

R. 2830

T. 292

FACULTAD DE FARMACIA

INTERFERENCIA DE LA METIL-DOPA Y LEVODOPA EN
LAS DETERMINACIONES ANALITICAS CLINICAS.

Rosario Sánchez-Lauibe Ollero

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA
BIBLIOTECA

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

1979

MEMORIA presentada en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla, para aspirar al grado de Licenciada en Farmacia por Rosario Sánchez-Laulhé Ollero

Rosario Sánchez-Laulhé Ollero

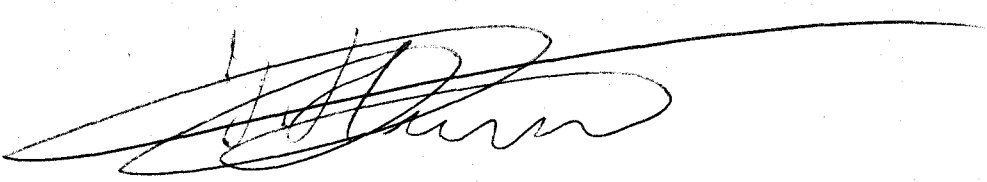
Fdo.: Rosario Sánchez-Laulhé Ollero-
Aspirante al grado de Licencia
da en Farmacia.

r.º B.º
EL Decano.



El presente trabajo ha sido realizado bajo la dirección de:

- Dr. Joaquín Herrera Carranza
- Director Técnico de la Fundación Farmacéutica "AVENZOAR".
- Prof. de Biofarmacia y Farmacocinética de la -
Facultad de Farmacia de SEVILLA.


Fdo.: Dr. D. JOAQUÍN HERRERA CARRANZA

El presente trabajo ha sido realizado durante el curso 1978/79 en los LABORATORIOS DE LA FUNDACION "AVENZOAR".

MI GRATITUD : Al Dr. D. Joaquín Herrera Carranza, Director Técnico de la Fundación - "AVENZOAR" y Prof. de Biofarmacia y Farmacocinética de la Facultad - de Farmacia de Sevilla, que con -- tanta solicitud me ha dirigido el- presente trabajo, prestándome siem- pre el mayor interés y dedicación- para el desarrollo de esta tesina.

Al Dr. D. Rafael Alvarez Colunga,- Presidente del Colegio de Farmaceú- ticos y Presidente del Consejo Ge- neral de la Fundación "AVENZOAR",- por haberme permitido realizar es- te trabajo, poniendo a mi disposi- ción todos los medios necesarios - para ello.

Al Dr. D. Francisco Moreno Ponce,- Presidente del Comité ejecutivo de la Fundación "AVENZOAR", que igual- mente me ha dado las facilidades - para desarrollarlo.

I N D I C E

	Página
INTRODUCCION.....	6
-Importancia sanitaria de los laboratorios clínicos.....	7
-Problemática general de las interferencias en las pruebas bioquímicas.....	10
-Caso particular de la Levodopa y Metildopa...	17
-Objetivos del trabajo.....	40
MATERIAL Y METODOS.....	41
RESULTADOS.....	57
DISCUSION.....	79
CONCLUSIONES.....	86
BIBLIOGRAFIA.....	89

I N T R O D U C C I O N

I N T R O D U C C I O N

IMPORTANCIA SANITARIA DE LOS LABORATORIOS CLINICOS.

El auge actual del laboratorio clínico se debe a su extraordinaria y eficaz colaboración con la ciencia médica; constantemente se están perfeccionando métodos clásicos y se crean nuevos métodos que tratan de auxiliar o secundar a la clínica en los múltiples problemas ligados a ella.

En el laboratorio de análisis clínicos se aunan los análisis de rutina con la función encomendada a los laboratorios de clínicas y centros hospitalarios, en los cuales cabe además la investigación.

El único método para establecer un diagnóstico correcto; es practicar una exploración del enfermo con un método perfecto. Para llegar al diagnóstico correcto, habrá que indagar ante todo el trastorno funcional, para localizar luego el órgano enfermo. A continuación, precisaremos el mecanismo productor del trastorno, para finalmente descubrir la causa específica. Para ello, se dispone de tres grandes métodos de exploración: el interrogatorio, la exploración objetiva del enfermo y las exploraciones complementarias. En estas exploraciones complementarias se encuentran los métodos de análisis físico-químicos, a-

aplicados unos directamente al enfermo y otros a sus humores o secreciones. Estos métodos son los que se les -- acostumbra a calificar como "métodos de laboratorio."

Hoy prácticamente, no existe enfermedad en las que -- los datos suministrados por la exploración clínica no puedan ser completados por los que aporte el laboratorio, y bien para confirmar, bien para excluir, o simplemente para orientar, el valor de la contribución que el analista puede aportar, es innegable.

Es necesaria la colaboración de los análisis clíni--cos y la exploración para la consecución de resultados -- decisivos y valorables, repitiendo e insistiendo las veces necesarias en ambas modalidades exploratorias, ante problemas diagnósticos de no fácil solución. Los resyltados de laboratorio no pueden ser nunca decisivos ni tienen un valor matemático; las causas de error, aún pres--cindiendo de falta de técnica o posibles descuidos, son numerosos y únicamente al enfrentar y superponer los resultados a los suministrados por la exploración clínica, es posible, cuando coinciden, darle una valoración exacta y una precisión inigualada.

No hay ningún enfermo en el cual la exploración completa no requiera datos de laboratorio. Por lo menos, se deberá practicar un examen de orina en cuanto a cantidad, color, albúmina y glucosa. Este examen elemental forma -- parte de la exploración "de base" que debemos practicar--

a todo enfermo. A poco que la enfermedad requiera una mayor atención, será preciso practicar un examen de sangre (velocidad de sidementación, leucocitos, hematíes,...)

Como todos los signos de exploración, los datos de laboratorio tienen su jerarquía y es preciso situarles en el plano que les corresponde al hacer el razonamiento diagnóstico.

No cabe duda que en la mayoría de las ocasiones, unos análisis juiciosamente orientados en su petición despues de una exploración cuidadosa, y correctamente efectuados e interpretados, dan una seguridad diagnóstica, un juicio pronóstico y como consecuencia una orientación terapéutica verdaderamente eficaz e importante.

PROBLEMATICA GENERAL DE LAS INTERFERENCIAS EN LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS.

Las pruebas de laboratorio clínico cada vez están adquiriendo una mayor importancia en la práctica de la medicina, incluyendo la medicina preventiva. Sin embargo, uno de los factores que pueden afectar los resultados obteniéndose dichas pruebas, es la farmacoterapia del paciente. El hecho de conocer, los medicamentos prescritos, es esencial para la evaluación de un posible efecto del fármaco en un resultado de laboratorio.

Cuando el fármaco es detectado como interferencia en los resultados de la prueba de laboratorio, la prueba será repetida ajustando la interferencia, o bien eliminándola mediante el uso de otros métodos para la misma determinación. Si el fármaco interferente no es detectado, el médico se enfrenta con un resultado de laboratorio, el cual no se relaciona bien con la impresión clínica del paciente. Esto puede resultar una mayor dificultad en el diagnóstico, o la sospecha de un error de laboratorio. Debido a esto, puede ser instaurada una farmacoterapia innecesaria.

Los efectos de los fármacos en los resultados de las

pruebas de laboratorio, pueden ser divididos en dos categorías generales. Es importante saber que tipo de efecto está complicado en cada prueba, aunque en algunas, ambos efectos pueden ocurrir con el mismo fármaco.

Los fármacos, por tanto, pueden interferir produciendo:

A) Efectos ocasionados por propiedades farmacológicas o tóxicas de los fármacos:

Se presentan frecuentemente y generalmente son dosis-dependiente. La magnitud del cambio, a menudo, depende de una variedad de factores tales como dosis del fármaco, duración de la administración, condiciones del paciente, etc. Así un ejemplo de este tipo de efecto, podría ser la disminución de la hipertensión producida por diuréticos tiazidas. O bien, el haloparinol, inhibidor de la xantina oxidasa, es usado para reducir el ácido úrico elevado en ciertos pacientes.

B) Efectos debidos a interferencias en los procedimientos analíticos:

En este caso el fármaco o sus metabolitos llegan a ser un contaminante, los cuales pueden alterar el valor, interfiriendo así en la medida. Hay que resaltar los fármacos que afectan a ciertas pruebas de laboratorio, y no afectan a otras. Así, por ejemplo, la metildopa usada en el tratamiento de la hipertensión, producirá un resultado falso positivo en la determinación de catecolaminas -

en orina. (1) Esto podría conducir a un diagnóstico erróneo del Feocromocitoma.

Otros fármacos pueden interferir por producir reacciones coloreadas por quelación, o bien por producir inhibición de la actividad enzimática.

Además de las interferencias químicas por fármacos, también se debería considerar los efectos de anticoagulantes y los cambios de concentración advertidos en sustancias normalmente encontrados en cuerpos fluidos que alteran los valores de las pruebas de laboratorios. Así, la hemolisis, lipemia, y elevados valores de biliburrina en sus sueros, interfieren en un gran número de pruebas. En uremia, los altos niveles de creatinina y ácido úrico, pueden dar lugar a valores elevados falsos de glucosa medida por el método del ferrocianuro.

También aparecen interferencias químicas, por una falta de especificidad de los métodos usados para medir los valores deseados. Este problema de especificidad, es un área de especial importancia en la química clínica.

Se han realizado distintas publicaciones de fármacos que interfieren en las pruebas de laboratorio. De estos, es interesante saber, qué fármacos interfieren desde el punto de vista farmacológico, y cuales son los que afectan al procedimiento ensayado.

Otro problema, es saber, cuales de estos fármacos --

interfieren a las concentraciones que probablemente se encuentran en suero y orina durante un típico régimen terapéutico.

Los efectos de medicamentos complejos y potentes en los procedimientos de laboratorio, presentan un problema cada vez más difícil. El conocimiento de estos patrones de interferencia de los fármacos, es responsabilidad del médico, y muchas veces le permite explicarse algunos resultados enigmáticos e inesperados de la prueba.

La enfermedad para la cual un fármaco estaría administrándose siempre, se debe considerar inicialmente, como una fuente de resultados anormales.

Aparte de las interferencias de los fármacos, se debe de considerar algunos efectos adicionales para el significado del dato del laboratorio. Así por ejemplo, podemos citar las influencias modificantes de ciertos alimentos, el ciclo menstrual y la menopausia de la mujer; y los efectos de actividad y cambios de postura en sujetos a los cuales se les extrae sangre. Estos datos pueden alterar los datos de diversas pruebas.

En ciertos casos, los fármacos por sí mismos, no tienen influencia bioquímica en las pruebas de laboratorio, pero sus metabolitos pueden hacerlo así. Esto ocurre con la fenacetina, que no afectaba a los pruebas estudiadas, sin embargo, uno de sus metabolitos, N-acetil-p-aminofe-

nol, da falsas elevaciones para glucosa y ácido úrico .(2) Esto explica los descubrimientos "in vivo" de valores aumentados de ácido úrico en plasma y orina, después de la ingestión de Fenacetina.

Hay también la posibilidad contraria: un fármaco que interfiere marcadamente, con una prueba, puede rápidamente ser convertido en un metabolito que no interfiera, éste puede ser el caso del ácido ascórbico.(2)

También es importante tener en cuenta la estructura-química del fármaco, así Singh, Herbert y Gault,(4) confirman las observaciones de Foliñ y Denis,(5) en éstas,- se demuestra que los reactivos del ácido úrico, no interfiere con fármacos con estructura fenolica con un solo - grupo OH, ejemplo ac. salicílico, pero sí interfiere si- estos tienen a la vez, un grupo amino, ej. aminofenol, o bien si su estructura es fenolica con dos o más grupos - OH, ej. Epinefrina.

+Posible solución al problema de las interferencias- del fármaco.-

Las dificultades asociadas con una pobre especificidad, pueden ser minimizadas por separación del compuesto que - va a ser determinado -ej. por extracción-, pero esto no puede ser práctico o posible para procedimientos de rutina, que implican un gran número de pruebas. La interfe--rencia por un contaminante, es generalmente corregido, -

restándole un blanco apropiado. Pero éste procedimiento no es posible, cuando la interferencia es causada por la administración de un fármaco, a menos que la concentración apropiada del fármaco en el fluido biológico que va a ser ensayado, sea conocida y añadida al blanco.

Cuando ciertos valores bioquímicos, sean conocidos por ser incorrectos, debido a fármacos tomados intermitentemente, puede ser necesario suspender la administración de éstos, hasta que la sangre haya sido extraída para las pruebas biológicas.

-Acido úrico. El método de la uricasa, es sustrato específico para el ácido úrico. No obstante, está supeditado a dos tipos de interferencia. El primero es interferencia espectral causada por la presencia de un fármaco y/o sus metabolitos que absorben cerca o a la misma longitud de onda que el máximo de absorción del ácido úrico (4). Esta interferencia puede ser eliminada por dilución de la muestra y leyendo frente a un blanco de suero al pH de la reacción enzimática. El segundo es debido a inhibidores de la uricasa, tales como la 6-mercaptopurina y sus metabolitos, ácido 6-tiouórico y varias purinas análogas. Se ha informado también, que el urato en solución alcalina, puede ser convertido en oxonato, que es un potente inhibidor de la uricasa. Tales efectos inhibidores pueden, sin embargo, ser vencidos por un aumento de la actividad específica del enzima (4).

-Glucosa.-La glucosa puede ser analizada más específicamente por el método de la glucosa oxidasa.

-SGOT: En presencia de fármacos que interfieren con el método colorimétrico, los valores pueden ser determinados usando el método del NADH acoplado.

Para unos pocos de fármacos con máximo de absorción en UV cerca de 340 nm (donde se encuentra un máximo de absorción del NADH), por ej. la cloroquina y furosemina, si los de éstos son excesivamente altos, la absorbancia puede ser medida a 366 nm., donde el NADH tiene un máximo de absorción adicional.

En resumen, el fármaco interferente puede ser detectado por adición "in vitro" del fármaco al sistema de reacción, por dilución de la muestra, o por comparación del resultado con el obtenido por un método establecido, que esté basado en un principio diferente. La presencia de la interferencia puede ser confirmada por la supresión de la administración del fármaco.

La magnitud de la interferencia, depende de la reactividad del fármaco y sus metabolitos en las reacciones de la prueba y de la concentración del fármaco en los cuerpos fluidos. Esto último, dependerá de la cantidad de fármaco administrado, la vía de administración y otros factores farmacológicos como forma de metabolismo y excreción.

CASO PARTICULAR DE L-DOPA Y DE LA L-METILDOPA.

Interferencia de la L-Dopa

-Amoniaco: Se ha observado que los niveles de amoniaco pueden disminuir. Parece ser que se debe a un efecto farmacológico; de hecho, la administración de L-Dopa en pacientes con coma hepático, ha sido seguida por una mejoría neurológica. También se piensa que el efecto aparentemente favorable de la L-Dopa, no está relacionado con los niveles de amoniaco en sangre.(6,7,8).

-Antiglobulinas: La prueba directa de Coombs', para la determinación de antiglobulinas, puede dar positiva si se lleva a cabo asociada a una terapia de L-Dopa. El efecto está relacionado con la dosis diaria mas que con la dosis total administrada durante la terapia. La incidencia de este efecto es probablemente un poco mas bajo del 10%, y el resultado positivo de esta prueba no aparece hasta que el paciente haya recibido L-Dopa durante varios meses (9,10,11).

-Bilirrubina: La L-Dopa puede interferir en los valores determinados para la bilirrubina. Estudios realizados "in vitro" han demostrado que la L-Dopa a concentraciones de 20,8 μ g/ml a 80,3 μ g/ml pueden producir aumen-

tos de bilirrubina, medida por el SMA 12/60. (4)

Los estudios realizados por Singh, Hebert y Gault - muestran un apreciable efecto positivo a una concentra-- ción de bilirrubina de $1\ \mu\text{mol/l}$. (4)

También se ha observado que la L-Dopa, teóricamente, puede reaccionar con el reactivo diazo de los métodos co-- lorimétricos, aumentando así los valores teóricos.

-Catecolaminas: La L-Dopa interfiere en el método de determinación de catecolaminas de Hingerty. Por este mét-- todo, la Norepinefrina y Epinefrina son adsorbidos en -- óxido de aluminio a $\text{pH}=8,4$. A continuación son eluidas - con solución de ácido acético y oxidados con ferrocianu-- ro a $\text{pH } 6,5$. Finalmente la adición de ácido ascórbico en medio fuertemente alcalino produce la formación de adre-- nocromos, los cuales producen una fluorescencia verde.

En un informe realizado por Sapira, Klaniecki y Rat-- kin (12) se indica que la L-Dopa interfiere produciendo-- una fluorescencia similar a la de la Norepinefrina.

En otro informe, encontramos que una serie de pacien-- tes que recibieron L-Dopa manifestaron elevados valores-- de Norepinefrina urinaria, pero no de Epinefrina.(13)

-Colesterol: La administración de L-Dopa puede dar - altos valores de colesterol en suero.

Sirtori y col. notaron un aumento en suero de coles--

terol de un 10% en pacientes que habían recibido L-Dopa durante un año. (14)

-Color de la orina: Pacientes que recibieron una terapia de L-Dopa, les produjo un oscurecimiento de la orina. (15)

-Creatinina: La L-Dopa produce elevaciones de los valores de creatinina. Actúa probablemente como agente reductor, reduciendo el reactivo de ácido pícrico del método de Jaffe. (16)

-Cuerpos cetónicos: La L-Dopa interfiere en los métodos de determinación de estos.

En el método del nitroprusiato, éste reactivo reacciona principalmente con el ácido acetoacético para formar un color púrpura. Normalmente se usan las tabletas Acetest o las tiras Ketostix o Labstix.

La L-Dopa produce color con el reactivo, el cual puede ser confundido con el calor producido por pequeñas cantidades de cuerpos cetónicos. En estas pruebas, algunos investigadores indican que la L-Dopa interfiere en las tabletas Acetest mientras que otros indican lo contrario. (17, 18, 19)

En la prueba para detectar fenilcetonuria, también interfiere la L-Dopa. La prueba consiste en añadir una solución de cloruro férrico a la orina, la cual toma un-

color azulverdoso en presencia de ácido feninpirúvico.

En un estudio realizado por Wolcott y Hackett, (17) se indica que las orinas de cinco pacientes con la enfermedad de Parkinson, que recibieron de 1-5g/día, se volvieron oscuras y llegaron a ser positivas, al añadir la solución de cloruro férrico.

Se realizó la cromatografía de papel, para determinar los productos metabólicos finales de este fármaco. Se encontraron el ácido homovanílico y el ácido 3-4-dihidroxifenil-acético junto con la L-Dopa en el post-tratamiento de las orinas. Las soluciones de ácido 3-4-dihidroxifenilacético y de L-Dopa dieron reacciones positivas con la solución de cloruro férrico. Por tanto se demuestra que estos compuestos son los responsables del cambio de color, al tratar la orina con el cloruro férrico. (17)

-Glucosa: Sobre la glucosa también se han descrito falsos resultados de esta prueba en pacientes que recibían L-Dopa. Los resultados falsos son positivos o negativos según el método.

a) Método de reducción del cobre: Se basa en el poder reductor de la glucosa sobre el Cu^{++} . Esta reacción por tanto no es específica, ya que cualquier agente reductor puede interferir en la reacción. (1)

Sobre esta interferencia hay varios informes:

Así en un estudio realizado por Feldman y Lebovitz, -

encontraron que de 42 muestras de pacientes que recibieron L-Dopa, 19 de estas produjeron una reacción traza -- con el uso de las tiras Clinitest en ausencia de glucosuria. La reacción de estas tiras está basada en la reducción del Cu^{+2} (20)

Otros informes indican que al administrar a una serie de pacientes L-Dopa, la mayor parte de ellos desarrollaron resultados falsos positivos de Clinitest. (15,21)

En el estudio realizado por Singh, Hebert y Gault (4), sobre el efecto de algunos fármacos en los valores analizados por el Technicon SMA 12/60, vieron que la determinación de glucosa era afectado. El procedimiento de análisis está basado en la reducción del quelato cúprico-neocuproína en solución alcalina, por tanto este método está supeditado a interferencias por agentes reductores. Igualmente informan que si el fármaco reacciona con los reactivos del ácido úrico, como así era, generalmente -- también reacciona con los reactivos de la glucosa. En este estudio buscaron la máxima concentración probable que se encuentre en plasma y con este valor realizaron pruebas "in vitro" produciendose falsos valores positivos. Sin embargo, después de la administración de 1g del fármaco, los niveles de este en plasma fue 1,9 g/ml, valor mucho más bajo de lo que se había previsto, lo cual indica que el fármaco es rápidamente metabolizado. Sin embargo, los metabolitos de éste, tales como la Dopamina, reac

ciona produciendo valores positivos en esta prueba, después de la administración del fármaco.(4)

, También se indica en este trabajo, que la glucosa deberá ser ensayada por el método más específico de la "glucosa oxidasa". Sin embargo, después comprobamos que la L-Dopa también interfiere en este método.

Otros estudios realizados en estas tiras de Clinitest fueron hechos por Feldman, Kelley y Lebovitz.(21) Las determinaciones semicuantitativas de sustancias reductoras con Clinitest, depende del cambio de color producido -- cuando el sulfato cúprico es reducido a óxido cuproso. En este estudio, a un grupo de pacientes se les dió de 0,75 mg a 3,0 g de L-Dopa. Al hacer el análisis, 6 de las 25-muestras reducían el reactivo de cobre del Clinitest, en ausencia de glucosuria. En dosis superiores del orden de 3,5 a 5 g/día, 13 de las 17 muestras redujeron el reactivo de cobre del Clinitest. Al estudiar el metabolismo de la L-Dopa, los metabolitos que se encuentran son el ácido homovanilínico, dopamina y la misma L-Dopa. Sin embargo, el destino metabólico del 70% de la L-Dopa no ha sido todavía determinada. Parece ser que el principal -- agente responsable de la interferencia es un metabolito no identificado. Las sustancias interferentes son todas potentes agentes reductoras.(21)

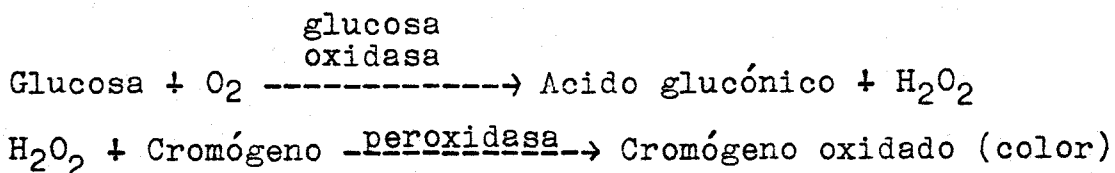
En otro informe también encontramos que la L-Dopa interfiere en este análisis de glucosa. Se indica que el -

causante de esta interferencia es un metabolito de la L-Dopa, ácido 3-4 dihidroxifenilacetico (DOPAC), el cual es un potente agente reductor. (20)

b) Método de la glucosa oxidasa.

Aunque en principio, se piensa que es un método más específico para la glucosa, sin embargo también se han descrito casos que afectan a los valores de esta prueba.

El método se basa en las reacciones:



La primera reacción es específica para la glucosa, sin embargo la segunda no lo es tanto, y diversas sustancias reductoras pueden competir con el cromógeno por el Peróxido de Hidrógeno.

En el estudio realizado por Feldman y Lebovitz (20), en las tiras Clinistix (método de glucosa oxidasa), tomaron muestras de orina de pacientes tratados con L-Dopa y estas orinas fueron tratadas hasta tener una concentración de glucosa de un 1%. Al hacer las pruebas con estas tiras Clinistix produjeron una respuesta negativa.

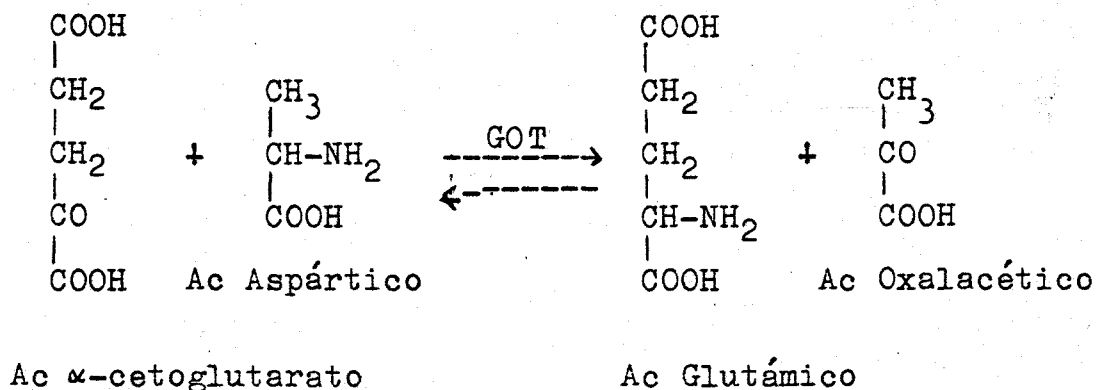
En el trabajo de Feldman, Kelley y Lebovitz (21), se informa de una prueba de glucosa oxidasa negativa en orinas de pacientes con glucosuria. Esto ocurría después de haber sido los pacientes administrados con L-Dopa. Los -

agentes responsables de esta falsa prueba, eran metabolitos reductores. Una reacción negativa de esta prueba sería clara evidencia de que la glucosuria no está presente. En un análisis de glucosa a pacientes con significadas hiperglucemia, las tiras de Clinistix fueron consistentemente negativas; esto era debido a la excreción urinaria de potentes agentes reductores. En este estudio, a un grupo de pacientes les administraron de 0,75 a 3,0g de L-Dopa. Se realizó un ajuste de las muestras de orina al 1% de concentración de glucosa y aparecieron reacciones falsas negativas de las tiras de Clinistix. A otro grupo de pacientes, les fue administrado L-Dopa en dosis superiores de 3,5 a 5g/día, e igualmente fueron ajustadas las muestras de orina a una concentración de glucosa de un 1%, e igual que ocurría con el Clinitest, 13 de las 17 muestras inhibieron la reacción del Clinistix. Se pensó que el responsable de esta interferencia fuera el metabolito de la L-Dopa, Dopamina, ya que este era capaz de producir una reacción negativa del Clinistix, en presencia de glucosuria. Sin embargo, la concentración requerida para inhibir esta reacción (0,6mg/ml), es mayor que la cantidad excretada en pacientes que recibieron L-Dopa. Por tanto, se piensa que el agente responsable es un metabolito desconocido de la L-Dopa.(21)

En el informe de Feldman y Lebovitz (20), se cita como agente responsable de esta falsa prueba negativa, el ácido 3-4dihidroxifenilacético (DOPAC), este metabolito es un potente agente reductor y mantiene al indicador de la o-toluidina en su forma reducida, dando así una falsa prueba negativa de glucosuria.

Este problema parece ser que puede ser evitado usando las tiras Tes-Tape, (también de glucosa oxidasa). Esta tira actúa como un sistema cromatográfico miniascendente, y la glucosa tiene un Rf mayor que la DOPAC, por tanto la reacción positiva se desarrollará en el sitio de la glucosa.

-GOT: La GOT cataliza la transferencia de un grupo amino del aspartato al α -cetoglutarato, con formación de oxalacetato y glutamato.



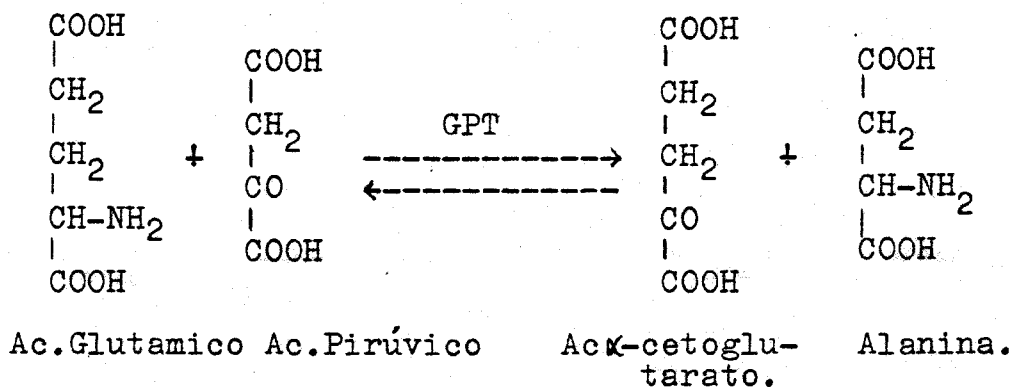
El oxalacetato es medido colorimetricamente, después de reaccionar con la 2,4-dinitrofenilhidracina, en solución alcalina, con formación de una hidrazona pardo-roji

za. El límite superior normal es 40 unidades.

Existe un informe en el que se indica que una solución que contenga 3,2 $\mu\text{g/ml}$ produce un color equivalente a 33 unidades. Sin embargo, a dosis terapéuticas normales, los niveles plasmáticos raramente exceden de 4 $\mu\text{g/ml}$. En este estudio, realizado por Singh, Heberty Gault se apreciaron unas falsas subidas de los valores de GOT, medido por el Technicon SMA 12/60 después de la administración de este fármaco.(4)

En otros trabajos se achaca este aumento de actividad a un efecto farmacológico o fisiológico y no efecto del método. Este efecto parece ser transitorio y se normaliza a pesar de continuar el tratamiento. (3,22)

-GPT: La GPT cataliza la reacción de transferencia del grupo amino del ácido glutámico al ácido pirúvico -- con formación de α -cetoglutaratato y alanina.



Sólo se ha encontrado un informe en el que se indica que se pueden dar falsos aumentados, pero esto se debe --

más bien a un efecto farmacológico o fisiológico y no -- del método. El efecto es transitorio y se vuelve normal al pasar un tiempo.(23)

-5-Hidroxiindolacético (5-HIAA): La administración de L-Dopa puede producir una disminución en la excreción urinaria.

En un estudio realizado con pacientes con Parkinson, la administración de 5g/día de L-Dopa, produjo una disminución de la excreción urinaria de 5-HIAA en cerca del 50%, en comparación con la administración de un placebo. Por tanto, esta disminución de 5-HIAA esta producido por un efecto farmacológico o fisiológico y no por interferencia en el procedimiento ensayado.(24)

-Proteínas: Parece ser que la administración de L-Dopa puede interferir en la determinación de proteínas totales.

Estudios realizados "in vitro", indican que la Dopamina la cual es eliminada en la orina de pacientes que recibieron L-Dopa, puede causar falsos aumentos de proteínas en orina, analizadas por el método de Lowry.(25)

En otro informa también se indica el efecto positivo de la L-Dopa en la determinación de proteínas totales -- sin especificar el método.(3)

Por el método de la SMA 12/60 no se apreció interferencia.(4)

-Acido Urico: Los niveles de ácido úrico en suero y orina pueden estar falsamente elevados después de una terapia de L-Dopa, cuando son usados métodos colorimétricos. El método de la uricasa, método más específico, aparentemente no es afectado por una terapia de L-Dopa. (22, 26, 27)

En un estudio realizado por Cawein y Hewins observaron que dieciocho de los veinte pacientes con Parkinson que estaban tratados con L-Dopa (3 a 7 g/día), dieron resultados elevados en suero y orina. La excreción de ácido úrico de 24 h estuvo por encima del límite superior de 750 mg. Los niveles de ácido úrico aumentan en un promedio de un 20%. Los sueros y orinas fueron analizados por métodos colorimétricos (sigma analytical Kit SMA 12/30 y No 680). Una solución diluida de L-Dopa en agua dió resultados positivos para la prueba de ácido úrico realizado por dicho método. Igualmente se informa que dichas determinaciones analizadas por el método de la uricasa dieron resultados normales. Por tanto, la L-Dopa o algún metabolito de ésta, producen valores falsamente elevados en las determinaciones basadas en métodos colorimétricos. (26)

En el estudio realizado por Singh, Herbert y Gault (4) también se observa que la prueba de ácido úrico realizada en el SMA 12/60 puede estar interferido por algunos fármacos, como el caso de la L-Dopa. Los métodos del

SMA 12/60 para determinar ácido úrico, está basado en la reducción del fosfotungstato. Por tanto, este método está supeditado a interferencias por agentes reductores.

En este estudio también se indica la importancia de la estructura del fármaco, así, con los reactivos del ácido úrico interfieren fármacos con fenoles monohídricos que contengan un grupo amino en el anillo del benceno, o bien con fenoles dihídricos o polihídricos. Así en este caso podrían interferir la misma L-Dopa, la Dopamina o Epinefrina.

Igualmente aquí se aconseja el método de la uricasa, que es más específico. (4).

Otras listas de interferencias de fármacos también indican este aumento en los niveles de ácido úrico producido por la L-Dopa. (3).

-Acido Vanilmandélico (VMA): Puede producir una pequeña elevación de los niveles de VMA después de la administración de L-Dopa. Sin embargo, la VMA medida por el método de Pisano puede estar disminuida en pacientes que recibieron este fármaco. (28,29).

En otros informes, unos dicen que disminuye debido a que la Dopamina actúa como supresor de neurotransmisores. Por tanto será un efecto farmacológico y no un efecto del método de análisis. Otros indican que puede haber un pequeño aumento, con un incremento de ácido homovallínico-

(HVA). Este aumento de HVA es una respuesta a la terapia de pacientes con Parkinson, ya que el HVA es el principal metabolito de la L-Dopa. De todas formas, estos aumentos son producidos por efectos farmacológicos y no por efectos del método de laboratorio. (28,30)

Interferencias de la Metildopa.

-Amilasa: Los valores de amilasa pueden aumentar después de la administración de metildopa.

Se ha descrito el caso de tres pacientes con Sialadenitis, después de haber recibido Metildopa; dos de estos pacientes tuvieron unos valores de amilasa en suero aumentados. Los isoenzimas estudiados mostraron que la amilasa era originaria de la glándula salivar. (3,31)

Este efecto, por tanto, es farmacológico.

-Antiglobulinas: La administración de Metildopa produjeron un efecto positivo en la determinación de Anti--globulinas por la prueba directa de Coombs'. (3)

Las pruebas positivas directas de Coombs' han sido estudiadas en cerca de 200 pacientes que recibían Metildopa. La incidencia de una prueba positiva viene a ser aproximadamente del 20%. La Aparición de anemia hemolítica es muy baja (menor del 1%). Normalmente esta prueba positiva no se produce hasta que el paciente no haya recibido Metildopa durante varios meses, Sin embargo, este hecho es transitorio y unas veces se desarrolla en el primer mes y otras después de haber recibido el fármaco durante un año. (33,34,35)

En el informe realizado por Hunter, Raik, Gordon y Taylor (32), sobre estos casos, el estudio se realizó en 98 pacientes hipertensivos y con terapia de Metildopa. De estos resultados 26 casos positivos de la prueba directa de Coombs'. Estos resultados son a veces transitorios y en algunos casos se produjo después de unos pocos días de tratamientos. La incidencia de la positividad de esta prueba, parece estar relacionada con la dosis diaria, ya que esto ocurría en pacientes que recibían más de 2,25g/día. También se observó la presencia de células de LE y del factor antinuclear. En estas pruebas cinco personas mostraron una reacción positiva para la primera y once para la última. No se afectan otras pruebas serológicas.

La prueba directa de Coombs' parece más probable que sea positiva entre los seis meses y un año de terapia. De los 26 pacientes que dieron positivos, solo 11 siguieron siendo positivos después de tres años o más de terapia. También parece ser que esta prueba es más sensible en las mujeres que en los hombres. (32)

-Bilirrubina: La administración de Metildopa puede interferir en los niveles plásmaticos de bilirrubina.

Estudios "in vitro" han demostrado que la Metildopa a concentración de 62,5 μ g/ml, puede producir un aumento de los valores de bilirrubina medida por el SMA 12/60.

Se han informado algunos casos de ictericia obstructi

va e ictericia hepatocelular, seguidas de la administración de Metildopa. Sin embargo, la Metildopa, como inductor de enfermedades del hígado es normalmente leve y raramente continua después de que el fármaco haya sido retirado. La incidencia de la lesión hepatocelular parece estar cerca del 1% en pacientes que recibieron Metildopa (36,37,38).

En el estudio de Singh, Hebert y Gault (4) también se indica que la Metildopa muestra un apreciable efecto positivo en la reacción de la bilirrubina medida por el SMA 12/60.

En otros informes también aparece la Metildopa como interferencia en los valores determinados de bilirrubina, pero se atribuye este efecto a un efecto farmacológico y no del método de laboratorio. (3,36).

-Catecolaminas.- Marcados aumentos en determinaciones de catecolaminas por el método Hingerty, puede notarse en pacientes que recibieron Metildopa, Otros métodos --- fluorimétricos son probablemente también afectados. Se recomienda que la Metildopa sea retirada del tratamiento al menos diez días antes a la determinación de catecolaminas. (39,40).

La Metildopa, además, al ser igual a las catecolaminas es la causa más común de falsas pruebas positivas para catecolaminas por el método de Hingerty. (40,3)

-Color de la orina: El tratamiento con L-metildopa-- puede conferir un color atípico a la orina. La orina de algunos pacientes que fueron tratados con L-metildopa tomó un color oscuro (41,42)

-Creatinina: La Metildopa produce aumento de los valores de creatinina. Interfiere principalmente en el método Jaffe, en la cual el reactivo, ácido pícrico, en solución alcalina reacciona con la creatinina para formarse un color marron-rojizo. Sin embargo, la Metildopa interfiere al ser éste un agente reductor, reduciendo así el ácido pícrico.(3,42).

En otro informe se indica que la autooxidación de la Metildopa en solución alcalina, produce un color marrón, interfiriendo así en el método. Se ha precisado que 10 mg/dl de Metildopa, produce un color equivalente a 1,0 mg/dl de creatinina. (1).

-Cuerpos cetónicos: La Metildopa puede interferir en la determinación de éstos, por el método del nitroprusiato más álcalis. En este método, el reactivo reacciona con el ácido acetoacético, para formar un color púrpura.- La Metildopa parece ser que interfiere al producir color con el reactivo.(19).

-Fosfatasa alcalina: Los valores de fosfatasa alcalina aparecen aumentados después del tratamiento con Metildopa, aunque esto parece estar producido por un efecto -

farmacológico; no se ha descrito el mecanismo por el cual aumentan estos valores. (3,36,42).

-Glucosa: La Metildopa parece que afecta claramente a la determinación de glucosa por el método de reducción del cobre (Clinitest), sin embargo la interferencia por el método de la glucosa oxidasa (Clinistix), no parece tan clara.

En un informe se indica un caso de una reacción Clinitest falsamente positiva, en un paciente que recibió 2 g/día de Metildopa. Sin embargo, la prueba de glucosa oxidasa, no pareció ser afectada por la administración de Metildopa. (15,21).

Otros informes igualmente indican la interferencia de la prueba de Clinistest y sin embargo no interfiere el método de glucosa oxidasa. (3).

En el estudio realizado por Feldman, Kelley y Lebovitz (21), se indicó que a altas concentraciones, este medicamento reducía el reactivo de cobre del Clinitest, y en una suspensión de 5 mg/ml, estudios preliminares indican la inhibición de la reacción de la glucosa-oxidasa. En otro estudio, tomaron cinco muestras de orina de pacientes que tomaban de 1 a 2 g/día de Metildopa. A estas muestras se le hizo un ajuste de la concentración de glucosa al 1% y al hacer el análisis por el método de la glucosa oxidasa, dieron los valores normales. Sin embar-

go, la orina de un paciente que ingería 2g/día de Metildopa, reducía el reactivo de cobre del Clinistest. Por tanto se pensó que el hecho de que la Metildopa no interfiriera, fuera debido a que este se usa en dosis más bajas que la necesaria para inhibir esta reacción o bien que este fármaco tuviera unos metabolitos distintos a los de la L-Dopa. (21).

En el estudio realizado por Singh, Hebert y Gault -- (4) de las interferencias en el SMA 12/60, también se -- apreció que la Metildopa también se afectaba en los análisis de glucosa. Este análisis se basaba en la reducción del quelato cúprico-neocupreína en solución alcalina, por tanto este método está supeditado a interferencias por reductores, como puede ser el caso de la Metildopa. (4)

-GOT: Los niveles de GOT interfieren en los métodos colorimétricos, sin embargo, para que interfiera, estos niveles tienen que ser muy altos, de tal forma que una solución que contenga 62,5 μ g/ml produce un color equivalente a 16 unidades. Sin embargo, a dosis terapéuticas normales, los niveles del fármaco en plasma raramente exceden de 3 μ g/ml, por tanto no aparecerían interferencias en el método. (4) Sin embargo se indica que se aprecian aumentos de los valores de GOT.

Otros informes, también indican que la Metildopa produce aumentos de los valores de GOT, sin embargo, este --

hecho es puramente farmacológico y más bien se atribuye a un daño hepatocelular o colestiasis. (3,42,43)

-GPT: Los aumentos que se aprecian en los valores de GPT después del tratamiento con Metildopa, igualmente se atribuye a un efecto farmacológico, que igual que en la GOT puede ser debido a daño hepatocelular o colestiasis. (3,42,43)

-5-Hidroxiindolacético (5-HIAA): El tratamiento con Metildopa puede disminuir la eliminación de 5-HIAA. Esto parece que es debido a que la Metildopa inhibe la descarboxilación de aminoácidos aromáticos, lo cual supondría la inhibición de la síntesis de Serotonina desde el 5-Hidroxitriptófano. Esta disminución en la síntesis de Serotonina, terminaría en la correspondiente eliminación disminuida de 5-HIAA. Estudios realizados en esquizofrénicos y pacientes hipertensivos a los que les fue dado una carga de 5-Hidroxitriptófano, han mostrado que la Metildopa disminuye la eliminación urinaria de 5-HIAA. (3,24,44)

-Acido Úrico: Los valores de ácido úrico analizados por el método del fosfotungstato, están aumentados durante el tratamiento con Metildopa.

, El método se basa en la reducción del fosfotungstato por el ácido úrico en solución alcalina, formándose un color azul. La Metildopa o sus metabolitos podrían interferir como agentes reductores.

Después de una dosis terapéutica normal, la concentración en plasma no es apreciable (2-3 μ g/ml), pero la eliminación en orina puede llegar a 250 mg/día. Se ha observado que soluciones acuosas de 10 mg/dl de Metildopa produce un color equivalente a 10 mg/dl aproximadamente de ácido úrico por el método del fosfotungstato.(1).

Otras listas de interferencias coinciden en señalar que la Metildopa puede interferir en los análisis de ácido úrico realizados por este método.(3,42)

En los estudios realizados por Singh, Hebert y Gault en el SMA 12/60, también interfirió la Metildopa en los resultados del ácido úrico. El método utilizado, es también el del fosfotungstato.(4)

En todos los informes se aconseja usar para el análisis del ácido úrico, el método de la uricasa, por ser este un método más específico, cuando ocurren estas interferencias.

La Metildopa, además, por su estructura química, se podía pensar que interferiría en este método, ya que al tener una estructura fenólica dihidrica, reacciona con el reactivo del ácido úrico.(4)

-Acido Vanilmandélico (VMA): La interferencia de la Metildopa en los análisis del VMA no está clara según los informes hallados sobre este tema.

En unos se indica que no interfiere en la eliminación

del VMA; si acaso, se indica que la Metildopa puede producir una pequeña disminución en la excreción de VMA, pero este efecto no es significativo en pacientes con Feocromocitoma.(45)

Por el método de Pisano, basado en la oxidación del VMA a Vanilina, no se ha observado interferencia.(46).

Otro informe indica, que los valores del VMA pueden estar aumentados, ya que el 5-HIAA puede reaccionar con el reactivo, no específico, diazo.(47)

Aparte de estas interferencias de la Metildopa, también se encuentran otras pero en ellas no se especifica, ni el método al que afectan ni el mecanismo por el que actúan.

Entre éstos se encuentran:

- Derivados azoados en sangre: efecto positivo
- Bromosulfaleína: efecto positivo
- Sodio: efecto positivo

Así como algunos análisis hematológicos como:

- Conteo de Eosinófilos: efecto positivo.
- Conteo de Plaquetas: efecto positivo.
- Tiempo de Protrombina: efecto positivo.
- Velocidad de Sedimentación: efecto positivo.
- Otros.

OBJETIVOS DEL TRABAJO

Los objetivos del presente trabajo, se pueden resumir en dos aspectos distintos pero complementarios. De una parte, averiguar qué pruebas analíticas se alteran por la presencia en el medio de la reacción de L-Dopa y Metildopa. De otra parte, exponer nuestra experiencia sobre el mecanismo mediante el cual estos fármacos pueden modificar las determinaciones analíticas, a la vista de la bibliografía consultada y comentada anteriormente. En resumen, se trata de comprobar si estos fármacos, actualmente muy utilizados en clínica moderna, se comportan como agentes reductores.

MATERIAL Y METODOS

M A T E R I A L Y M E T O D O S

Los equipos analíticos de las distintas pruebas experimentadas han sido obtenidas de varias casas comerciales (Boehringer, Cromatest, QCA, Merck...)

En primer lugar, se han realizado unas pruebas cualitativas para determinar el posible carácter reductor de los fármacos a investigar. A continuación, se ha seguido con una serie de pruebas cuantitativas, observando cuáles de ellas se ven afectadas y el grado de interferencia -- que tienen estos dos fármacos.

Las pruebas cualitativas realizadas para determinar el carácter reductor de los fármacos han sido: Reacción de Fehling, Reacción de Pasteur y Reacción de Benedict.

Las pruebas cuantitativas que se ven afectadas por estos dos fármacos son: Reacción frente al ácido pícrico, prueba del Colesterol por método enzimático, prueba de la Glucosa oxidasa, Creatinina, Proteínas totales y prueba del ácido úrico.

PRUEBAS CUALITATIVAS

REACCION DE FEHLING

Se basa en el hecho de que el catión cúprico en medio alcalino y a ebullición, se reduce a óxido cuproso por la acción de sustancias reductoras, originando un precipitado. Si el color azul del reactivo se transforma en un color rojizo, es señal de que existen sustancias reductoras.

La reacción se llevó a cabo tomando 10 ml del reactivo de Fehling A y 10 ml del reactivo de Fehling B. Lo llevamos a ebullición, y añadimos gota a gota la solución de L-Dopa (100 mg/100 ml).

A continuación se realizó la prueba para la Metildopa, añadiéndole igualmente gota a gota la solución de ésta (100 mg/100 ml).

La aparición de un color rojizo oscuro indica que ambos fármacos son reductores. La intensidad del color nos indicará el grado del poder reductor de cada fármaco.

REACCION DE PASTEUR

En esta reacción también se detectan sustancias reductoras. El fundamento es el mismo que el de la reacción de Fehling, o sea la reducción de sales cúpricas por agentes reductores.

El análisis se realizó con 10 ml del reactivo de Pasteur, se llevó a ebullición y gota a gota se añadió la solución de L-Dopa (100 mg/100 ml).

Igualmente se realizó la prueba con la solución de la Metildopa (100 mg/100 ml).

Si el color azul del reactivo se vuelve marron-rojizo indicará que los fármacos han reducido el reactivo de cobre. La intensidad del color indicará el grado de poder reductor del fármaco.

REACCION DE BENEDICT

El fundamento es el mismo que el de las pruebas anteriores. Se basa en la acción reductora del compuesto sobre el catión cúprico, en medio alcalino.

El análisis se llevó a cabo poniendo en un erlenmeyer 25 ml del reactivo de Benedict y 10 g de carbonato sódico cristalizado. Se llevó a ebullición y se fue añadiendo gota a gota la solución de L-Dopa (100 mg/100ml).

El análisis para la Metildopa se realizó de la misma

forma, añadiéndole igualmente la solución de ésta (100 mg /100 ml).

Si el color azul del reactivo pasa a un color marrón rojizo, indica que los fármacos son reductores. Igualmente, la intensidad del color desarrollado en la reacción, nos dará una idea del grado de potencia reductora de estos fármacos.

PRUEBA DE REDUCCION DEL NITRATO DE PLATA

El fundamento de esta prueba está basado en el hecho de que las sustancias reductoras actúan sobre el nitrato de plata, reduciendo la Plata (I) a plata metálica en medio amoniacal, y tomando el medio de reacción un color negro.

La prueba se realizó añadiendo a 5ml de una solución de nitrato de plata al 3%, 0'5 ml de la solución de L-Dopa (100 mg/100 ml) o de Metildopa (100 mg/100 ml) respectivamente, y dos gotas de amoniaco al 12%.

Si el medio de reacción se vuelve negro, nos indicaría el carácter reductor de dichos fármacos.

PRUEBAS CUANTITATIVAS

REACCION FRENTE AL ACIDO PICRICO

Para ver si estas sustancias eran reductoras se enfrentó también estos fármacos a un oxidante como es el ácido pícrico. Al reaccionar éste con sustancias reductoras, el color amarillo del ácido pícrico desaparece y la reacción toma un color rojo oscuro. La intensidad del color nos indicará el grado de reducción en la reacción.

La prueba se realizó pipeteando en tubos de ensayo 3 ml de ácido pícrico, 0,5 ml de NaOH y 0,5 ml de las soluciones de L-Dopa o Metildopa en cada caso. El ensayo se realizó, tanto con las soluciones madre de cada fármaco (100 mg/100 ml), como con disoluciones hechas a partir de ésta a la mitad y a la décima parte.

	Blanco	Problemas
Acido pícrico	3 ml	3 ml
NaOH	0,5 ml	0,5 ml
Sol. problema	--	0,5 ml
Agua	0,5 ml	--

Se mezclan bien el contenido de los tubos y se dejan reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente. A continuación se mide la absorbancia de las soluciones problemas frente al blanco.

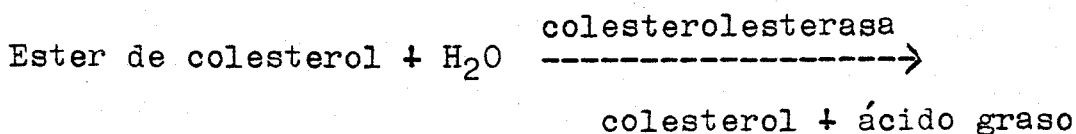
La lectura se realizó en Espectrofotómetro a 510 nm, -
en cubetas de vidrio de 1 cm de paso de luz.

PRUEBA DEL COLESTEROL POR EL METODO ENZIMATICO

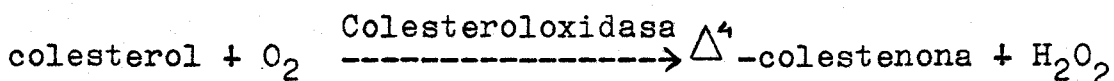
"CHOD-PAP".

Fundamento de la prueba:

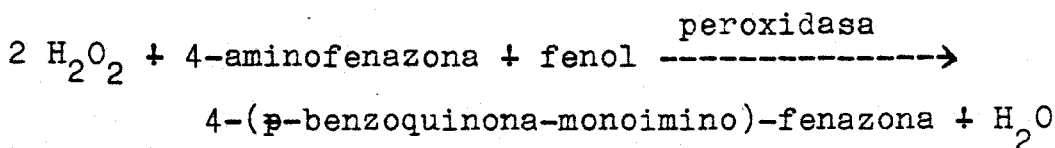
Los ésteres de colesterol se hidrolizan por medio --
del enzima "colesterolesterasa", quedando libre el coles-
terol y los ácidos grasos:



A continuación, el colesterol se oxida mediante el -
enzima "colesteroloxifasa" formándose en la reacción agua
oxigenada:



El agua oxigenada reacciona con el cromógeno, median-
te el enzima "peroxidasa", formándose el compuesto colo-
reado:



Reactivos de la prueba:

-Reactivo 1: Está formado por un tampón de fosfato - de potasio, fenol y metanol.

-Reactivo 2: Formado por el tampón de fosfato de potasio, 4-aminofenazona, metanol e hidroxipolietoxidodecano.

-Reactivo 3: Formado por el colesterol esterasa, colesterol oxidasa y peroxidasa.

El reactivo para el análisis (Reactivo 4), se forma mezclando estos tres reactivos según indica la técnica.- Así para esta prueba se tomaron 20 ml del Reactivo, 1/20 ml del reactivo 2 y 0,2 ml del reactivo 3.

Método de análisis:

Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Control	Pruebas
Reactivo 4	2 ml	2 ml	2 ml
Patron Colesterol	-	0,02 ml	0,02 ml
Interferencia	-	-	0,02 ml

Mezclar, incubar 30 min. a 20-25°C.

Lectura de la absorbancia del control y de las pruebas frente al blanco de reactivo.

La lectura se realizó en Espectrofotómetro a 500 nm, y

en cubetas de vidrio de 1 cm de paso de luz.

PRUEBA DE LA CREATININA

Fundamento de la prueba:

Se basa en la reacción descrita por Jaffé, en la --
cual la creatinina en medio alcalino forma con el ácido-
pícrico un compuesto de color rojo-amarillo.

Reactivo de la prueba:

El reactivo de trabajo se prepara a partir de volú--
menes iguales del buffer alcalino y de la solución de --
ácido pícrico.

Método de análisis:

Pipetear en tubos de ensayos:

	Blanco	Control	Problemas
Reactivo de trabajo	3 ml	3 ml	3 ml
Patron de Creatinina	-	0,1 ml	0,1 ml
Interferencia	-	-	0,1 ml

Mezclar, e incubar los tubos 10 min. a temperatura am
biente.

Medir la absorbancia del control y de los problemas--
frente al blanco de reactivo.

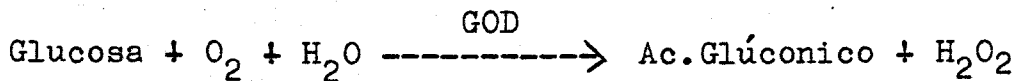
La lectura se realizó en Espectrofotómetro a 510 nm, y

en cubetas de vidrio de 1 cm de paso de luz.

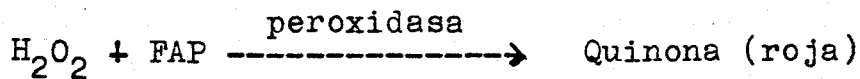
PRUEBA DE LA GLUCOSA OXIDASA

Fundamento de la prueba:

La glucosa se transforma en ácido glúconico en presencia del enzima glucosa oxidasa (GOD), formándose a la vez agua oxigenada:



El agua oxigenada formada, reacciona con el cromógeno Fenil ampirona (FAP), en presencia de la "peroxidasa", para formar una quinona que da color rojo:



La intensidad del color de la quinona es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.

Reactivo de la prueba:

El reactivo de trabajo (Monorreactivo) se preparó a partir de volúmenes iguales de Fenol (1,0 mM) y de la mezcla enzimática (pH=6,9), que previamente fueron diluídos como explica la técnica..

Método de análisis:

Pipetear en tubos de ensayo: 2,5 ml del Monorreactivo

en todos los tubos (Blanco, Control y Problemas),añadir-
el Patron de Glucosa al control y a los problemas, y por
último las soluciones de los fármacos a las distintas --
concentraciones.

	Blanco	Control	Problemas
Monorreactivo	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
Patron de Glucosa	-	0,02 ml	0,02 ml
Interferencia	-	-	0,02 ml

Mezclar, e incubar los tubos 30 min. a temperatura -
ambiente (18-20°C) o 15 min a 37°C.

Medir la absorbancia del control y de los problemas-
frente al blanco de reactivo.

La lectura se realizó en Espectofotómetro a 510 nm y
en cubetas de vidrio de 1 cm de paso de luz.

PROTEINAS TOTALES POR EL METODO DEL BIURET

Fundamento de la prueba:

Cualquiera que sea la naturaleza de los ácidos amino
dos que las constituyen, todas las proteínas contienen -
el enlace

peptídico ($-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-$). Puesto que este enlace peptídico se-
combina con el ion cobre en las soluciones alcalinas --

fuertes, dando un complejo de color púrpura, la intensidad del color producido es proporcional al número de enlaces peptídicos, y por tanto la cantidad de proteínas.

Reactivo de la prueba:

El reactivo de la prueba es el reactivo del Biuret.

Método de análisis:

	Blanco	Control	Problemas
Reactivo	5 ml	5 ml	5 ml
Patron (Versatrol)	-	0,1 ml	0,1 ml
Interferencia	-	-	0,1 ml
Agua	0,2 ml	0,1 ml	-

Mezclar bien y dejar a temperatura ambiente 20 min.- en reposo.

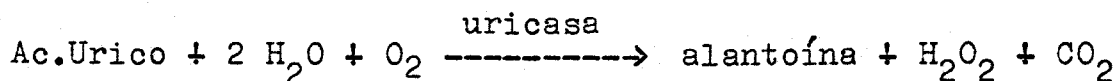
Medir la absorbancia del control y de los problemas frente al blanco de reactivo.

La lectura se realizó en Espectrofotómetro a 540 nm y en cubetas de vidrio de 1 cm de paso de luz.

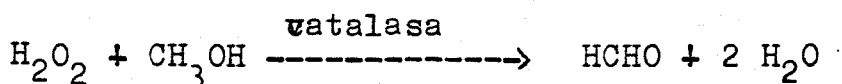
PRUEBA DEL ACIDO URICO POR EL METODO ENZIMATICO "URICA-QUANT".

Fundamentó de la prueba:

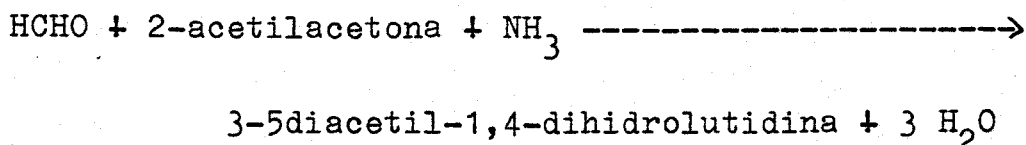
El ácido úrico se transforma en alantóina por medio del enzima "uricasa":



En la reacción también se produce agua oxigenada, la cual reacciona con metanol para formar formaldehído, por medio del enzima "catalasa":



El formaldehído reacciona con la 2-acetilacetona y amoníaco para dar un compuesto coloreado:



Reactivos de la prueba:

Se reconstituyen según indica la técnica:

- Reactivo 1: tampon: fosfato amónico (pH=7), metanol y catalasa.
- Reactivo 2: Acetilacetona, metanol.
- Reactivo 3: Standard de ácido úrico (6 mg/100 ml)
- Reactivo 4: Uricasa.
- Reactivo 5: Solución: Mezclar el reactivo del ácido úrico según la tabla que indica la técnica, con los reactivos 1 y 2.

Método de análisis:

Pipetear en tubos de ensayos: En principio se prepara la solución del blanco de prueba con 5 ml del reactivo 5 y con 0,5 ml de la solución del standard de ácido úrico, mezclandose bien el contenido. A partir de esta solución se añade 2,5 ml de ésta al control y a los problemas, se añade también a éstos 0,02 ml del reactivo 4. A continuación se añade 0,5 ml de las soluciones de los fármacos a los tubos problemas y 0,5 ml de agua destilada al tubo del blanco y al del control:

	Blanco	Control	Problemas
Standard de A. úrico	0,5 ml	-	-
Reactivo 5	5 ml	-	-

Mezclar bien el contenido

Reactivo 4	-	0,02 ml	0,02 ml
Solución del tubo de blanco de prueba	-	2,5 ml	2,5 ml
Interferencia	-	-	0,5 ml
Agua	0,5 ml	0,5 ml	-

Mezclar bien, e incubar por lo menos 60 min. a temperatura ambiente.

Medir la absorbancia del control y de los problemas frente al blanco de reactivo.

La lectura se realizó en Espectrofotómetro a 410 nm y en cubetas de vidrio de 1 cm de paso de luz.

PRUEBA DEL ACIDO URICO

El método utilizado es el método colorimétrico de reducción del ácido fosfotúngstico.

Fundamente:

El método de análisis está basado en la reducción -- del ácido fosfotúngstico por el ácido úrico en medio alcalino. El complejo azul formado es proporcional a la -- concentración de ácido úrico en la muestra a analizar.

Reactivos:

-Mezclax cromogénica: Se prepara mezclando el ácido-fosfotúngstico con el diluyente según indica la técnica.

-Tampon "Uric-CROM"

Método de análisis:

Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Control	Problemas
Tampon "Uric-CROM"	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
Control de Ac Urico	-	0,2 ml	0,2 ml
Interferencia	-	-	0,2 ml
Agua destilada	0,4 ml	0,2 ml	-

Mezclar, incubar al menos 3 min. a temperatura ambiente.

Transcurridos los 3 min. pipetear:

	Blanco	Control	Problemas
Mezcla cromogénica	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml

Mezclar e incubar al menos 20 min. a T^a ambiente.

Emplear el blanco para ajustar a cero el aparato y --
efectuar las lecturas de las absorbencias del control y-
de los problemas.

La lectura se realizó a 680 nm y en cubetas de vi---
drio de 1 cm de paso de luz.

RESULTADOS

T A B L A I

REDUCCION DE LAS SALES DE COBRE (II) POR LA L-DOPA

PRUEBA	GRADO DE REACCION
Reacción de Fehling	Positiva
Reacción de Pasteur	Positiva
Reacción de Benedict	Positiva

Las pruebas se realizaron añadiendo gota a gota la solución de L-Dopa (100 mg/100 ml), a la mezcla de reacción. Las pruebas se realizaron según se describe en Material y Métodos.

T A B L A II

REDUCCION DE LAS SALES DE COBRE (II) POR LA METILDOPA

PRUEBA	GRADO DE REACCION
Reacción de Fehling	Positiva
Reacción de Pasteur	Positiva
Reacción de Benedict	Positiva

Las pruebas se realizaron añadiendo gota a gota la solución de Metildopa (100 mg/100 ml), a la mezcla de -- reacción. Las pruebas se realizaron según se describe en Material y Métodos.

T A B L A I I I

REDUCCION DEL NITRATO DE PLATA POR LA L-DOPA Y LA METIL-DOPA.

ADICION	GRADO DE REACCION
Ninguna	Negativa
L-Dopa	Positiva
Metildopa	Positiva

Las pruebas se realizaron añadiendo 0'5 ml de la solución de L-Dopa (100 mg/100 ml) y de Metildopa (100 mg/100 ml) respectivamente, a la mezcla de reacción. Las -- pruebas se realizaron según se describe en Material y Mé todos.

T A B L A IV

REACCION DE LA L-DOPA FRENTE AL ACIDO PICRICO

ADICION	ABSORBANCIA (510 nm)
Ninguna	0,041
L-Dopa	0,273
L-Dopa 1/2	0,230
L-Dopa 1/10	0,161

El experimento se realizó añadiendo 0,5 ml de L-Dopa (100 mg/100 ml), a las diluciones acuosas indicadas, a la mezcla de reacción. La prueba se realizó según se describe en Material y Métodos.

T A B L A V

REACCION DE LA METILDOPA FRENTE AL ACIDO PICRICO

ADICION	ABSORBANCIA (510 nm)
Ninguna	0,041
Metildopa	0,299
Metildopa 1/2	0,253
Metildopa 1/10	0,098

El experimento se realizó añadiendo 0,5 ml de Metildopa (100 mg/100 ml), a las diluciones acuosas indicadas, a la mezcla de reacción. La prueba se realizó según se describe en Material y Métodos.

T A B L A VI

INTERFERENCIA DE LA L-DOPA EN LA DETERMINACION DE COLESTEROL POR EL METODO ENZIMATICO "CHOD-PAP"

ADICION	ABSORBANCIA (500 nm)	CONCENTRACION (mg/100 ml)
Ninguna	0,179	200 mg
L-Dopa	0,085	94,97 mg
L-Dopa 1/2	0,108	120,67 mg
L-Dopa 1/10	0,117	130,72 mg

El experimento se realizó añadiendo 0,02 ml de L-Dopa (100 mg/100 ml), a las diluciones acuosas indicadas, a la mezcla de reacción. La determinación de colesterol se ha realizado según se describe en Material y Métodos.

T A B L A VII

INTERFERENCIA DE LA METILDOPA EN LA DETERMINACION DE CO-
LESTEROL POR EL METODO ENZIMATICO "CHOD-PAP"

ADICION	ABSORBANCIA (500 nm)	CONCENTRACION (mg/100 ml)
Ninguna	0,156	200 mg
Metildopa	0,064	82'05 mg
Metildopa 1/2	0,080	102'56 mg
Metildopa 1/10	0,126	161'53 mg

El experimento se realizó añadiendo 0,02 ml de Metil-
dopa (100 mg/100 ml), a las diluciones acuosas indicadas,
a la mezcla de reacción. La determinación de colesterol-
se ha realizado según se describe en Material y Métodos.

T A B L A VIII

INTERFERENCIA DELA L-DOPA EN LA DETERMINACION DE CREATINI

NA.

ADICION	ABSORBANCIA (510 nm)	CONCENTRACION (mg/100 ml)
Ninguna	0'163	10 mg
L-Dopa	0'399	24,48 mg
L-Dopa 1/2	0,373	22,88 mg
L-Dopa 1/10	0,260	15,95 mg

El experimento se realizó añadiendo 0,1 ml de L-Dopa (100 mg/100 ml), a las diluciones acuosas indicadas, a la mezcla de reacción. La determinación de creatinina se ha realizado según se describe en Material y Métodos.

T A B L A IX

INTERFERENCIA DE LA METILDOPA EN LA DETERMINACIÓN DE
CREATININA.

ADICION	ABSORBANCIA (510 nm)	CONCENTRACION (mg/100 ml)
Ninguna	0,163	10 mg
Metildopa	0,654	40,12 mg
Metildopa 1/2	0,261	16,01 mg
Metildopa 1/10	0,202	12,39 mg

El experimento se realizó añadiendo 0,1 ml de Metildopa (100 mg/100 ml), a las diluciones acuosas indicadas, a la mezcla de reacción. La determinación de creatinina se ha realizado según se describe en Material y Métodos.

T A B L A X

INTERFERENCIA DELA L-DOPA EN LA DETERMINACION DE GLUCOSA
POR EL METODO ENZIMATICO DE LA GLUCOSA OXIDASA

ADICION	ABSORBANCIA (510 nm)	CONCENTRACION (mg/100 ml)
Ninguna	0,237	100 mg
L-Dopa	0,075	31,64 mg
L-Dopa 1/2	0,072	30,37 mg
L-Dopa 1/10	0,151	63,71 mg

El experimento se realizó añadiendo 0,02 ml de L-Dopa (100 mg/100 ml), a las diluciones acuosas indicadas, a la mezcla de reacción. La determinación de glucosa se ha realizado según se describe en Material y Métodos.

T A B L A X I

INTERFERENCIA DE LA METILDOPA EN LA DETERMINACION DE
GLUCOSA POR EL METODO ENZIMATICO DE LA GLUCOSA OXIDA
SA.

ADICION	ABSORBANCIA (510 nm)	CONCENTRACION (mg/100 ml)
Ninguna	0,236	100 mg
Metildopa	0,072	30,50 mg
Metildopa 1/2	0,088	37,28 mg
Metildopa 1/10	0,115	48,72 mg

El experimento se realizó añadiendo 0,02 ml de Metildopa (100 mg/100 ml), a las diluciones acuosas indicadas, a la mezcla de reacción. La determinación de glucosa se ha realizado según se describe en Material y Métodos.

T A B L A XII

INTERFERENCIA DE LA L-DOPA EN LA DETERMINACION DE PROTEI
NAS TOTALES POR EL METODO DEL BIURET

ADICION	ABSORBANCIA (540 nm)	CONCENTRACION (g/dl)
Ninguna	0,249	7,2 g
L-Dopa	0,338	9,77 g
L-Dopa 1/2	0,312	9,28 g
L-Dopa 1/10	0,284	8,21 g

El experimento se realizó añadiendo 0,1 ml de L-Dopa (100 mg/100 ml), a las diluciones acuosas indicadas, a la mezcla de reacción. La determinación de proteínas totales se ha realizado según se describe en Material y Métodos.

T A B L A XIII

INTERFERENCIA DE LA METILDOPA EN LA DETERMINACION DE PROTEINAS TOTALES POR EL METODO DEL BIURET

ADICION	ABSORBANCIA (540 nm)	CONCENTRACION (g/dl)
Ninguna	0,249	7,2 g
Metildopa	0,331	9,57 g
Metildopa 1/2	0,302	8,73 g
Metildopa 1/10	0,278	8,04 g

El experimento se realizó añadiendo 0,1 ml de Metildopa (100 mg/100 ml), a las diluciones acuosas indicadas, a la mezcla de reacción. La determinación de proteínas - totales se ha realizado según se describe en Material y Métodos.

T A B L A XIV

INTERFERENCIA DE LA L-DOPA EN LA DETERMINACION DE ACIDO URICO POR EL METODO ENZIMATICO "URICA-QUANT"

ADICION	ABSORBANCIA (410 nm)	CONCENTRACION (mg/100 ml)
Ninguna	0,223	6 mg
L-Dopa	0,394	10,60 mg
L-Dopa 1/2	0,313	8,42 mg
L-Dopa 1/10	0,249	6,70 mg

El experimento se realizó añadiendo 0,5 ml de L-Dopa (100 mg/100 ml), a las diluciones acuosas indicadas, a la mezcla de reacción. La determinación de ácido úrico se ha realizado según se describe en Material y Métodos.

T A B L A XV

INTERFERENCIA DE LA METILDOPA EN LA DETERMINACION DE
ACIDO URICO POR EL METODO ENZIMATICO "URICA-QUANT"

ADICION	ABSORBANCIA (410 nm)	CONCENTRACION (mg/100 ml)
Ninguna	0,223	6 mg
Metildopa	0,364	9,79 mg
Metildopa 1/2	0,315	8,47 mg
Metildopa 1/10	0,250	6,72 mg

El experimento se realizó añadiendo 0,5 ml de Metildopa (100 mg/100 ml), a las diluciones acuosas indicadas, a la mezcla de reacción. La determinación de ácido úrico se ha realizado según se describe en Material y Métodos.

T A B L A XVI

REDUCCION DEL CROMOGENO DE LA DETERMINACION DE ACIDO URICO POR EL METODO ENZIMATICO POR LA L-DOPA Y METILDOPA

ADICION	GRADO DE REACCION
Ninguna	Negativa
L-Dopa	Positiva
Metildopa	Positiva

Las pruebas se realizaron añadiendo 2 ml de las soluciones de L-Dopa (100 mg/100 ml) y de Metildopa (100 mg/100 ml) respectivamente, a la solución del cromógeno en medio amoniacal.

T A B L A XVII

INTERFERENCIA DE LA L-DOPA EN LA DETERMINACION DE ACIDO

URICO POR EL METODO DEL FOSFOTUNGSTATO

ADICION	ABSORBANCIA (680 nm)	CONCENTRACION (mg/100 ml)
Ninguna	0,253	6 mg
L-Dopa 1/5	1,610	38,18 mg
L-Dopa 1/10	0,835	19,80 mg
L-Dopa 1/20	0,596	14,13 mg

El experimento se realizó añadiendo 0,2 ml de L-Dopa (100 mg/100 ml), a las diluciones acuosas indicadas, a la mezcla de reacción. La determinación de ácido úrico se ha realizado según se describe en Material y Métodos.

T A B L A XVIII

INTERFERENCIA DE LA METILDOPA EN LA DETERMINACION DE ACIDO URICO POR EL METODO DEL FOSFOTUNGSTATO

ADICION	ABSORBANCIA (680 nm)	CONCENTRACION (mg/100 ml)
Ninguna	0,253	6 mg
Metildopa 1/5	1,428	33,86 mg
Metildopa 1/10	0,950	22,53 mg
Metildopa 1/20	0,735	17,43 mg

El experimento se realizó añadiendo 0,2 ml de Metildopa (100 mg/100 ml), a las diluciones acuosas indicadas, a la mezcla de reacción. La determinación de ácido úrico se ha realizado según se describe en Material y Métodos.

R E S U L T A D O S

=====

En las tablas I y II podemos ver el resultado de la acción de estos fármacos sobre las sales de cobre (II). Así comprobamos que las tres pruebas, Reacción de Fehling, Reacción de Pasteur y Reacción de Benedict, cuyo fundamento es la reducción de las sales de cobre (II) por agentes reductores, resultan positivas. En efecto, en las tres pruebas realizadas, el color azul de los reactivos se vuelve marrón-rojizo, apareciendo a la vez un precipitado, lo que indica que las pruebas son positivas.

La tabla III muestra el resultado de la reducción del nitrato de plata por estos fármacos. Así, mientras que la reacción es negativa al añadir agua, al añadir las soluciones de L-Dopa o de Metildopa a la mezcla de reacción, el medio que estaba incoloro se vuelve negro. Esto indica que dichos fármacos producen una reacción positiva.

En las tablas IV y V aparecen los resultados de la reacción entre un oxidante como es el ácido pícrico y estos fármacos. Podemos apreciar el fuerte incremento de la absorbancia cuando en el medio de reacción están presente dichos fármacos. También se puede apreciar que este aumento de la absorbancia es mayor cuanto más concen-

trados se encuentren estos fármacos.

La fuerte inhibición que producen estos fármacos en el método de determinación de colesterol por el método enzimático "CHOD-PAP", aparecen en las tablas VI y VII.- Como se puede apreciar la inhibición es menor cuanto mas diluída sea la solución del fármaco.

La interferencia producida por estos fármacos en la determinación de creatinina se pueden apreciar en las tablas VIII y IX. La interferencia en este caso es por exceso es decir los valores de absorbancia en relación con el control, al cual no se le añade fármaco. Igualmente los valores de la absorbancia están tanto más aumentados cuanto más concentrado esté el fármaco problema.

En las tablas X y XI podemos ver la interferencia que producen la L-Dopa y la Metildopa en la prueba de determinación de glucosa por el método enzimático de la "glucosa oxidasa". En este caso ambos fármacos vuelven a producir una fuerte inhibición, pudiendo apreciar las concentraciones tan bajas que aparecen de glucosa. La inhibición es menor cuanto más diluído se encuentre el fármaco.

En las tablas XII y XIII se pone de manifiesto la interferencia que se produce en la determinación de proteínas totales por el método del Biuret, cuando se encuentran estos fármacos en el medio de reacción. En este ca-

so la interferencia es de tipo positiva, es decir aparecen valores aumentados en la concentración de proteínas-totales. Asimismo, los valores mas altos corresponden a aquellas muestras en las que se le añadió el fármaco más concentrado.

En las tablas XIV y XV podemos apreciar la interferencia de la L-Dopa y Metildopa en la determinación de ácido úrico por el método enzimático "Urica-quant". Los valores de ácido úrico aparecen incrementados y éstos son mayores a medida que aumenta la concentración del fármaco en la muestra.

La tabla XVI muestra el resultado de la reducción del cromógeno (acetilacetona) de la prueba del ácido úrico por el método enzimático "Urica-quant", por estos fármacos. En efecto, estos fármacos reducen a la acetilacetona tomando el medio de reacción un color amarillo oscuro, lo cual hace que los valores de ácido úrico determinados por este método esten aumentados.

Los resultados de la determinación de ácido úrico por un método colorimétrico, exactamente por el método de reducción del fosfotungstato, aparecen en las tablas XVII y XVIII. Aparece una fuerte interferencia de tipo positivo, con unas concentraciones muy elevadas a pesar de haber diluído mucho las muestras de las soluciones de los fármacos. La interferencia es mayor cuanto más concentrado esté el fármaco.

DISCUSSION

DISCUSION

=====

Una vez comprobadas las pruebas analíticas clínicas que se ven afectadas por la presencia de L-Dopa o Metildopa en el medio de reacción, trataremos de explicar el mecanismo por el cual estos fármacos interfieren en dichas pruebas analíticas, inhibiendo o incrementando los valores.

En las tablas I y II se obse~~g~~van los resultados positivos que dan estos fármacos, frente a las reacciones basadas en la reducción de las sales de cobre (II), como son la Reacción de Fehling, Reacción de Pasteur y la Reacción de Benedict. El color marrón-rojizo y la presencia del precipitado hace pensar que se ha producido una reacción redox en la que el cobre (II) pasa a cobre (I). Para que se de esta reacción es necesaria la presencia en el medio de agentes reductores, lo cual hace pensar que dichos fármacos tendrán carácter reductor. Además el grado de intensidad del color nos demuestra que son fuertemente reductores.

En la tabla III también podemos apreciar el carácter reductor de estos fármacos, ya que la prueba de reducción

del nitrato de plata nos da positiva. Las soluciones toman un color negro lo cual es señal inequívoca de que es tos fármacos reducen la plata (I) a plata metálica. Esta reacción se realizó frente a una prueba en blanco, a la cual solo se le añade agua. En este caso la reacción no toma el color negro que se produce cuando uno de los fármacos es añadido al medio.

Al enfrentar los fármacos frente a un oxidante como es el ácido pícrico, obtenemos los resultados que aparecen en las tablas IV y V. En este caso la interferencia es de tipo positivo debido a un oscurecimiento del color del medio de reacción. Esto es debido a la reacción re- dox que se produce entre el oxidante y los supuestos fármacos reductores, lo que nos confirmaría las sospechas del carácter reductor de estas sustancias, obtenidas des púés de realizar las pruebas cualitativas.

En las tablas VI y VII encontramos una inhibición de los valores de la determinación de colesterol por el método enzimático "CHOD-PAP", Si observamos las reacciones en las cuales se basa la determinación de colesterol por este método, podemos observar dos reacciones de tipo re- dox. La primera es una oxidación del colesterol en la cu al se produce agua oxigenada que reacciona con el cro mógeno para dar el compuesto coloreado. Se podría pensar que estos fármacos al ser reductores, podrían interferir en esta reacción, disminuyendo la cantidad de agua oxige

nada que se pudiera formar. La segunda reacción de tipo-redox es aquella en la que el agua oxigenada se reduce, oxidándose a la vez el cromógeno y produciéndose el color. La interferencia en esta reacción se produciría al competir por el agua oxigenada tanto los fármacos como el cromógeno, por lo tanto la cantidad del compuesto coloreado que se formará será menor.

Ambas posibilidades traen como consecuencia una disminución de agua oxigenada o un bloqueo de esta, de tal forma que la cantidad del compuesto coloreado formado es menor y por tanto las concentraciones de colesterol resultan muy bajas.

Los resultados que aparecen en las tablas VIII y IX ponen de manifiesto la interferencia que producen estos fármacos en la determinación de creatinina. Los resultados aparecen incrementados por un oscurecimiento de la mezcla de reacción. Esto es debido, a que al ser el reactivo de esta prueba el ácido pícrico, pensamos que se produce la reacción redox entre este oxidante y los supuestos fármacos reductores, como ya describíamos en la discusión de las tablas IV y V. (48).

Los resultados de la interferencia de la L-Dopa y de la Metildopa en la determinación de glucosa por el método enzimático de la "glucosa oxidasa", se presentan en las tablas X y XI. Como se puede observar aparece una inhibición de los resultados de la concentración de gluco-

sa con formación de ácido glucónico y agua oxigenada. Esta agua oxigenada es necesaria para la oxidación del cromógeno y por tanto para la formación del compuesto coloreado. Al ser estos fármacos reductores, podríamos pensar que interferirían en esta reacción, por tanto la cantidad de agua oxigenada sería menor e igualmente sería menor la cantidad del compuesto coloreado.

La segunda reacción es la reducción del agua oxigenada, oxidándose a la vez el cromógeno y produciéndose así el compuesto coloreado. También aquí podríamos pensar -- que interferirían estos fármacos, compitiendo éstos con el cromógeno por el agua oxigenada, por tanto se produciría una inhibición del desarrollo del color.

Sea por una causa, por otra o por ambas a la vez, el resultado es una inhibición del color y por tanto una -- disminución en los valores de colesterol.

Las tablas XII y XIII nos presentan los resultados -- de la interferencia de estos fármacos en la determinación de proteínas totales por el método del Biuret. Los valores de proteínas totales están aumentados cuando en el -- medio se encuentran la L-Dopa o la Metildopa. Este hecho se podría atribuir a que estos fármacos reducirían las -- sales de cobre (II) del reactivo del Biuret en el medio alcalino en que se encuentran. Esta reacción redox hace -- oscurecer el color de la reacción y por tanto, ahora la -- intensidad del color ya no será proporcional a la canti-

dad de proteínas totales presentes en la muestra.

Los resultados de la interferencia de estos fármacos en la determinación de ácido úrico por el método enzimático "Urica-quant", aparecen en las tablas XIV y XV. En este caso la interferencia es de tipo positiva en contra de lo que esperábamos, ya que al basarse la determinación en una oxidación del ácido úrico y después en una reducción del agua oxigenada, pensamos que al ser reductores interferirían en estas reacciones compitiendo por el agua oxigenada tanto el metanol como estos fármacos, como ya ocurría en las determinaciones de glucosa y colesterol, y se produciría menor cantidad de formaldehído que es el que reaccionaría con el cromógeno para formarse el color. Por tanto, la intensidad del color sería menor.

Sin embargo, como hemos dicho anteriormente la intensidad del color aumenta y se producen valores más altos de ácido úrico. Tratando de averiguar que era lo que ocurría, enfrentamos ambos fármacos con el cromógeno para ver si la interferencia de tipo positivo se producía en la última reacción. En efecto, el resultado fue la aparición de un color amarillo oscuro que es el que hace oscurecer el color en las determinaciones de ácido úrico. Los resultados de esta prueba los encontramos en la tabla XVI.

Por tanto lo que ocurre es que al ser estos fármacos

reductores compiten por el cromógeno con el formaldehído, y así existe una mayor concentración del cromógeno y por tanto una mayor intensidad de color, lo que produce altos valores de ácido úrico.

En las tablas XVII y XVIII podemos observar la fuerte interferencia que producen estos fármacos en la determinación de ácido úrico por este método colorimétrico de reducción del fosfotungstato. Como se puede observar los valores de ácido úrico se encuentran muy elevados a pesar de encontrarse muy diluídas las muestras de los fármacos.

La explicación que se le puede dar es que al ser estos fármacos reductores, el fosfotungstato además de ser reducido por el ácido úrico, será reducido también por estos fármacos, por lo tanto la concentración del cromógeno reducido será muy elevada y el color muy intenso. Esto dará lugar a concentraciones muy elevadas de ácido úrico.

CONCLUSIONES

C O N C L U S I O N E S

=====

De los resultados expuestos en el presente trabajo, se puede concluir:

- 1º - La L-Dopa y Metildopa interfieren en los ensayos -- in vitro de diversas pruebas de laboratorio, entre ellas las determinaciones de glucosa (método de la "glúc^osa oxidasa"), proteínas totales (método del "Biuret"), creatinina (método del "picrato alcali--no"), ácido úrico (métodos de la "uricasa" y "fosfo tungstato"), colesterol (método "enzimático), etc.

- 2º - Tanto la L-Dopa como la Metildopa se comportan como agentes reductores potentes frente a diversos com--puestos oxidantes (Plata (II), Cobre (II), Acido Pí--crico, etc.)

- 3º - En todas las pruebas ensayadas participa una reac--ción redox. En la prueba del "Biuret", por la acción de los fármacos, se produce la reducción química -- del Cu (II).

- 4º - De todo lo anteriormente estudiado y analizado, lle--gamos a la conclusión de que el mecanismo físico--

químico de interferencia de estos fármacos es de --
tipo redox.

B I B L I O G R A F I A

B I B L I O G R A F I A

- (1) Wendell, T., Caraway, W.T. y Kammeyer, C.W.: Clin. Chim. Acta, 41, 395, (1972).
- (2) Caraway, W.T.: Amer. J. Clin. Pathol., 37, 445, (1962).
- (3) Martin, E.W.: En "Hazards of Medication", Lippincot, Philadelphia. (1.978).
- (4) Singh, H.P., Hebert, M.A. y Gault, M.H.: Clin.Chim. Acta, 18, 137, (1.972).
- (5) Folin, O. y Denis, W.J: Biol. Chem., 12, 239, (1.912).
- (6) Stefanini, M y Hetherington, E.N.: JAMA, 220, 1247, (1.972).
- (7) Parkes, J.D. y col: Lancet, 2, 1341, (1.970).
- (8) Anon,: JAMA, 218, 1127, (1.971)
- (9) Henry, R.E. y col: Vox Sang, 20, 307, (1.971).
- (10) Joseph, C.: New. Engl. J. Med., 286, 1401, (1.972).
- (11) Clark, L.S.: Am. J. Med. Tech., 38, 9, (1.972).
- (12) Sapira, J.D., Claniecki, T. y Ratkin, G.: J. Ameri. Med. Assoc, 212, 2243, (1.970).
- (13) Hinterberger, H., Andrews, C.J.: Arch. Neurol., 26,

245, (1.972).

(14) Sirtori, C.R. y col: New.Engl. J. Med., 287, 729,
(1.972).

(15) Cotzias, G.C. y col: New. Engl. J.Med., 276,374,
(1.967)

(16) Anónimo: Medical letter, 13, 82, (1971).

(17) Wolcott, G.J. y Hackett, T.N.: Lancet, 2, 1201,
(1969).

(18) Dawson, W.L.: New. Engl. J. Med., 283, 264, (1970)

(19) Cawein, M.J. y col: New. Engl. J.Med., 283,659,
(1.970).

(20) Feldman, J.M., y Lebovitz, H.F.: New. Engl. J. Med.
283, 1053, (1.970).

(21) Feldman, J.M., Kelly, W.N. y Lebovitz, H.E.: Diabe
tes, 19, 337, (1.970).

(22) Ama Council en Drugs: AMA 535, North Dearborn St.
Chicago, ill 60610.

(23) Huff, B.: Medical economics inc. Oradell NJ (1972).

(24) Messiha, F.S. Knopp, M.: Chin. Pharmacol. Ther.,14,
565, (1.973).

(25) Pasley, D.H., y col: Clin. Chem.,19, 263, (1973)

- (26) Cawein, M.J., Hewins, J.: New. Engl. J. Med., 281, 1489, (1.969).
- (27) Jonas, S.: New. Engl. J. Med., 285, 1488,(1971).
- (28) Calne, D.B. y col: Br. J. Pharmacol., 37, 57,(1969).
- (29) Anon,: New drugs 3rd Ed., Council on drugs of the American Medical Association, Chicago, Illinois,- 252, (1967).
- (30) Hurt, R.: Amer. J. Med. Technol., 26, 122, (1960).
- (31) Mardh, P.A. y col: Acta Med. Scand,, 195, 33,(1974).
- (32) Hunter, E., Raik, E., Gordon, S., y Taylor, K.B.: Med. J. Aust, 2, 810, (1.971).
- (33) Coull, D.C. y col: Eur, J. Clin. Pharmacol., 3, 46, (1970).
- (34) Lubbers, P.: Dtsch. Med. Wochenschr, 93, 2489,(1968).
- (35) Spence, J.M. y Gitlin, N.: S.Afr. Med. J., 47,195, (1973)
- (36) Elkington, S.G., y col: Circulación, 40, 589,(1969).
- (37) Paton, A.: Brit. Med. J., 2, 116, (1969).
- (38) Zarday, Z.: New York J. Med., 67, 1897, (1967).
- (39) Hingerty, D.: Lancet, 1, 766, (1957).

- (40) Gifford, R.W.: Tweed, D.C.: JAMA, 182, 493, (1962)
- (41) Cardewll, J.B.: Lancet, 2, 326, (1969).
- (42) Bevan, J.A. y col: en "Fundamentos de Farmacología", Harla, Buenos Aires, (1978).
- (43) Wirth, W.A., Thompson, R.L.: Amer J Clin Pathol, 43, 579, (1965).
- (44) Davis, R.B.: Metabolism, 10, 1035, (1961).
- (45) Amery, A. y Conway, J.: Am Heart J, 73, 129, (1967).
- (46) Tyce, G.M., Sheps, S.G. y Flook, E.V.: Proc Staff Meetings Mayo Clinic, 38, 571, (1963).
- (47) Schwartz, M.K.: Mem Sloan-Kettering Clin Bull, 1, 11, (1971).
- (48) VI Congreso de la SEB, Resúmenes, (1975).