante, p.e. el colesterol.

Por tanto, desde el punto de vista bioquímico, la colestasis es la alteración de estas funciones con su correspondiente retención de productos en el organismo, así como las consecuencias que irrojan la no llegada al intestino de sales biliares con los déficit de absorción.

Brevemente se revisa los hallazgos bioquímicos actuales sobre la función biliar.

La bilirrubina procede en el 85% de la lisis eritrocitaria y en un 15% de los anillos porfirínicos no hemoglobínicos. No entro en el mecanismo de formación de bilirrubina desde la hemoglobina por no ser de interés en el proceso que nos ocupa.

La bilirrubina inicial (Figura 1) no está conjugada, es decir es una sustancia apolar y por tanto no soluble en medios acuosos, como es el plasma. Es vehiculizada hasta el hígado, unida a la albumina. Llegada al hepatocito, es captada (no se conoce su exacto mecanismo) y en su citoplasma se une a dos proteínas citosólicas: Y y Z. La proteína Y tiene especial afinidad por la Bilirrubina y algunos colorantes como la B.S.P. y aniones orgánicos en tanto la Z proteína liga preferentemente los ácidos biliares. Hay alguna patología relacionada con un déficit cualitativo o cuantitativo de estas proteínas? Solo investigaciones posteriores nos permitan esclarecer estos hechos.

Ya dentro del hepatocito se efectúa la conocida conjugación (glucurónica y otras) a nivel microsomal, la bilirrubina no conjugada se hace polar y por tanto soluble en medios acuosos, siendo posible su excreción por el canalículo.

Los mecanismos íntimos de la excreción no son aún bien conocidos, si bien sabemos que la excreción al canalículo biliar es un proceso activo, que precisa energía. Aquí la excreción de bilirrubina compite con la de varios medicamentos, colorantes, tiacidas etc. Es el lugar de ciertas colestasis medicamentosas.

En la formación de la bilis (Fig. 2), intervienen las sales biliares. Algo más del 70% del residuo seco del flujo biliar canalicular está representado por estas sales biliares, las cuales son segregadas en forma de micelas, que son a su vez reguladoras, por osmosis, de la excreción de pigmentos biliares, aniones y agua. No es este, sin embargo el único mecanismo de excreción biliar. Si se bloquea la excreción de derivados de ácido colánico, persiste cierta excreción biliar a través de otro mecanismo activo de transporte

de sodio, cuya energía es aportada por la hidrólisis del ATP, por una ATPasa. Otra acción coleretica se aprecia a nivel de los ductulos, hay una secreción-reabsorción activa del bicarbonato, cloro y sodio y secundariamente de agua, todo ello regulado por la secretina. Así mismo la presión de excreción es de 10-15 cm de agua. Esta excreción es abolida cuando ha de sobrepasar los 30 cm de agua, debido a obstáculos en su árbol biliar.

Dentro de las sustancias *eliminables* por la secreción biliar se ha considerado la *Fosfatasa alcalina*. Desde hace más de cuarenta años esta enzima ha sido de gran utilidad en el diagnóstico de los síndromes colestásicos. Hoy sabemos que la elevación sérica de este enzima de la «*colestasis*» no es debida, como se creyó, a una dificultad de su excreción si no a una inducción de su formación, al igual que otras enzimas de la membrana del conducto excretor biliar, tal como la nucleotido-pirofosfatasa.

De gran interés es el estudio de las fracciones (Fig. 3) de la fosfatasa alcalina, personalmente y con nuestra metodología, hemos hallado siempre, en los procesos colestásicos, una banda catódica muy elevada, la llamada banda R, estacionaria o biliar. Al parecer esta banda estacionaria es debida a la unión con una lipoproteína de baja densidad la conocida como LPX. Con un criterio similar, de bandas biliares están la citada pirofosfatasa, alfa-leucil beta-naftilamidasa y Gamma-glutamiltanspeptidasa.

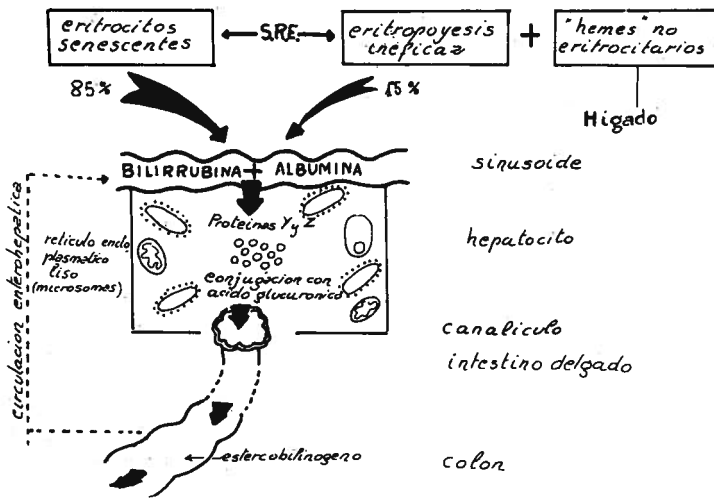


Fig. 1 — Esquema del metabolismo de la bilirrubina

De los tres apartados que citábamos de la función biliar la *síntesis biliar* de sales biliares, no parece estar alterada en los procesos colestásicos *puros*, sin afectación hepatocitaria. Tampoco la *conjugación de sustancias con la bilirrubina* o con la B.S.P.

Desearía en este punto, aclarar la utilidad, en el caso de las colestasis, la inutilidad de la prueba de la B.S.P., siempre que haya una colemia elevada. Las razones son las siguientes: Por un lado los *lugares* de ligazón de la bilirrubina a la albúmina son comunes con los de la B.S.P., con lo que si están saturados no es posible vehicular el colorante al hígado para su conjugación.

En segundo lugar la remoción de la B.S.P. por el hígado comprende la conjugación del colorante en forma de mercapturo con el componente cisteína del glutatión. La reacción de conjugación de la B.S.P. con el glutatión es limitante, regulando la tasa de

remoción del colorante por el hígado. Este mecanismo está alterado, no por déficit de glutatión, sino por las modificaciones del poder tensioactivo citosólico de las sales biliares. Todo ello podría dar lugar a un falso concepto de retención de la B.S.P., por déficit de conjugación hepatocitario, que no existe.

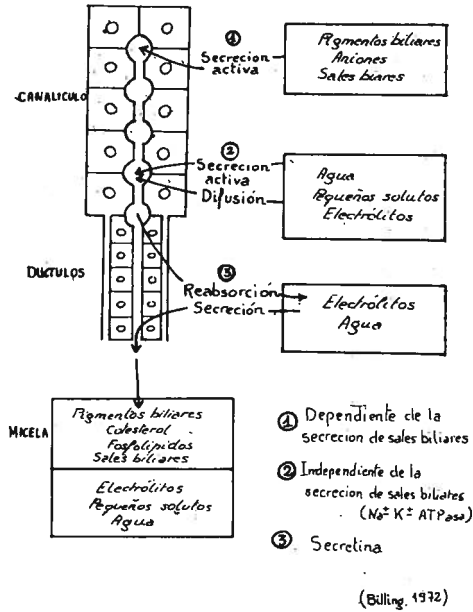


Fig. 2 — Secretion biliar

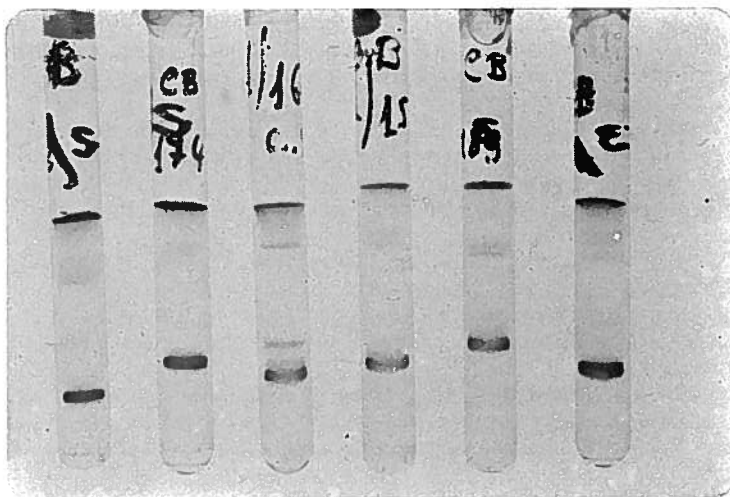


Fig. 3 — Separacion de las fracciones de la fosfatasa alcalina

Si parece *alterada la excreción de sustancias*, así es frecuente la alteración de excreción de bilirrubina conjugada, de la B.S.P. y de la colestestina.

Por tanto a nivel hepático, esta ocurriendo, esquemáticamente, un déficit de excreción con elevación secundaria de bilirrubina conjugada, sales biliares, colesterol y fosfatasa alcalina.

En nuestros 103 casos de colestasis, independiente de ser intra-extrahepática, la bilirrubina estaba elevada en el 98,7% de los casos, el colesterol era superior a los 300 mg/dl. en el 56% de los casos y la fosfatasa alcalina en el 77,3% de los casos. Hemos de advertir que las transaminasas eran superiores al valor normal, al menos en algún momento, en el 27% de los casos.

*Repercusiones periféricas.* La interrupción mantenida del flujo biliar, no importa por que causa, vá a dar lugar a manifestaciones sistémicas:

- a) Por persistencia en sangre de productos que debrian eliminar-se por las vias biliares.
- b) Por su ausencia en el intestino delgado, de bilis y sales biliares.
- c) Por las alteraciones de estas sustancias sobre el hepatocito independientemente de las causas patógenas sean propias de la enfermedad responsable.

a) La persistencia en sangre de bilirrubina conjugada dá lugar a una ictericia, que no sobrepasará a los 30 mg/dl, ya que este es el dintel renal, llegado a este nivel la presencia de bilirrubina, en orina, es muy evidente.

La retención de ácidos biliares, especialmente el ácido quenodesoxicólico, actúan como tensioactivos intracelularmente disminuyendo la actividad del retículo endoplasmático, con la inhibición de la glucuronidoconjugación, y lesión del citocromo-microsomal P-450. Esto es preciso tenerlo en cuenta a la hora de juzgar como hemolíticas ciertas bilirrubinas no conjugadas en el curso de una ictericia obstructiva. En cuanto a la hepatotoxicidad a otros ácidos biliares como el litocólico, hay dudas. La interpolación de experiencias animales, con respecto a la patología humana con el citado ácido biliar, es dudosa.

Así mismo la retención de ácidos biliares, colesterol, algunos fosfolípidos (relación lecitina-lisolecitina), aumentan la resistencia osmótica de la membrana eritrocitaria dando lugar a la aparición de dianocitosis.

La retención de colesterol y fosfolípidos modifica la normal distribución lipoproteica y dan lugar a la elevación de las betalipoproteínas y en ocasiones a la aparición de la lipoproteína X, distinta de la A y B normales, aunque la frecuencia de esta LPX es importante en los cuadros obstructivos, no lo es tanto, en nuestra opinión, como se ha barajado en la literatura.

La proporción de colesterol total/ésteres de colesterol, no suele alterarse hasta períodos avanzados. El enzima responsable de la esterificación, la Lecitincolesteriltransferasa, en nuestras manos solo ha sido útil, por su descenso en casos de colestasis de las cirrosis biliares primarias y de menor valor que las pruebas inmunológicas, tales como los anticuerpos antinucleares.

b) Por su ausencia en el intestino. La falta de sales biliares y de bilirrubina dan lugar a las conocidas heces hipo/acólicas por ausencia de estercobilinógeno. El fallo del ciclo enterohepático da lugar a la ausencia de urobilinógeno-urobilina en orina a si mismo la presencia de bilirrubina en orina. Todo ello muy variable y dependiendo de la intensidad de la obstrucción.

Si la colestasis se prolonga, hay un déficit de la emulsión de las grasas a nivel intestinal con una esteatorrea por fallo absorbivo de las mismas. Si hicieramos más estudios de grasas fecales veriamos que este fenómeno es más frecuente que la que se lee en la literatura.

Este déficit de absorción de grasa lo es también para las vitaminas liposolubles. Especialmente precóz es para la vitamina K, lo que condiciona la defectuosa producción

de protrombina, factores VII, IX y X, que en ocasiones pueden ser causa de una importante hipocoagulabilidad.

De menos interes practico, pero no teorico, son los deficit de vitaminas A y D, su evidencia en cuadros obstructivos ya que los depositos de estas vitaminas duran meses.

Los deficits de vitamina A originan lesiones mucocutaneas, oseas y hemeralopsia, en tanto que para el bioquimico tiene mayor atractivo las deficiencias de vitamina D que pueden originar una defectuosa cálcificación, traducida por un Fosforo sanguineo bajo, un Calcio sérico normal o bajo y una elevación de la fosfatasa alcalina. Insistimos una vez más en la utilidad de fraccionar las isoenzimas de la fosfatasa alcalina, especialmente para descartar el componente oseos en casos de obstrucciones biliares, de tiempo de evolución.

c) Alteraciones de las sustancias sobre el hepatocito, independientemente de las que le sean propias de la enfermedad responsable. La accion lesiva de acidos biliares, algunos fosfolipidos, etc. pueden actuar sobre la permeabilidad de membranas celulares y actuar sobre el interior celular. As veces esta accion es precoz y transitoria, un ejemplo de esto es la transaminasemia elevada y transitoria que se dá en el inicio de algunos cuadros obstructivos, con evidente afectación extrahepatica.

*Aportaciones del Laboratorio de Bioquimica al diagnostico de las colestasis.*

La incidencia de ictericias colestasicas, en nuestros hospitales han sido de:

8983 ingresos en el Servicio de Medicina Interna, 103 casos fueron ictericias colestasica, lo que corresponde a 1,14% de toda la patologia. Sobre estos datos está basada nuestra comunicaci3n.

El redimniento diagnostico clinico de las colestasis en estos casos fueron:

Diagnostico etiologico correcto .....	48,8%
Diagnostico correcto extra/intra .....	72,7%
Errores diagnosticos .....	27,3%

Estos datos están referidos a un diagnostico, aplicando todos los datos complementarios, analíticos o otros.

Como vemos, al menos, una cuarta parte del diagnostico no ha sido correcto.

De los parametros bioquimicos que implican colestasis son dos los de mayor importancia: La bilirrubina y el aumento de la actividad de la fosfatasa alcalina. Dentro de esta, y en nuestras manos, la fraccion catodica de los isoenzima de la misma. Ciertamente ambos parametros son precoces y fidedignos de la iniciaci3n de una colestasis, generalmente preceden a la sintomatologia clínica.

Por el contrario, si nosotros intentamos llegar al diagnostico de colestasis y diferenciar extra o intra, aplicando los valores de fosfatasa alcalina, en las diversas ictericias colestasicas los valores son similares y no nos permiten la diferenciación (Fig. 4).

Otros de los enzimas, considerados como indice de colestasis, la gammaglutamiltranspeptidasa, ha sido aplicada a estos casos, sin que nos permitan llegar a una diferenciación entre ambos procesos (Fig. 5).

Se intentó ver si el cociente G.O.T.-G.P.T./Fosfatasa alcalina podría ter utilidad, dado que en el numerador estaría la afeccion parenquimatosa y en el denominador la colestasis, sin embargo (Fig. 6) no resultó discriminatorio.

Asi mismo se intentó un sistema de doble entrada (Fig. 7). En una de las caras se incluye el cociente Bilirrub/GGT en otro Bilirrub/Fosfatasa alcalina y en el tercer lado Bilirrubina/GOT-GPT. Como puede verse no hay una distribución preferencial entre colestasis extra-intrahepaticas. No es pues valido para los fines que habiamos propuesto.

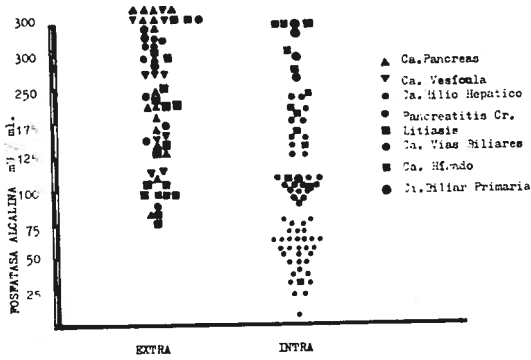


Fig. 4 — Valores de fosfatasa alcalina en colestasis extra y intrahepáticas

Fig. 5 — Valores de Gammaglutamil-transpeptidase en colestasis extra y intrahepáticas

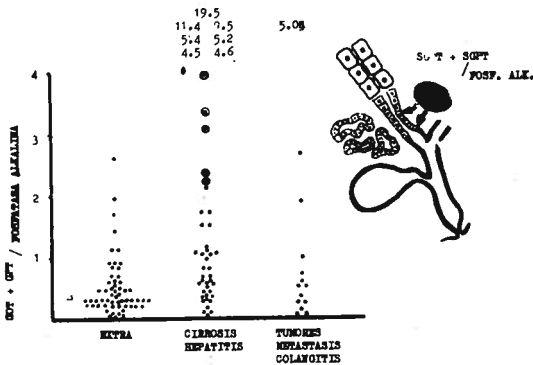
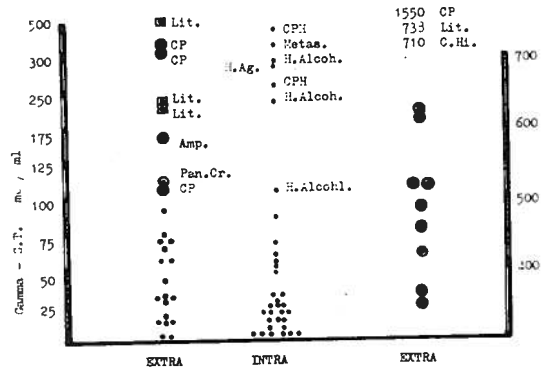


Fig. 6 — Valor G.O.T.-G.P.T./Fosfatasa alcalina no diagnóstico diferencial de colestasis extra y intrahepática

COMPORTAMIENTO DE LOS FERMENTOS HEPATICOS EN LA COLESTASIS

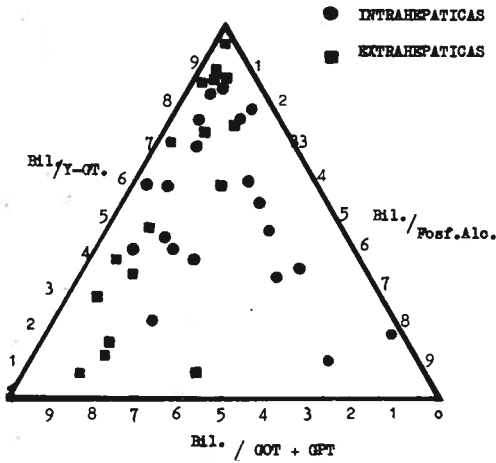


Fig. 7 — Comportamiento de los cocientes bilir./EGT, bilir./Fosf. alc. y bilir./GOT-GPT en el diagnostico de colestasis

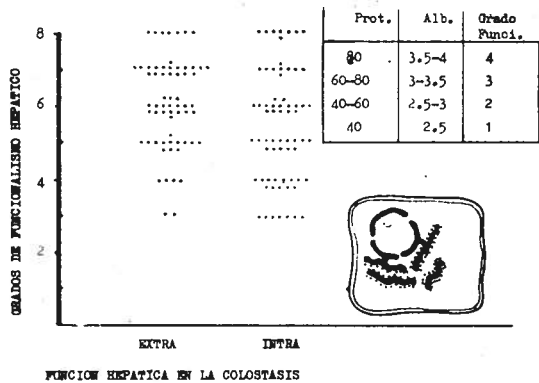


Fig. 8 — Función hepatocelular en la colestasis

Por último, y estimando que la alteración real del hepatocito, debería ser, mas importante en la colestasis intrahepatica que en la extrahepatica hicimos una clasificación (Fig. 8) de la función hepatocelular, bajo los parametros de:

- Actividad de protrombina.
- Albumina.

Con estos dos parametros hemos dividido nuestros pacientes en cuatro grados, estimando como la mejor función el grado 4. Una vez mas, nuestro intento ha sido fallido, no nos es posible llegar a diferenciar lo tan deseado por todos, clínicos, quirurgicos y bioquimicos, la diferenciación entre ambos tipos de lesión.

Con un criterio diferente y por supuesto de mayor efectividad es el trabajo presentado por Planteaux, en el cual partiendo de un numero elevado de parametros de los cuales posteriormente y mediante un metodo matematico solo precisa diez, (Fig. 9A) llega a diferenciar los procesos intra-extra hepaticos con un error de tan solo 7 casos de los 95 estudiados (Fig. 9B).

De poderse realizar este estudio matemático, este es nuestro propósito, la diferenciación podría mejorarse, ya que la problemática no es en utilizar test dificultosos o sofisticados, si no en aplicar un criterio matemático. Si consiguiéramos reducir nuestro error de algo más del 25% al un poco más de 7%, sería de gran ayuda en el diagnóstico, siempre complejo de las ictericias colestásicas extra-intrahepáticas.

Tabla 1

*Tests d'exploration fonctionnelle hépatique (30 paramètres étudiés)*

1. Bilirubine totale	11. LDH	21. ICD
2. Phosphatases alcalinas	12. Iso-LDH I	22. GIDH
3. 5-Nucléotidase	13. II	23. Albumines
4. LAP	14. III	24. $\alpha$ -globulines
5. $\gamma$ -GT	15. IV	25. $\alpha_2$ -globulines
6. Estérases A	16. V	26. $\beta$ -globulines
7. Estérase C	17. TGO	27. $\gamma$ -globulines
8. Thymol	18. TGP	28. IgA
9. Burstein	19. OCT	29. IgG
10. Cétavlon	20. SDH	30. IgM

DIAGNOSTIC BIOCHIMIQUE DES ICTÈRES CHOLSTATIQUES

321

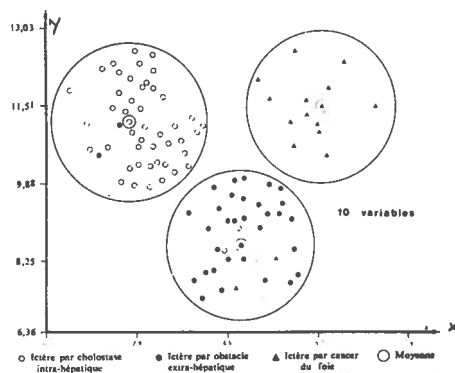


Fig. 9 — Diferenciación de colestasis extra y intrahepática, por las 10 variables.

Pedido de separatas: *A. Martínez Fernández*  
*Bioquímica.*  
*Ciudad Sanitaria 1.º de Octubre*  
*Madrid, España*