

OROMAR MOREIRA

# GLYCOSE NO SANGUE

THESE DE LIVRE DOCENCIA

GRAPHICA QUEIROZ BREYNER LTDA.

BELLO HORIZONTE

1 9 3 6

OROMAR MOREIRA

Ass. de Chim. Physiologica, Encar-  
reg. no Lab. de Pesquisas Clínicas  
da Faculdade de Medicina da U.  
M. G. — Ass. de Chim. Biolog. do  
Instituto de Radium de M. Geraes.

# GLYCOSE NO SANGUE

TRABALHO DO LABORATORIO DE CHIMICA PHYSIOLOGICA

THESE DE LIVRE DOCENCIA

Apresentada á Faculdade de Medicina da Universidade  
de Minas Geraes

GRAPHICA QUEIROZ BREYNER LTDA.

BELLO HORIZONTE

1 9 3 6



*Ao professor Baeta Vianna, exemplo vivo de intelligencia e trabalho, cujos ensinamentos tivemos a felicidade de receber, dedicamos, com a nossa especial gratidão, esta pequena homenagem.*

## SUMMARIO

Prefacio . . . . .	Fags. 7
--------------------	---------

### 1.<sup>a</sup> PARTE

Historico . . . . .	9
Natureza da glycese . . . . .	11
Glycemia normal . . . . .	15
Variações da glycemia . . . . .	19
Glycese nos globulos e no plasma . . . . .	23
Glycese no sangue arterial e venoso . . . . .	25
Origem da glycese . . . . .	27
Principaes processos de dosagem de glycese . . . . .	29
Desproteïnisação do sangue . . . . .	35
Substancias reductoras não fermentesciveis do sangue . . . . .	37

### 2.<sup>a</sup> PARTE

Determinação da glycemia em individuos normaes . . . . .	43
Determinação da glycemia em diabeticos . . . . .	59
Dosagem das subst. reductoras não fermentesciveis . . . . .	61
Emprego da balança de torção . . . . .	65
Conservação do sangue em papel . . . . .	69
Applicação do Somogyi á defecação urinaria . . . . .	73
Conclusões . . . . .	79
Bibliographia . . . . .	81



*A importancia da chimica physiologica cresce de dia para dia a ponto de não se poder mais, na pratica moderna da medicina prescindir de sua contribuição valiosissima.*

*A composição chimica dos tecidos do organismo é intensamente variavel nas diversas condições pathologicas.*

*E taes variações podem, em um grande numero de vezes, ser de tal ordem que se tornam facilmente evidenciadas pelos nossos processos actuaes de investigação.*

*Outras vezes passam desapercibidas.*

*A chimica physiologica, para poder demonstrar o mecanismo intimo das reacções normaes ou pathologicas que se processam no ser vivo, tem de lançar mão, a cada instante, de meios de determinação realisaveis com quantidades minimas de material.*

*Desta necessidade imperiosa nasceu e se desenvolve a microchimica.*

*Com o presente trabalho temos a intenção de mostrar o aperfeiçoamento a que chegaram até á época actual taes micromethodos.*

*Estudamol-os na determinação da glycose sanguinea, assumpto que tem sido explorado intensamente desde o fim do seculo passado, mas que está sempre na ordem do dia.*

---

*A todos os collegas, medicos e estudantes de medicina, que com a maior bôa vontade, cooperaram na realisação de nossas pesquisas, fornecendo o material para ser estudado, apresentamos os nossos agradecimentos.*

BELLO HORIZONTE, MARÇO DE 1936.

OROMAR MOREIRA

## I

### HISTORICO

No seculo passado, sómente, é que começou a ser feito o estudo da glycose no sangue.

Wollaston, em 1811, foi o primeiro a mostrar, no sangue de um diabetico, uma quantidade de assucar cerca de trinta vezes menor do que a existente na urina do mesmo individuo.

Ambroziani, pharmaceutico italiano, dez annos depois, conseguiu extrair, do sangue de um diabetico, varios crystaes semelhantes aos da glycose. Estes, quando dissolvidos em agua, soffriam, sob a acção do levedo de cerveja, a fermentação alcoolica.

Lepine, (1) cita, entretanto, como sendo Dobson, medico inglês, que, em 1775, com o pharmaceutico Pool, tendo separado, da urina de um cliente seu varias onças de uma substancia assucarada, se lembrou de provar o sangue do mesmo paciente e o sentiu com sabor adocicado.

Este facto, pelo grande numero de objecções de que é passivel, pode ser apenas citado, mas não considerado.

Em 1848, Claude Bernard encontra assucar no figado



de cão alimentado exclusivamente de carne. Fica assim negada, pois, a idéa reinante da época de que o assucar encontrado no sangue e em outros humores do organismo só provinha de uma fonte: a alimentação hydrocarbonada.

Trabalhos numerosos e orientados num plano de experimentação mais segura datam d'ahi.

Claude Berenard tinha, a principio, uma idéa falsa a este despeito. Suppunha elle que o assucar sahia do figado, onde era fabricado. Levado pelas vias suprahepaticas até aos pulmões era ahi completamente destruido, não passando para a grande circulação sinão traços do mesmo.

Tão imbuído estava desta idéa que se limitou a responder apenas com a affirmação de que eram inexactos os resultados dos trabalhos de Figuier, que levavam a conclusão contraria.

Corrige-se deste erro, entretanto, depois que Chauveau mostra que o sangue arterial é muito mais rico em glycose do que o venoso. E, elle mesmo é o primeiro a mostrar que o sangue da grande circulação, quando retirado dos vasos, soffria, in vitro, uma diminuição da sua porcentagem em glycose. Este phenomeno, mais tarde, (1890) estudado por Lepine e Barral, foi denominado glycolyse.

A Claude Bernard tambem coube o merito de mostrar a influencia do systema nervoso sobre a glycemia com a sua celebre picada no assoalho do 4.º ventriculo e consequente glycosura.

Schützenberger, Pavy e Mörner foram os pioneiros no demonstrar a formação de glycose á custa de substancias outras que não hydratos de carbono.

De inicio eram as determinações todas feitas pela fermentação, processo este muito inseguro. Seguiram os processos de redução titulimetricos ou não, que necessitavam grande quantidade de sangue (15 a 25 cc).

Bang (2) foi o introductor das microdosagens em chimica. O seu processo de dosagem de glycose, utilizando-se da balança de torção, podia ser realizado com 0,1 cc. apenas de material .

E hoje dispomos de processos seguros que permitem a dosagem em quantidade inferior a 0,1 de cc.



II

NATUREZA DA GLYCOSE

A glycose, tambem chamada assucar de uva ou dextrose, está muito espalhada na natureza.

Foi pela primeira vez isolada do mel por Lowitz, em 1772.

O seu estudo, todavia, toma uma feição nova e um grande impulso com Fischer da escola allemã, em fins do seculo passado, e, em nossos dias, com os inglezes e norte-americanos.

Desde ha muito admittia-se que glycose podia ser reduzida a hexana normal, que encerrava 5 radicaes alcoolicos e que apresentava varios caractéres da funcção aldehydica.

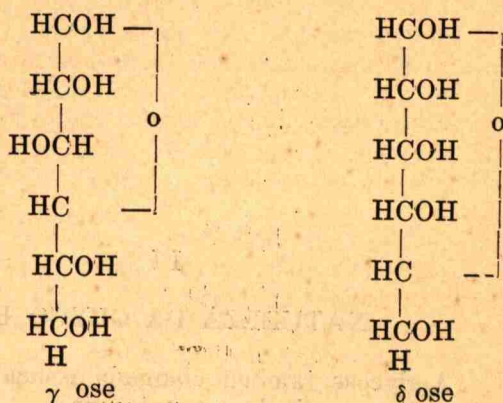
Sua formula, então, em cadeia linear era tida como a seguinte:





Condições, entretanto, foram observadas em que nem sempre todas reacções da função aldehydica podiam ser realizadas.

Então mostrou Fischer a ligação oxydica do radical aldehydico, com desaparecimento da função carbonyla e conseqüente estabelecimento da estrutura cyclica.



A ligação pode ser amylenica ou  $\gamma$  e butylenica ou

—  $\delta$

Esta formula mostra 5 átomos de carbono assymetricos e, de accordo com a lei de vant't Hoff, podem-se estabelecer 32 ismeros.

D'estes, uns são ditos derivar do aldehydo dextro-glycerico e são chamados dextros ou d; outros derivados do aldehydo levo-glycerico, são os levo ou simplesmente l.

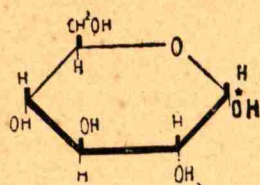
Em uma solução aquosa, recente, de glycose o poder da rotação especifica é de + 111°.

Com o tempo esta rotação cahe para + 52°. Explica se isto com o apparecimento de uma segunda variedade de glycose. Esta, com um poder de rotação especifica de + 19° mantem com a primeira o equilibrio do poder de rotação em +52,5°

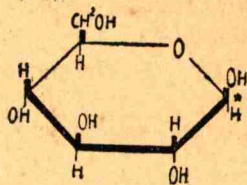
São as variedades  $\alpha$  e  $\beta$  da glycose.

A semelhança das formulas  $\gamma$  e  $\delta$  de Fischer com a furana e a pyrana levaram Howarth, em 1927 a denominar-as glycofuranose e glycopyranose.

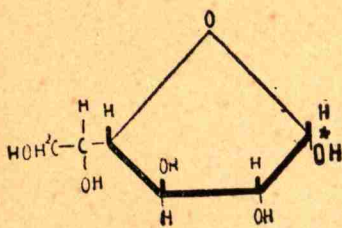
As formulas abaixo mostram taes estruturas:



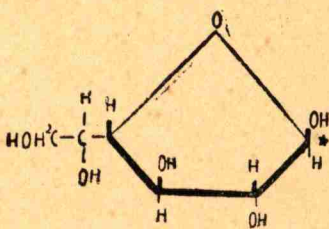
$\alpha$  glycopyranose



$\beta$  glycopyranose



$\alpha$  glycofuranose



$\beta$  glycofuranose

Vê-se por ahi que as furanoses correspondem ás  $\gamma$  oses de Fischer e as glycopyranoses, ás  $\delta$  oses.  
As glycofuranoses, por sua instabilidade, se differenciam das glycopyranoses.

Estas variedades da glycose, diferentes em estabilidade, levaram á concepção de idéas muito interessantes a respeito da natureza da diabetes.

Clark foi o primeiro a observar que a glycose do sangue diminuia em poder rotatorio, quando este passava pelo pancreas.

Lundsgaard e Holboell verificaram tambem que a insulina baixa o poder rotatorio da  $\alpha$  d. glycose, sem influenciar sobre o poder reductor. Encontraram ainda que o sangue do diabetico contem e esta, que o sangue dos individuos normaes encerra uma variedade mais instavel e de poder rotatorio muito mais baixo.



### III

#### GLYCEMIA NORMAL

A glycese tem no organismo uma funcção importantissima — é por intermedio della que é fornecida aos animaes quasi toda a energia calorifica necessaria á actividade vital.

A energia cosmica, captada dos raios solares pela funcção chlorophiliana nos vegetaes e, armazenada sob a forma de hydratos de carbono, é introduzida no organismo animal com a alimentação.

Desdobrados em glycese estes hydratos de carbono, vão ser, por intermedio do meio interno, o sangue, distribuidos a todas as cellulas.

O consumo de energia pelo organismo não é uniforme. — A remoção da glycese do sangue para o interior dos tecidos torna-se então irregular.

Embora exista um mechanismo glyco-regulador que faz com que novo assucar seja lançado á corrente circulatoria, a medida que este é retirado da mesma, um tal mechanismo não impede que se observem constantemente pequenas oscillações da glycemia.

Estas ocillações foram estudadas sobretudo por Han-



sen, em 1923, que fez dosagens da glycese no sangue de 5 em 5 minutos. Elle denominou-as "sugar waves" e explicou assim porque não se obtinham os mesmos resultados no sangue do mesmo individuo colhido em dias diferentes, mas examinado nas mesmas condições.

Otto Nielson (3), em 1928, mostrou ainda que, si determinações fossem feitas da glycemia em jejum, em intervallos de 5 minutos e registradas em um graphico, os valores encontrados oscillariam em redor de uma media que seria representada por uma linha horizontal.

Esta orientação seria descendente nos diabeticos tratados com dieta apenas e ascendente nos que estivessem submetidos á therapeutica insulinica.

A glycemia é a resultante de factores que actuam constantemente em sentido contrario: um tendente a forçar a entrada para o sangue do assucar que o individuo ingeriu — outro procurando remover tal substancia para o interior dos tecidos.

O instante em que acção destes dois factores está mais equilibrada é no de repouso e jejum.

E é nestas condições, ordniariamente, que determinamos a glycemia.

Do que foi dito resulta que nós não podemos marcarla com um numero unico, mas sim com uma zona de variação normal.

Os numeros fornecidos pelos diversos auctores para delimitar esta zona de variação normal oscillam extensamente.

E esta oscillação se explica facilmente pelos motivos physiologicos já assinalados e pela diversidade de processos usados.

De um modo geral os processos colorimetricos dão resultados mais elevados do que os titulimetricos. Mostremos aqui alguns exemplos dos processos mais communs:

Colorimetricos	{	Lewis-Benedict . . . . .	96 — 125 mg%
		Folin . . . . .	80 — 110 mg%
		Folin-Wu . . . . .	80 — 120 mg%
Titulimetricos	{	Schaffer-Hartmann . . . . .	85 — 125 mg%
		Hagedorn-Jensen . . . . .	90 — 110 mg%
		Bertrand . . . . .	70 — 110 mg%

A razão desta differença se explica:

1º) Desproteïnização: os processos usados para retirar as proteínas do sangue são, na maioria, incapazes de retirar também todas as substancias reductoras que não glycese.



2.º) A maior ou menor especificidade de redução do processo permite variações mais ou menos amplas.

O aumento da concentração da glycose no sangue não guarda proporção fixa com a quantidade ingerida da mesma.

Algumas condições influem para que assim aconteça:

A) Absorção intestinal:

Esta varia muito em velocidade — De regra toda a glycose que se ingere é absorvida — A função glycogenetica do figado, armazenando o assucar ingerido, procura evitar pelo menos um aumento exaggerado do mesmo no sangue. 100 grs. de glycose por exemplo podem ser ingeridas por um individuo normal com uma elevação pequena da glycemia, pois o figado é capaz de armazenar até 300 grs. de glycogenio (Bodansky). (4).

Segundo Wright (5) a hyperglycemia em individuos normaes, depois da ingestão de 300 a 500 grs. de glycose é relativamente moderada, não attingindo muitissimas vezes o limiar de eliminação renal.

O estomago retém a glycose por algum tempo, diluindo-a com o liquido que secreta abundantemente e depois faz passar mais lentamente para o intestino onde é logo absorvida.

Quantidades superiores a 500 grs. não são geralmente toleradas, provocam nauseas e são eliminadas pelo vomito.

B) Regimen alimentar anterior.

Bang, já em 1914, havia notado que, em coelhos que haviam passado dias de jejum, a elevação da glycemia depois da ingestão de assucar é maior e mais demorada do que nos animaes que estavam em diêta commum.

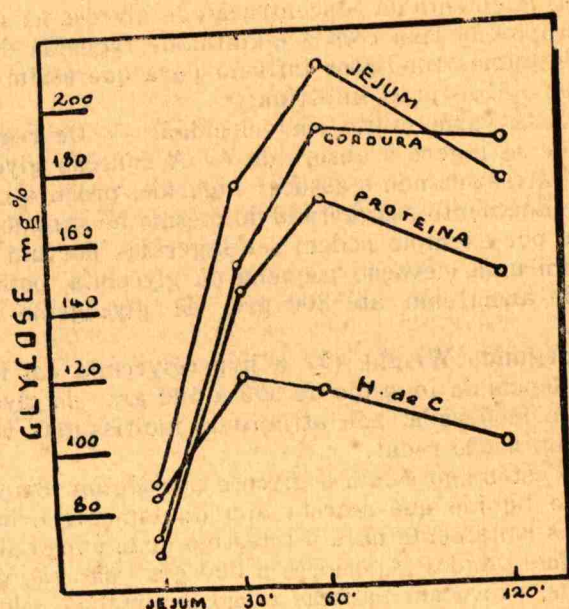
Hagedorn (1921), Hansen (1923), Holst (1924), Staub (1927), Malmros, 1928, Sterstroem, (1928), foram unanimes em mostrar que a hyperglycemia após a absorção não era a mesma, si os individuos não tivessem anteriormente a mesma dieta.

Shirley Sweeney (6), de Dallas, em um interessante trabalho mostrou justamente as variações da curva de tolerancia de glycose em individuos com alimentação differente. Seus trabalhos foram feitos em estudantes de medicina, jovens e sadios, que elle dividiu em 4 grupos:

- 1.º Grupo: daquelles que se alimentavam quasi exclusivamente de proteínas.
- 2.º) Grupo: alimentação quasi exclusiva de gorduras.
- 3.º) Grupo: sómente de hydratos de carbonó.
- 4.º) Jejum.



Estes regimens de alimentação unilateral e de jejum demoraram dois dias, no fim dos quaes a prova da hyperglycemia provocada era realisada.



Os resultados mostrados no quadro acima, reproduzido do proprio Sweeney, são typicos e concludentes — Mostram que a hyperglycemia após ingestão de assucar está em relação inversa com a quantidade de hydratos de carbono introduzidos na alimentação da vespera.

Facto curioso é a observação da glycemia normal na serie dos animaes. Ella está relacionada com a temperatura do corpo — nos animaes de sangue frio como a rã é muito baixa: 20 mg.%; entre os mammiferos, oscilla em torno de 100mg.% e nas aves fica acima de medias muito superiores.



## IV

### VARIAÇÕES DA GLYCEMIA

Experimentadores de grande merito têm, nestes ultimos tempos, grandemente elucidado a questão do metabolismo da glycose.

“In anima mobile” ou em animaes a influencia decisiva dos hormonios sobre o assucar do sangue tem sido sobejamente demonstrada.

De todas as glandulas de secreção interna aquella, cujo producto está em mais intima relação com a glycemia, é o pancreas.

Aubertin (7) classificou as experiencias que têm sido feitas sobre pancreas assim:

- a) extirpação
- b) enxerto
- c) modificação da vascularização.

*Extirpação:* Von Mering e Minkowski foram os primeiros a mostrar a grande elevação do teor do assucar sanguineo, quando se fazia a ablação total da glandula pancreatica. Quando a experiencia era feita em dois tempos, isto é, em uma primeira operação, retirava-se uma parte do orgão e depois o



resto, o que se observava era: a principio uma hyperglycemia relativa e depois, com a remoção total, uma elevação exagerada da glycose sanguinea.

Estas experiencias foram feitas em 1890 e repetidas depois por Dominici na Italia; Lepine, Gley e Hédon na França; Harley, na Inglaterra, e Seeling na Suissa, com resultados identicos.

*Enxertos*: Minkowski e Hédon, em 1892, ao mesmo tempo e independentemente um do outro, realisaram o enxerto, debaixo da pelle de cães, dos pancreas que haviam sido extirpados dos mesmos. — E' a glycemia não se elevava desde que se conservassem intactas a vascularização e a innervação.

Função analoga á do enxerto tem o pancreas do fêto, em uma grávida na sua segunda metade de gestação.

Carlson e Drennam mostraram que o pancreas de taes grávidas póde ser extirpado, sem nenhuma modificação do assucar sanguineo até o parto. E' que o pancreas fetal tem a capacidade secretora para satisfazer aos dois organismos.

Mesmo a clinica tem encontrado casos de mulheres diabeticas cuja molestia melhora intensamente durante a gravidez para voltar ao estado primitivo, depois do parto.

Banting aproveitou-se desse facto, em uma de suas experiencias, para isolar o hormonio do pancreas fetal de vaccas recentemente abatidas. A ausencia da secreção externa da glandula aqui deveria facilitar muito este isolamento.

*Provas com a vascularização* — Demonstrações muito interessantes foram realizadas por Hédon, com circulações cruzadas, ou para biose entre cães normaes e despancreatizados. A entrada do sangue do normal para os vasos do depancreatizado fazia baixar a hyperglycemia deste.

Estava então demonstrado que o pancreas secretava "alguma cousa", que lançada na corrente circulatoria, ia influenciar sobre a concentração do assucar.

Fracassaram entretanto as primeiras tentativas de isolamento destes productos pancreaticos. Os extractos da glandula eram de acção nulla sobre a glycemia.

A Banting e Best coube o merito de isolar o hormonio pancreatico, enriquecendo a nossa therapeutica com um producto de valor preciosissimo. Este, denominado insulina, tem sido obtido hoje até em estado de crystallisação e está com a sua composição chimica determinada.

A crystalisação pura, todavia, ainda não existe — e o crystal encerra ainda zinco ou cadmio.

Actualmente, do campo da experimentação medica, a



parte da endocrinologia mais relacionada com o assucar do sangue é a da hypofunção pancreatica.

Constituindo por si só este immenso capitulo da pathologia que é a diabetes ella justifica pela sua importancia a immensidade de trabalhos até aqui publicados.

A hyperfunção do pancreas e a dysfunção de outras glandulas de secreção interna, seja em augmento ou em diminuição, tambem determinam variações da glycemia que não passam despercebidas nem ao experimentador nem ao clinico.

A hypoglycemia, occasionada pela secreção exagerada da insulina, tem sido varias vezes observada nestes ultimos tempos.

Os seus symptomas clinicos são os mesmos que se observam quando se administra ao homem ou animal uma dose elevada de insulina.

Seale Harris, (8), em 1924, denominou esta condição de hyperinsulinismo, á semelhança do que se passa com a glandula thyroide, cuja secreção augmentada ou deficiente leva ao hyper ou hypothyroidismo.

Desde então, publicações numerosas do proprio Seale Harris (9) e outros têm mostrado que a hypoglycemia é uma condição muito mais commum na clinica do que se pensa.

A influencia da suprarenal foi mostrada já em 1902. por Blum, que verificou glycosuria com a injeção de adrenalina.

As variações anormaes da glycemia bem como as perturbações da tolerancia de glycose nos casos de dysfunção da thyroide são factos já bastante conhecidos.

Não menos importante é a influencia da pituitaria. Um hormonio secretado por ella que faz elevar a glycemia foi mostrado pelo argentino Houssay, que provou tambem, em 1929, que os animaes privados da pituitaria por extirpação, não accusavam os symptomas de diabetes, com a retirada do pancreas.

Além dos casos acima citados, normaes ou pathologicos, nós podemos ainda encontrar augmento da glycemia numa numerosa variedade de condições como sejam:

periodos premenstruaes  
emoções fortes  
anesthesias geraes  
hypertensões arteriaes  
nephrites graves, etc.

V

GLYCOSE NOS GLOBULOS E NO PLASMA

Aqui está uma questão em que por muito tempo divergiram os resultados de varios pesquisadores.

Grande parte desta divergencia se deve á diversidade de condições observadas no realizar das pesquisas e outra boa parte á insegurança ou pouco especificidade dos processos usados.

Folin e Berglund (10), em 1922, em interessantes observações affirmam que, no jejum, a glycose dos globulos corre parallelamente com a do plasma e que a capacidade dos globulos de retirar o assucar do plasma é maior do que pôde permitir uma simples diffusão.

Considerando ainda a percentagem da agua no plasma e nos globulos, affirmam elles que a concentração de glycose é no primeiro cerca de duas vezes menor que nos segundos. Nos periodos que se seguem á absorpção esta concentração é maior no plasma. Comtudo é uma condição muito passageira. E explicam muito naturalmente esta differença: (1.º). A glycose elevada antes de attingir aos globulos passa antes pelo plasma.



2.º) Catabolismo e condensação são processos presentes no interior dos globulos e não observados no plasma.

Hansen, em 1923, publica resultados semelhantes aos precedentes.

Em 1925, Högler e Überrack (11), refutam a Richter-Quittner os quaes affirmavam que, após hemolyse perfeita, a percentagem do assucar globular era igual a do plasma.

Aquelles pesquisadores mostraram que no plasma a concentração é maior que a do sangue total, a qual por sua vez é maior que a dos globulos.

Trabalhos interessantissimos são realizados por Somogyi em 1928 (12), 1931 (13), e 1933 (14). Elle começa fazendo distincção entre substancias reductoras não fermentesciveis e fermentesciveis. Estas ultimas são denominadas por elle "assucar verdadeiro".

Encontra que a relação entre assucar verdadeiro de globulos e de plasma corresponde a 0,8. Por outro lado descobre que a substancia reductora não fermentescivel, contida nos globulos é 5 vezes maior que a contida no plasma.

Este facto explica em grande parte porque Folin havia encontrado a concentração de glycose dos globulos maior que a do plasma, quando se levava em conta a quantidade de agua contida naquelles e neste.

Já em 1935, Dumarzet (15), de Marselha, com um novo processo de desproteínezão do sangue, dosando somente o assucar verdadeiro affirma que este tem diffusão livre entre plasma e globulos, e mais que é de 0,8 a relação entre assucar globular e plasmatico.

O que se conclue de tudo isto é que podemos fazer, em jejum, a determinação no sangue total. — Nos casos de hyperglycemia, entretanto, devemos levar em conta que, no plasma, os valores são um pouco mais elevados.

## VI

### GLYCOSE NO SANGUE ARTERIAL E VENOSO

Todos sabemos que a principal função do sangue arterial é levar, a todos os tecidos do organismo, o material necessário ás suas necessidades vitales, e que o venoso recebe não só o restante deste material não aproveitado, mas também productos de elaboração de cada cellula.

Nada pois mais natural do que se attribuir ao sangue das arterias uma composição mais rica em glycose.

Nas condições de repouso e de jejum, entretanto, a concentração é praticamente a mesma. E isto se justifica perfeitamente:

Si a condição é de jejum, nenhuma glycose está sendo absorvida do intestino e lançada directamente no sangue arterial; demais, no estado de repouso, sobretudo muscular, o consumo de energia é minimo: nenhum assucar está sendo pois requisitado pelos tecidos para refazer as suas reservas glycogenicas.

Podemos pois dosar em jejum, a glycose no sangue venoso, sem incorrer em grande erro.

Na pratica corrente o sangue arterial é colhido por



picada na ponta dos dedos ou no lobulo da orelha. Exige, pois, que seja examinado por um micromethodo.

Igualdade de concentração de assucar venoso e arterial não se observa, porém, depois de alimentação ou ingestão de hydrato sde carbonio.

O sangue arterial, rico de glycose absorvida da parede intestinal, banha a todos os tecidos. Cada cellula procura então remover para o seu interior esta glycose physiologicamente augmentada, armazenando-a, seja para as suas proprias necessidades futuras, seja para a necessidade de outras (glycogenio hepatico).

Disto resulta então que o sangue venoso deve ser mais pobre em assucar do que o sangue arterial.

E é justamente o que se observa.

A differença obtida pelas determinações simultaneas num e noutro sangue póde nos dar uma idéa da capacidade armazenadora de assucar.

Rabinowitch e Lawrence (16), mostraram a importancia desta differença nos diabeticos. Friedenson (17), estudou-a nas provas de hyperglycemia provocada.

Trumper e Cantarow (18) nos apresentam em quadros interessantes o valor dessas differenças, em diversas condições: normaes e pathologicas.

No normal a media observada fica em torno de 25 mg.%, 60 minutos depois da ingestão de glycose. Nos casos em que ha diminuição de tolerancia de glycose, como diabetes, ella é mais baixa ou mesmo nulla.

E onde ha augmento de tolerancia como seja no hypopituitarismo ou hypothyroidismo, eleva-se bastante, oscillando ao redor de 38 mg.%.



## VII

### ORIGEM DA GLYCOSE

A fonte mais commum é constituida pelos hydratos de carbono da alimentação.

Estes, introduzidos no aparelho digestivo são quasi que totalmente transformados pelos enzymas digestivos em glycose. Outras oses têm um papel secundario, quasi nunca levado em consideração.

Esta é a fonte que poderíamos denominar de exogena.

Mas, a absorpção intestinal, não é continua, emquanto que é permanente o nivel da glycemia.

Um outro factor deve então existir que, fornecendo o assucar ao sangue, constantemente coopera para que se mantenha pouco variavel a concentração do mesmo.

Este factor é constituido pelo figado. Armazenador de grande parte da glycose introduzida no organismo, elle a cede ao sangue á medida das necessidades organicas.

Si considerarmos, todavia, que em muitas condições a glycose, armazenada na forma de glycogenio, póde estar ausente do figado sem se observar a diminuição da porcentagem da mesma no sangue, nós somos levados a pensar numa terceira fonte para o organismo.



Estas condições de desaparecimento do glycogenio hepatico são varias:

- a) jejum prolongado levando á inanición.
- b) consumo exagerado da glycese, que póde ser realizado em animaes quando se provocam convulsões prolongadas com injeções de estrichinina.
- c) desperdicio do assucar que póde ser eliminado através dos rins por meio de injeções de phlorhyzina.

Condições ainda pathologicas, como a diabetes podem mostrar uma eliminação de assucar pela urina em quantidade muito maior do que a que foi introduzida com a alimentação.

Assim temos, pois, que attribuir ao organismo uma capacidade de fabricar assucar, quando as suas reservas estão esgotadas.

O material por elle utilizado é constituido pelas proteínas e gorduras.

De um modo geral 58% das proteínas e 10% das gorduras podem ser transformados em glycese.

As proteínas podem fornecer assucar ao sangue por intermedio de alguns de seus amino-acidos. Estes soffrem primeiramente, a supressão de seus radicaes aminados e depois são synthetizados para glycese. Experiencias em cães mostraram que isto é realizavel com os 10 seguintes amino-acidos: glycina, alanina, acido aspartico, acido glutamico, serina, cystina, arginina, prolina e hydroxyprolina.

Com valina e isoleucina ha duvida e com phenylalana thyrosina, leucina a transformação nunca pode ser observada. Nas gorduras, o glycerol, que constitue cerca de 10% da molecula, póde ser transformado completamente em glycese.

Os acidos graxos superiores ainda não puderam soffrer experimentalmente esta transformação. Outras substancias de natureza glucidica ou não, são susceptiveis de produzir assucar.

Assim é que a fructose e a galactose, absorvidas através da parede intestinal, podem formar glycogenio hepatico e subsequentemente glycese.

Já com as pentoses o mesmo não se dá — Miller e Lewis (19) não conseguiram augmentar glycogenio, nem no fígado nem nos tecidos depois da ingestão de xylose.

Productos de degradação da propria glycese no organismo, podem em uma boa parte ser resynthetizados.

Tal é o que se dá com o aldehydo glycerico, methylglyoxal, acido lactico, etc.



## VIII

### PRINCIPAES PROCESSOS DE DOSAGEM DE GLYCOSE

Nenhum constituinte chimico do sangue dispõe de uma quantidade tão numerosa de processos de dosagem como a glycose. Si dispõe de muitos processos é porque muitos pesquisadores se interessaram pelo assumpto e cada um procurou contribuir no aperfeçoamento de uma determinação que dia a dia vae se tornando mais necessaria á experimentação scientifica e á pratica medica. Das varias propriedades da glycose, as que se podem aproveitar para a sua dosagem são: polarisação, formação de ozonas, fermentação e redução.

- a) Polarisação — Methodo muito usado na pratica da clinica não póde ser, entretanto, senão em casos excepcionaes de investigação scientifica applicado ao sangue.

Normalmente a quantidade de glycose, presente no sangue, tem ao polarimetro um desvio minimo (6' por 20 cc. de sangue).

Poder-se-ia calcular a glycose concentrando o sangue no vacuo; mas isto não tem alcance pratico.

- b) Formação de ozonas — Muito util para mos-



trar a presença de glycose ou para differencial-a de outros assucares, a formação de bellos crystaes de glycozazona não se adapta ás pesquisas de natureza quantitativa.

- c) Fermentação — Outro methodo ainda muito utilizado para determinar quantidadcs mais elevadas de glycose, sobretudo nas urinas glycosuricas, mas que não tem no sangue senão um emprego muito restricto.

Em combinação com outros methodos tem sido empregado para mostrar a natureza das substancias reductoras do sangue, como veremos no decorrer do presente trabalho.

- d) Reducção — Esta propriedade chimica de redução é que tem dado logar a innumerous processos de dosagem. Alguns são directos, ou immediatos, baseados na mudança de coloração de certas substancias.

Um exemplo de processo deste grupo é o de Lewis-Benedict, em que o acido picrico, pela redução, passa a acido picramico, com desenvolvimento de uma coloração vermelha.

Outros já não são tão immediatos: o producto da redução é que, calculado, vae mostrar qual foi a quantidade de glycose que o produziu.

De um modo geral, os processos mais rapidos são os colorimetricos, enquanto que os titulimetricos são mais demorados.

A gravimetria quasi não é aproveitada. Apesar de ser methodo absoluto, ella tem tido um emprego muito pequeno em micro-chimica em geral, por exigir condições de isolamento e purificação muito cuidadosos, incompativeis, muitas vezes, com as necessidades da pratica.

O processo de Allihn é um dos poucos gravimetricos da chimica biologica mas, pode-se dizer, não é usado hoje. Elle consiste na separação do oxydo cuproso formado pela acção da glycose sobre a solução cuprico-alcalina. Este oxydo é reduzido a cobre metallico pelo hydrogenio e então pesado.

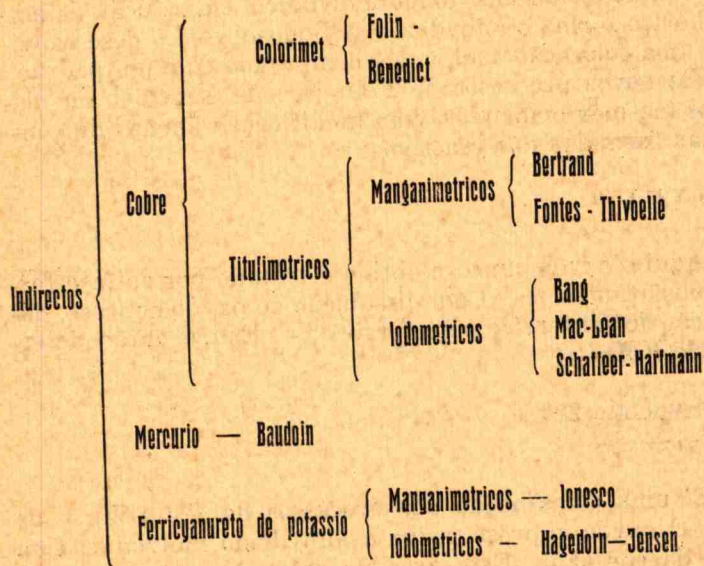
Entre os saes dos metaes tomados como base para os processos de redução, os de cobre occupam um logar proeminente.

O ferricyanureto de potassio é empregado em um dos processos mais seguros de que dispomos actualmente.



No quadro abaixo estão mostrados, como exemplo, os principaes processos:

Directos acido picrico — Lewis-Benedict



Passemol-os, agora, em revista rapida, mostrando os principios de cada um:

LEWIS-BENEDICT (20)

O acido picrico em soluçao saturada é adicionado ao sangue. As proteínas são precipitadas a frio. — Filtra-se. O filtrado, alcalinisado, é levado ao banho-maria, á ebuliçao, onde ha a reduçao para acido picramico, vermelho. Esta coloraçao vermelha é entao, ao colorimetro, comparada com um padrao. Tal processo, simples e rapido, não está mais em voga, pois encerra grandes causas de erro. Entre estas está a creatinina, que dá com o acido picrico, a reacçao de Jaffé, tambem com desenvolvimento de coloraçao vermelha.

Em condiçoes normaes a influencia é pequena, mas quando ha retençao de escorias azotadas, o erro torna-se grande.



FOLIN-WU

O sangue é separado de suas proteínas por meio do ácido tungstico. Aquecido, então, com uma solução cupríco-alcalina, em um tubo especial, dá formação a óxido cuproso. Este, posto em contacto com anidrido molybdico, em solução de ácido phosphórico forma o anidrido molibdososo, com o desenvolvimento de uma coloração azul, que é comparada com um padrão.

Os novos processos de Folin e o de Benedict são baseados nos mesmos princípios, com modificação apenas da composição das formulas dos reactivos.

BERTRAND (21)

Aqui o óxido cuproso obtido é tratado por sulfato-ferrico em solução sulfurica. Com dissolução do óxido cuproso, dá-se a redução do sal ferrico para ferroso. — Este é, então, determinado pelo  $\text{KMnO}_4$ .

FONTÉS-THIVOLLE (22)

É uma combinação dos processos de Folin-Wu e de Bertrand. O óxido cuproso reduz o anidrido molybdico com produção da cor azul. Este grão de redução é determinado pelo permanganato, que, reoxydando o anidrido molybdoso, faz desaparecer a cor azul.

BANG (23)

O sangue desproteinizado é aquecido com um reagente que tem, ao lado do cobre, o iodato de potássio. A medida que o óxido cuproso vai-se formando, vai havendo redução do iodato. — No fim da reacção é só dosar o excesso deste, e deduzir daí o valor da glicose. Esta dosagem do iodato em excesso se faz por iodometria.

O processo de Mac Lean e Schaffer-Hartmann obedece ao mesmo principio.

BAUDOUIM (24)

Usa o sangue desproteinizado pelo reactivo nitro-mercurico. Ao filtrado adiciona-se a solução mercurico-alcalina



que, a quente, é reduzida para mercurio metallico. Este é de novo oxydado por uma quantidade exacta de iodato, cujo excesso é determinado iodometricamente.

JONESCO (25)

O ferricyanureto de potassio é reduzido a ferrocyanureto em meio alcalino. Deste se desenvolve uma côr verde, quando tratado por acido sulfurico. Essa coloração, proporcional á quantidade de assucar reductor, desaparece com a titulação pelo  $\text{KMnO}^4$ .

HAGEDORN-JENSEN

Já faz o inverso: o excesso ferricyanureto oxyda o acido iodhydrico com desprendimento de iodo, que é determinado pelo thiosulfato de sodio.

Este processo, que permite a dosagem em quantidades de sangue inferiores ao 0,1 cc., será depois detalhadamente descripto.



## IX

### DESPROTEINISAÇÃO DO SANGUE:

Uma operação commum a todos os processos de dosagem de glycose no sangue é a desproteinisação ou defecação, que consiste na remoção das proteínas.

Estas, presentes no plasma em estado de sol, podem ser precipitadas por determinados agentes de natureza principalmente chimica e depois separadas, seja por filtração ou por centrifugação.

Dos diversos agentes capazes de precipitar as proteínas, os que mais commumente constituem os nossos processos de defecação sanguinea são os saes de metaes pesados.

Alguns permitem a separação, tambem, de outras substancias reductoras de natureza nem proteica nem glucidica.

Isto é que é o ideal.

O processo de Somogyi, por exemplo, retém, junto com as proteínas, inumeros constituintes normaes do sangue, como sejam: glutathiona, acido urico, etc.

O processo de Folin-Wu, um dos mais empregados hoje, em chimica physiologica, já não gosa das mesmas vantagens



e por isto mesmo dá valores de redução, para o sangue, superiores aos do precedente.

Até aqui os processos mais empregados têm sido:

- a) do ácido picrico
- b) do ácido tungstico.
- c) do zinco.

*O ácido picrico* — Utilizado no processo de Lewis-Benedict quasi não tem outro emprego. O filtrado, conservando a coloração amarella, prejudica enormemente pesquisas de outra natureza.

*O ácido tungstico* — Introduzido por Folin-Wu, tem ao contrario uma applicação muito vasta.

A elle voltaremos mais tarde, quando apresentarmos os nossos trabalhos.

*O zinco* — E' aproveitado nos processos de Hagedorn-Jensen e de Somogyi.

Este, em 1930, estuda a desproteinisação com os saes de zinco, cobre, ferro e mercurio. Conclue que a superioridade é do primeiro e o applica para a dosagem da glycemia.

O seu processo permite a determinação exclusiva do "assucar verdadeiro". As substancias de natureza não glucídica, que veremos a seguir, são completamente afastadas.

Opportunamente descreveremos a sua technica.

Em 1929, West, Scharles e Peterson (26) publicaram um processo que permite a dosagem exclusiva do assucar fermentescível.

Era baseado na precipitação das proteínas pelo mercurio, e, mediante o accrescimo de carbonato de bario, o pH era acertado para 6,3. Nestas condições só permaneceria no filtrado o assucar verdadeiro.

Fujita e Iwatake (27), apresentaram em 1931, um processo usando o cadmio, que goza das mesmas vantagens que o de Somogyi. Comtudo, é mais caro.

Innumeros outros tambem têm sido utilizados, mas que agora cahiram no desuso. Taes são: o do ácido phospho-tungstico de Oppler, o do hydroxydo de ferro Rona-Michaelis, o do ácido trichloro-acético utilizado por Jonesco e outros mais.



## X

### SUBSTANCIAS NÃO FERMENTESCIVEIS

A presença, no sangue, de substancias outras que não glycose capazes de reduzir os reactivos, é facto já conhecido desde ha muito.

Otto, já em 1885, havia notado, em sangue de cão, que a capacidade reductora muito abaixava com a fermentação, mas não desaparecia inteiramente.

Esta differença obtida então, quando o mesmo sangue é examinado antes e depois da fermentação, só pôde ser explicada pela existencia de substancias reductoras incapazes de sofrer a acção fermentadora do levedo e não removiveis pelos processos communs de desproteinisação.

Em 1925 Hiller, Linder e Van Slyke (28) determinaram o valor destas substancias reductoras, (S. R. n. f.), tambem chamadas sacharoides, em individuos normaes e acharam-no oscillando entre 10 e 30 mg. % .

Rabinowitch (29), em 1928, encontra valores comprehendidos entre 16 e 31 mg. % .

Smogyi já dá numeros superiores.

O valor da S. R. n. f., é mais ou menos constante.



Está na independência da glycemia. O assucar fermentescível, também chamado, por Somogyi, assucar verdadeiro, pôde variar intensamente sem occasionar a menor influencia sobre as S. R. n. f., ou substancias não fermentesciveis.

Em diabeticos, com as maiores hyperglycemias, assim como nos casos em que, sob a acção da insulina, o assucar verdadeiro foi reduzido a zero, os numeros achados para S. R. n. f. têm estado sempre dentro de sua zona de variação normal.

Uma ligeira elevação do seu valor tem sido encontrada nas nephrites, com grande retenção de escorias azotadas.

Rabinowitch estudou também os valores destas S. R. n. f., no normal e no diabetico, em jejum e depois da ingestão de glycose, no sangue arterial e no venoso, e, como os outros, chegou também aos mesmos resultados; isto é: a independência de relação entre estas substancias não fermentesciveis e o assucar verdadeiro.

Somogyi (30), procurando entre globulos e plasma a distribuição destas substancias, achou que ellas se encontravam nas primeiras em uma quantidade 5 vezes superior á do plasma.

De regra os processos de separação das proteínas não removem também taes substancias. Tal não se dá com o Somogyi.

Os processos até aqui utilizados para a determinação da S. R. n. f. têm sido sempre baseados na fermentação ou na glycolyse:

*Fermentação* — O sangue é posto em contacto com uma emulsão de fermento Fleischmann. Todo o assucar verdadeiro é destruido. Faz-se, depois, a desproteïnisação pelo Folin-Wu e em seguida a dosagem do poder reductor. O resultado achado representa a quantidade de S. R. n. f.

Primeiramente o tempo de acção deste levedo era maior; depois Hiller, Linder e Van Slyke reduziram-no para 20' na estufa, a 38°.

Hoje, de accordo com o Somogyi, (31), o tempo é apenas 5' e a estufa é desnecessaria.

*Glycolyse* — O sangue é deixado em pequenos tubos arrolhados, em uma estufa a 38°, durante 24 horas, e agitado de quando em vez. A destruição do assucar verdadeiro se faz assim espontaneamente, á custa de fermento glycolytico do sangue. A dosagem do poder reductor no fim destas 24 horas representa o valor das S. R. n. f.

O novo processo de Benedict, (32), de determinação da glycose no sangue, é especifico, pois permite a dosagem exclusiva do assucar.



A differença entre duas dosagens no sangue, feitas por este processo e outro não especifico, pôde dar tambem o valor da substancia reductora, que não glycose.

Entre outras substancias constituintes normaes do sangue, de natureza não glucidica nem proteica, nós podemos citar as seguintes, que gozam de propriedades reductoras: glutathiona, thioneina, cysteina, acido urico e creatinina.

*Glutathiona* — Tripeptide presente nos globulos, e descoberto por Hopkins, em 1920, tem merecido grande importancia na physiologia, sobretudo nos processos de autooxydação dos tecidos. Constitue a quasi totalidade das S. R. n. f., pois, como veremos, as outras substancias nas concentrações normaes do sangue, têm valor minimo.

Benedict e Newton (33), mostraram que a glutathiona accusa, ao Reactivo de Benedict, uma redução correspondente a 0,2 de seu peso, calculado como glycose. Nesta base, ella que está, no sangue, numa concentração de 50 a 100 mg. %, dará uma redução de 10 a 20 mg. %.

*Thioneina* — Cuja presença no sangue se deve ás pesquisas de Benedict (34) e seus collaboradores em New York, de Vars e Eagles (35), em Toronto, é a mesma ergothioneina, isolada por Tanret em 1909, no centeio espigado. Ella deve suas propriedades reductoras, assim como a glutathiona e cysteina, ao radical sulphydrila SH.

Seu poder de redução no sangue é pequeno. Benedict mostrou que elle corresponde a 1mg.% de glycose.

*Cysteina* — Responsavel pela redução da glutathiona, da qual é parte componente, isoladamente existe no sangue em muito pequena quantidade.

*Acido urico e creatinina* — No sangue normal a porcentagem de acido urico (2 a 3,5 mg. %) e de creatinina (1 a 2 mg. %), como a thioneina, têm, sobre os reactivos de glycose, um gráo quasi desprezível de redução (1 mg. %).

Van Slyke (36) e seus collaboradores mostraram que esta redução tornava-se, entretanto, sensivelmente augmentada nos casos de retenção de escorias azotadas.

Assim, quando a creatinina attingia, no sangue, uma concentração de 15 mg. %, mesmo com acido urico baixo, a redução calculada em glycose subia para 9 mg. %; e quando o acido urico tambem subia para 9,4 mg. %, a redução correspondia a 13 mg. %.



## II PARTE

Interessados nos resultados do processo de Somogyi, que obtem valores para o assucar sanguineo inferiores aos até então observados, resolvemos estudal-o.

Nós o applicamos para effeito de comparação, simultaneamente com o de Folin-Wu em individuos normaes e diabeticos.

A glycose dos filtrados sanguineos, obtida pelos dois processos foi dosada pelo Hagedorn-Jensen, Folin e Folin-Wu.

Submettemos ainda o sangue á fermentação.

Dosamos depois as suas substancias reductoras não fermentesciveis. E os valores achados para estas correspondiam sempre á differença existente entre a glycemia encontrada após desproteïnisação pelo Somogyi e pelo tungstato.

Procuramos ainda estudar o Somogyi no emprego de certos meios, que na pratica muito facilitam o trabalho em serie.

Um destes é a balança de torção que permite a colheita rapida e diminuta de sangue por picada no dedo.

Tratamos tambem da possibilidade de conservar o sangue em papeis de filtro para dosagem de sua glycose, muitas horas após á colheita.

Por último fizemos a applicação do Somogyi á defeca-



ção urinaria afim de verificar si elle gosava, aqui tambem, das mesmas vantagens que gosa no sangue.

Fica, então, o nosso trabalho dividido nas seguintes partes:

- 1.º) Determinação da glycemia em individuos normaes pelos processos do Hagedorn-Jensen, Folin e Folin-Wu, após desproteinisação pelo Somogyi e pelo tungstato;
- 2.º) Idem nos diabeticos.
- 3.º) Dosagem das substancias reductoras não fermentesciveis.
- 4.º) Emprego da balança de torção.
- 5.º) Conservação do sangue em papel de filtro.
- 6.º) Applicaçào do Somogyi á desproteinisação urinaria.

## DETERMINAÇÃO DA GLYCEMIA EM INDIVÍDUOS NORMAES

Os sangues examinados foram todos retirados em indivíduos, tidos como normaes. Foram principalmente medicos e estudantes de medicina, pessoas em que esta presumpção de normalidade pode ser feita com mais segurança.

A colheita, por punção venosa era feita de manhã, em jejum e de preferencia no individuo ainda deitado.

Logo depois faziamos a desproteinisação simultanea pelo Somogyi e pelo tungstato. Nunca deixamos passar intervalo maior de 30 minutos entre esta e a colheita.

Passemos agora a descrever estes processos.

### SOMOGYI:

A vantagem deste processo sobre o do Hagedorn, que tambem usa o zinco, está no seguinte: o sal de zinco é accrescentado ao sangue hemolysado, e a reacção tornada neutra ou ligeiramente alcalina permite uma precipitação a frio. E nesta concentração fixa dos ions H nós obtemos tambem a remoção de toda a substancia reductora não fermentescivel.



Somogyi (37), descreve uma macro e uma micro tecnica — A macro para os casos em que temos á mão uma maior quantidade de sangue, e a micro para os outros casos.

Em cada uma destas technicas apresenta ainda dois processos: no primeiro uma determinada quantidade de sangue é accrescentada de 7 vezes o seu volume em agua, uma vez em solução de sulfato de zinco e mais uma vez em hydrato de sodio.

No 2.º processo a agua de diluição já está com o sulfato de zinco de modo que se torna necessario apenas ajuntar a 8 partes deste uma parte de sangue e outra de hydrato de sodio.

Este ultimo tem a vantagem de permittir uma pipetação a menos, uma filtração mais rapida e uma maior quantidade de filtrado.

Passemos á sua descripção.

Soluções necessarias:

1.ª

Sulfato de zinco crystallisado .....	12,5 grs.
Acido sulfurico 0,25 N. ....	125 cc.
Agua distillada, q. s. p. ....	1000 cc.

2.ª

Hydrato de sodio a 0,75 N. — 500 cc. da solução 1.ª, com phenolphtaleina, devem dar uma cor rosea persistente com 6,7 a 6,8 cc. da solução 2.ª.

*Processo:*

A 8 cc. da solução 1.ª ajuntar 1 cc, de sangue e 1 cc. da solução 2.ª.

Agitar bem. Deixar alguns minutos — Filtrar.

PROCESSO FOLIN-WU — ou processo de tungstato de sodio.

Soluções necessarias:

1.º)

Tungstato de sodio a 10%.

2.º)

Acido sulfurico 2/3 N.

*Technica:*

A 1 cc. de sangue adicionam-se 7 cc. de agua distil-

lada. — A seguir 1 cc. da solução 1.<sup>a</sup>, agitando-se bem. Por ultimo, acrescenta-se 1 cc. da solução 2.<sup>a</sup>; agita-se bem, esperam-se 5 minutos, no fim dos quaes faz-se a filtração.

Si o filtrado não é crystallino deve-se fazer a refiltração.

Cumpre observar que com o Somogyi todos os filtrados que obtivemos foram limpidos, o que nem sempre acontecia com o tungstato.

Obtido assim o sangue desproteinisado, nós dosamos nelle a glycose pelos 3 processos: Hagedorn-Jensen, Folin e Folin-Wu.

Vejamos cada um destes:

1.<sup>o</sup> HAGEDORN-JANSEN (38):

*Principio* — Como já vimos anteriormente, é baseado na redução do ferricyanureto de potassio em meio alcalino e a quente. O excesso de ferricyanureto oxyda o acido iodhydrico, do qual o iodo libertado é determinado pelo thiosulfato de sodio.

*Soluções:*

I

Ferricyanureto de potassio .....	3,3 grs.
Agua distillada q. s. p. ....	1000 cc.

II

Carbonato de sodio anhydro .....	21,2 grs.
Agua distillada q. s. p. ....	1000 cc.

III

Chloreto de sodio .....	25,0 grs.
Iodureto de potassio .....	7,5 "
Agua distillada q. s. p. ....	100,0 cc.

IV

Chloreto de sodio .....	15,0 grs.
Sulfato de zinco .....	7,5 "
Agua distillada q. s. p. ....	100,0 cc.



V

Acido acetico a 3%

VI

Amido soluvel . . . . . 1,0 gr.  
Solução saturada de chloreto de sodio... 100,0 cc.

VII

Thiosulfato de sodio . . . . . N/200

Estas soluções não são as originaes de Hagedorn. Cor-  
respondem a ligeiras modificações introduzidas por Cole (39).

As soluções devem ser preparadas todas com material  
muito puro e cuidadosamente conservadas — Contaminação, so-  
bretudo de ferro e agua oxygenada podem ser causa de grande  
erro.

Para evitar nas manipulações  
constantes a introdução de pipetas dentro  
das soluções adaptámos aos frascos, com  
dispositivos especiaes, buretas que podem  
ser enchidas por aspiração ou insuflação.  
A quantidade de solução necessaria pôde  
depois dahi ser retirada com facilidade e  
exactamente.

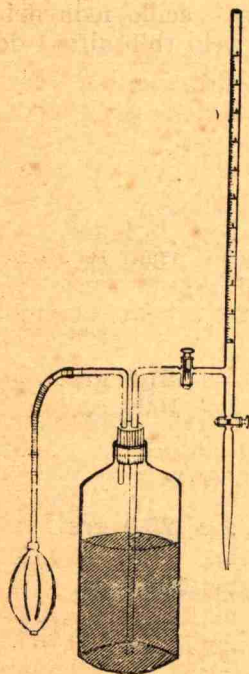
A figura ao lado mostra uma tal  
adaptação, para uma microbureta, permit-  
tindo a medida exacta e rapida de 1 cc.

TECHNICA:

1 cc. do filtrado sanguineo é col-  
locado em um tubo de ensaio 16x160 e ad-  
dicionado de mais 5 cc. de agua distillada.  
Em seguida é accrescentado 1 cc. exacta-  
mente medido de ferricyanureto de potas-  
sio ou solução I e seguida de 1 cc. da solu-  
ção II. Leva-se então ao banho-maria em  
ebulição onde fica 15 minutos. Findo este  
praso, retira-se o tubo, resfria-se, e ajun-  
tam-se: 1 cc. da solução III, 2 cc. da IV,

2 cc. da solução V e 3 gottas do indicador.

Titula-se então ao thiosulfato de sodio até o desappa-  
recimento da côr azul.





Ao mesmo tempo faz-se uma prova em branco em que em vez do filtrado sanguineo se colloca agua distilada.

**CALCULO:**

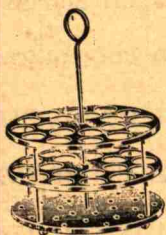
Multiplicar a differença dos cc. de hypo-sulfito de sodio gastos em uma prova e noutra por 0,177. O resultado representa a quantidade de glycose em 100 cc. de sangue.

Pode-se ainda utilizar a tabella que se segue construida por Hagedorn e Jensen, que se acha na pagina seguinte.

Nesta tabella procuramos os numeros correspondentes ás quantidades de thiosulfato gasto tanto para a prova em branco como para a que leva o sangue. A differença representa a porcentagem de glycose sanguinea.

Por este processo de Hagedorn, pode-se com facilidade, realizar de uma só vez um maior numero de dosagens.

Os tubos são collocados no banho-maria em supportes de metal, como na figura ao lado. Uma unica prova em branco é sufficiente.



Precisão e proporcionalidade deste processo são vantagens por todos reconhecidas; e entre nós foram muito bem mostrados no trabalho de Aggêo Pio Sobrinho (40) "Sobre a microdosagem da glucose em sangue".

Com o fito de verificar a segurança de nossa technica realisámos dosagens de glycose em soluções de concentração conhecida e, o valor achado, coincidia sempre com aquelle calculado. Os resultados se acham no quadro abaixo:

N.º	Glycose calculada	Glycose achada	Erro
1 . . . . .	50 mg%	51 mg%	+2 %
2 . . . . .	50 mg%	51 mg%	+2 %
3 . . . . .	100 mg%	101 mg%	+1 %
4 . . . . .	100 mg%	101 mg%	+1 %
5 . . . . .	150 mg%	151 mg%	+0,75 %
6 . . . . .	150 mg%	151 mg%	+0,75 %
7 . . . . .	200 mg%	201 mg%	+0,50 %
8 . . . . .	200 mg%	201 mg%	+0,50 %
9 . . . . .	250 mg%	249 mg%	—0,40 %
10 . . . . .	250 mg%	249 mg%	—0,40 %



## Tabella de Hagedorn e Jensen

Solução N/200 de hyposulfito de sodio em centímetros cubicos. Numero inteiro e primeiro algarismo decimal	Solução N/200 de hyposulfito de sodio cc. Segundo algarismo decimal									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Miligramos de glycose em 100 cc. de sangue									
0,0	385	382	379	376	373	370	367	364	361	358
0,1	355	352	350	348	345	343	341	338	336	333
0,2	331	329	327	325	323	321	318	316	314	312
0,3	310	308	306	304	302	300	298	296	294	292
0,4	290	288	286	284	282	280	278	276	274	272
0,5	270	268	266	264	262	260	259	257	255	253
0,6	251	249	247	245	243	241	240	238	236	234
0,7	232	230	228	226	224	222	221	219	217	215
0,8	213	211	209	208	206	204	202	200	199	197
0,9	195	193	191	190	188	186	184	182	181	179
1,0	177	175	173	172	170	168	166	164	163	161
1,1	159	157	155	154	152	150	148	146	145	143
1,2	141	139	138	136	134	132	131	129	127	125
1,3	124	122	120	119	117	115	113	111	110	108
1,4	106	104	102	101	099	097	095	093	092	090
1,5	088	086	084	083	081	079	077	075	074	072
1,6	070	068	066	065	063	061	059	057	056	054
1,7	052	050	048	047	045	043	041	039	038	036
1,8	034	032	031	029	027	025	024	022	020	019
1,9	017	015	014	012	010	008	007	005	003	002

2.º FOLIN (41)

*Princípio*:— O filtrado do sangue é aquecido com uma solução cuprico-alcálica; o óxido cuproso formado posto em contacto com o anhydrido molybdico o reduz a molybdoso com o desenvolvimento de uma coloração azul.

SOLUÇÕES:

I.

Carbonato de sodio anhydro .....	7,7 grs.
Bicarbonato de sodio .....	22,0 "
Tartarato de sodio .....	13,2 "
Agua distillada q. s. p. ....	1000 cc.

II.

Sulfato de cobre .....	5,0
Agua distillada .....	100,0

No momento de se usar o reactivo tomar:

9 cc. da solução I

1 cc. da solução II.

III.

Reactivo molybdico: Preparar assim: Em um vaso de 2 litros collocar 600 grs. de molybdato de sodio. Dissolvel-o com agua. Adicionar 0,5 cc. de bromo e agitar.

Completar o volume para 2.000 cc. Esta solução poderá ser guardada por muito tempo.

Collocar 500 cc. desta ultima em um balão graduado de 1.000 cc. Acrescentar 225 cc. de acido phosphorico a 85%, e 150 cc. de acido sulfurico a 25%. Remover o bromo por aeração.

Adicionar por ultimo 55 cc. de acido acetico a 99% e diluir para um litro com agua distillada.

IV. Phenolphtaleina a .....

0,1%

V. Carbonato de sodio a .....

1%

VI. Solução padrão de Glycose:

Faz-se primeiramente uma solução a 1% em solução saturada de acido benzoico. Esta se conserva indefinidamente. Dahi se preparam com diluição em agua distillada, soluções mais fracas, que contêm 0,1mg. e 0,2mg. por cc.

Podem-se adicionar algumas gottas de toluol para melhor conservação.

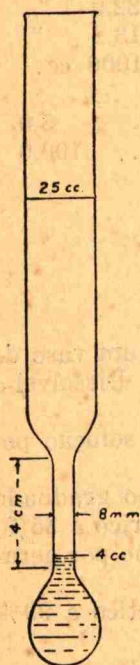


Cuidado especial mereceu a glycose com que trabalhámos. Para effeito de maior segurança nós mesmos purificamos-a e a submettemos a varias provas. Partimos de uma droga de Merck para fins scientificos. Dissolvemos em alcool absoluto e distillado varias vezes — Recrystallisámos — Os crystaes foram lavados com ether e depois seccados na estufa a 110° até dar um peso constante.

O ponto de fusão desta glycose deu 146°, que é o mesmo da glycose anhydra (Hammarsten) (42).

Foi tambem submettida á dosagem pelo Hagedorn fornecendo numeros correctos.

**TECHNICA:**



Tomar dois tubos especiaes como o indicado na figura ao lado. Em seguida collocar 2 cc. do filtrado sanguineo em um e no outro 2 cc. da solução de glycose que contem 0,1 mg. por cc.

Nos casos em que se suspeita uma hyperglycemia toma-se o 2.º padrão collocando em um outro tubo 2 cc. da solução que contem 0,2 mg. de glycose por cc. Ajuntar a cada tubo 1 gotta de phenolptaleina e gottas de carbonato de sodio até obter-se uma coloração persistentemente vermelha.

A cada um dos tubos accrescentar ainda 2 cc. da solução cuprico-alcalina recentemente preparada e levar ao banho-maria em ebulição durante 15 minutos. Retirar, resfriar. Deixar cahir então em cada tubo 4 cc. do reagente molybdico e completar em seguida até á marca 25 cc. com este mesmo reagente diluido 5 vezes em agua distillada. — Comparar ao colorimetro.

**CALCULO:**

Si o padrão fôr collocado em 20 mm. a porcentagem da glycose será:  $\frac{20 \times 0,1 \times 100 \times 10}{\text{altura do desconhecido}}$   
ou seja 2000 dividido pela altura do desconhecido.  
Isto quando a comparação é feita com a solução mais

fraca. Quando se compara com o padrão mais forte divide-se 4.000 pelo desconhecido.

Nem sempre esta côr é estritamente proporcional á concentração da glycose — Folin propoz então o seguinte quadro de correcção.

Achado	Correcção	Achado	Correcção
mg. %	mg. %	mg. %	mg. %
50	+2,3	130	—0,5
60	+1,3	140	—0,6
70	+0,8	150	—0,8
80	+0,5	160	—1,7
90	+0,2	170	—2,8
100	0,0	180	—4,5
110	—0,2	190	—7,0
120	—0,4	200	—9,2

3.º FOLIN-WU:

O processo de Folin-Wu obedece ao mesmo principio do precedente. Diferencia-se apenas na composição de um de seus reactivos:

Reactivo tartaro-cuprico:

Solução A

Carbonato de sodio anhydro .....	35,0	grs.
Tartarato de sodio .....	13,0	"
Bicarbonato de sodio . . . . .	11,0	"
Agua distillada q. s. p. ....	1000	cc.



Solução B

Sulfato de cobre a 5%, com traços de ácido sulfurico. A technica é quasi a mesma que a precedente, com a simplicidade, porém, de que é dispensavel acertar a reacção com carbonato de sodio e phenolphtaleina.

As drogas que empregamos na preparação foram todas purissimas (Merck p. a.) — Todas as nossas buretas e pipetas utilizadas foram controladas por calibração com mercurio.

No quadro que segue, apresentamos os resultados obtidos no sangue de 50 individuos normaes.

NORMAES				Hagedorn			Folin			Fol-Wu		
Nº.	NOME	IDADE	SEXO	S	T	D	S	T	D	S	T	D
1	L. M. ....	20	F	87	115	28	88	115	27	90	115	25
2	J. O. M. ....	23	M	83	110	27	82	109	27	84	110	26
3	A. P. V. ....	29	M	87	120	33	80	105	25	77	105	28
4	V. P. V. ....	28	M	83	110	27	87	110	23	88	115	27
5	S. C. C. ....	27	M	81	108	27	77	100	23	80	108	28
6	F. B. N. ....	23	M	86	104	18	81	101	20	81	99	18
7	J. E. L. ....	21	M	86	119	33	81	105	24	86	110	24
8	O. S. ....	32	M	83	114	31	83	105	32	80	105	25
9	R. M. ....	26	M	76	106	30	74	97	23	80	104	24
10	T. G. ....	23	M	71	92	21	70	92	22	70	94	24
11	P. M. A. ....	25	M	70	97	27	70	90	20	69	90	21

12	O. S. M. ....	27	M	77	104	27	70	95	25	71	97	26
13	J. B. V. ....	27	M	76	104	28	72	95	23	74	100	26
14	W. A. ....	22	M	86	108	22	82	104	22	86	109	23
15	T. M. ....	23	M	85	106	21	82	104	22	86	109	23
16	A. L. N. ....	29	M	78	103	25	80	101	21	81	103	22
17	J. M. G. ....	29	M	81	102	21	77	91	14	77	100	22
18	S. V. J. ....	25	M	87	104	17	80	98	18	78	93	15
19	L. L. ....	26	M	84	104	20	79	93	14	81	99	18
20	A. A. F. ....	32	M	89	117	18	76	97	21	78	95	17
21	O. C. ....	25	M	79	105	26	80	105	25	76	100	24
22	B. S. L. ....	21	M	81	122	41	82	117	45	84	120	34
23	J. C. C. ....	28	M	91	114	23	88	108	20	84	109	23
24	D. P. V. ....	25	M	83	110	27	83	106	23	84	106	22
25	M. M. ....	21	F	76	102	26	75	100	25	72	99	27
26	G. S. P. S. ....	27	M	81	99	18	71	88	17	75	92	17
27	S. F. ....	28	M	77	99	22	75	92	17	71	94	23
28	A. C. F. ....	24	M	77	104	27	79	99	20	80	104	24
29	A. N. C. ....	31	M	73	107	34	77	105	28	78	105	27
30	F. F. J. ....	25	M	69	89	20	71	93	22	70	93	23
31	J. C. ....	29	M	74	94	20	71	89	18	74	95	21
32	J. W. F. ....	24	M	69	98	29	70	101	31	71	100	29
33	O. V. C. ....	34	M	79	99	20	71	89	18	72	92	20
34	T. G. B. ....	21	M	88	106	18	82	101	19	85	105	20
35	P. M. B. ....	26	M	69	107	38	68	100	32	70	102	32
36	R. B. ....	24	M	83	111	28	83	109	26	82	100	28
37	C. B. ....	23	M	82	109	27	80	99	19	81	102	21

(Continua na pag. seguinte)



38	E. L. L.	23	M	72	97	29	76	105	29	77	106	29
39	P. M.	21	M	74	96	22	72	97	25	75	99	24
40	P. R.	23	M	85	107	22	79	107	28	90	105	25
41	J. L.	26	M	87	121	34	88	110	22	90	115	25
42	S. C.	25	M	81	99	18	80	100	20	81	101	16
43	G. V. R.	28	M	74	97	23	75	100	25	78	100	22
44	N. J.	24	M	71	91	20	68	87	19	69	87	18
45	L. A. P.	25	M	72	95	23	69	88	19	72	93	21
46	M. F.	24	M	85	128	43	82	120	38	80	122	38
47	G. C. V.	24	M	86	117	31	88	111	23	85	110	25
48	M. G.	26	M	91	113	22	81	100	19	80	95	15
49	C. P. G.	34	F	78	117	39	75	97	22	73	104	31
50	G. G.	35	M	78	100	22	75	90	15	75	96	21
<b>MEDIA</b>				83,0	107,2	24,6	77,7	100,4	25,1	78,4	102,2	23,9

Neste está mostrada a comparação das dosagens pelos 3 processos, bem como a diferença média dos mesmos.

Pelo processo de Hagedorn-Jensen a media obtida com o tungstato foi de 107,2mg. %, e para o somogyi 80mg. %, sendo a diferença destas medias igual a 27,2 mg. %.

Para o Folin a media já era de 77,7, quando se applicava o Somogyi e de 100,4 quando o tungstato, dando assim uma diferença de 22,7.

Com o processo de Folin-Wu são encontradas as medias: 78,4 para o Somogyi e 102,2 para o tungstato; accusando uma diferença de 23,8.

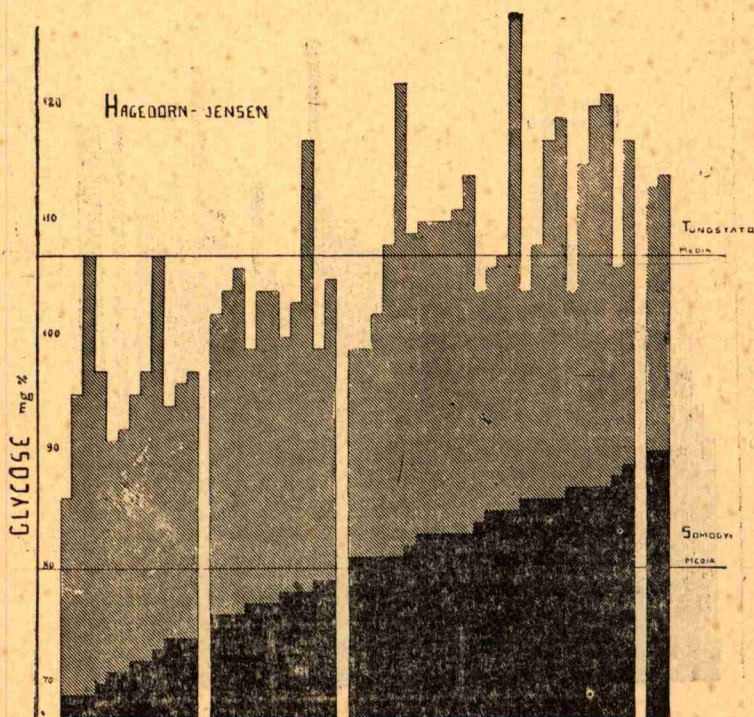
Duas especies de medias diferenciaes podem-se obter: a diferença das medias, como já foi mostrado e a media das diferenças tomadas em cada exame considerado isoladamente. Estas ultimas calculadas dão:

Hagedorn-Jensen . . . . .	24,6
Folin . . . . .	25,1
Folin-Wu . . . . .	23,9

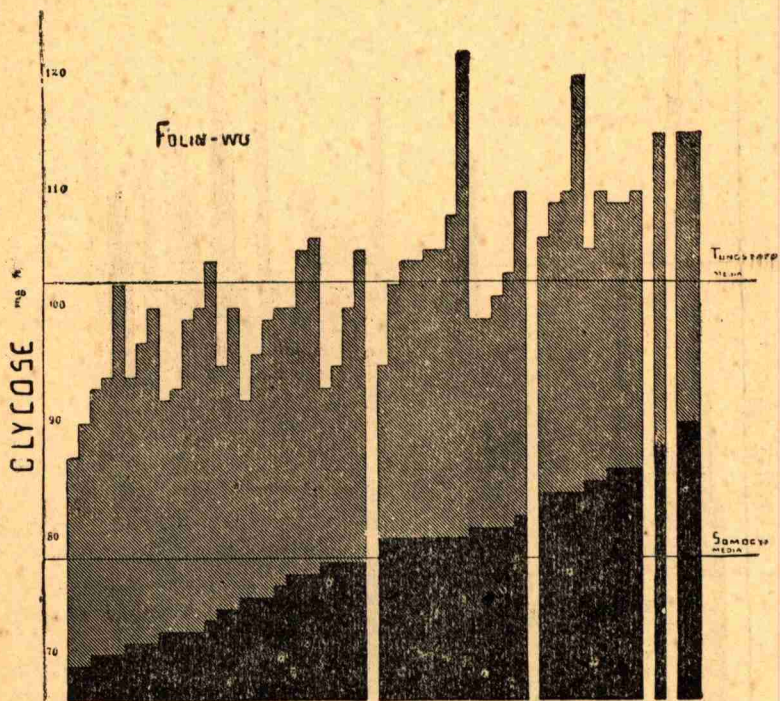


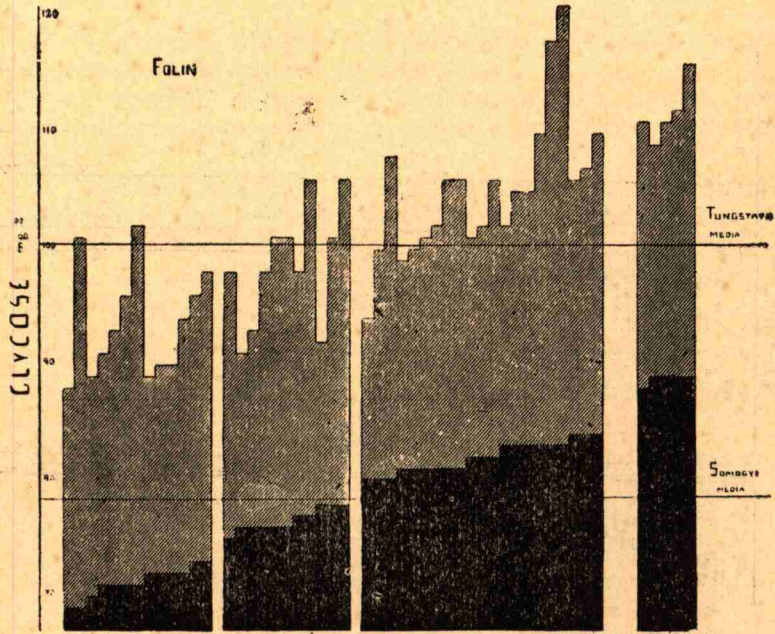
Fica mostrado então que a media do assucar no sangue, desproteinizado segundo Somogyi, occupa uma zona com limites inferiores: em vez de 80 a 107 mg.% ella desce para 69 a 91 com o Hagedorn.

Os graphicos que apresentamos dão rapidamente, e em conjunto uma noção dos resultados encontrados:

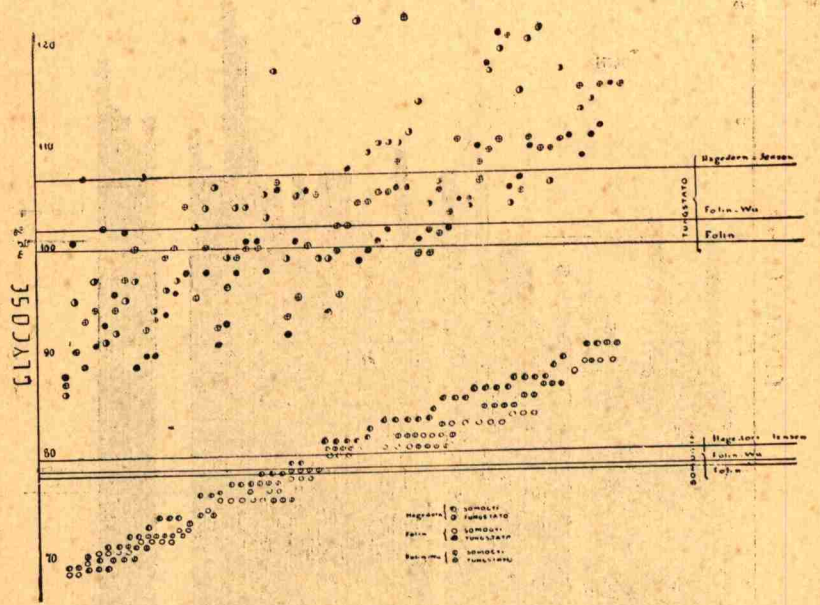












II

DETERMINAÇÃO DA GLYCEMIA EM DIABETICOS

Tivemos tambem a oportunidade de realizar os mesmos trabalhos em sangue de diabeticos.

O plano de orientação adoptado foi o mesmo, observando as mesmas condições de colheita de sangue, desproteinização, etc.

Como se poderá ver, nas hyperglycemias, a differença dada pelos dois processos de desproteinização é igual ou mesmo inferior á dos normaes.

Os numeros que representam os nossos resultados, confirmam o que acabamos de dizer:

DIABETICOS		Hagedorn			Folin			Folin-Wu		
N.	NOME	S	T	D	S	T	D	S	T	D
1	A. S. P.	138	162	24	128	155	27	130	154	24
2	B. B.	258	280	22	250	272	22	256	277	21
3	A. M. T.	181	214	33	181	215	34	185	310	35
4	P. S.	208	230	22	205	230	25	205	228	23
5	E. C.	117	137	20	110	127	17	110	128	18
6	N. F.	242	270	28	244	266	22	248	266	18
7	A. A. V.	295	314	19	306	327	21	306	325	19
8	M. B.	224	240	16	260	242	18	265	244	21
9	W. F.	193	213	20	200	220	20	195	113	18
10	C. R. R.	246	266	20	240	262	22	241	260	18
11	E. S. B.	236	264	28	230	256	26	228	260	32
12	Z. V.	296	316	20	300	322	22	302	320	18
13	R. A.	175	206	31	181	210	29	178	206	28
14	I. M. F.	246	260	14	250	266	16	252	266	14
MEDIA		218,2	240	22,6	220,3	240,7	22,9	221,5	239,7	21,9



Para verificar ainda esta diferença nas hyperglycemias fizemos elevar a taxa de concentração da glycese no sangue de um diabetico, com ingestão de assucar.

O sangue colhido de 1/2 em 1/2 hora, foi desproteinizado pelo Somogyi e tungstato.

Depois verificamos a sua concentração em glycese. O graphico a seguir nos mostra o parallelismo obtido nos dois processos e conseqüente constancia das diferenças.

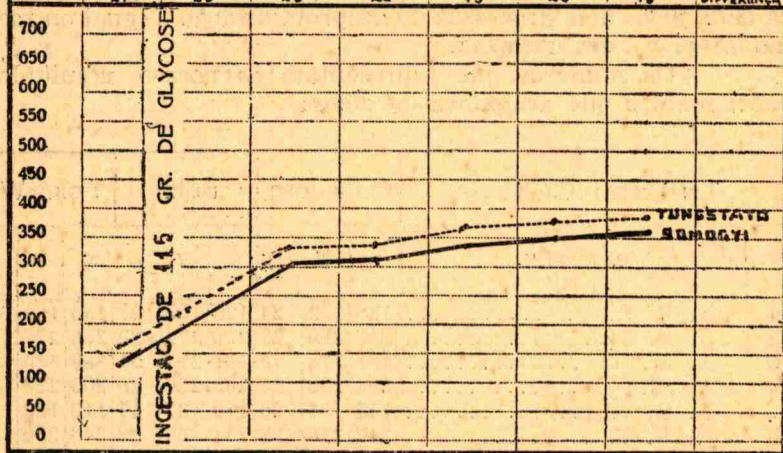
**PROVA DE TOLERANCIA DE GLYCOSE**

Nome M. C.

Deso. 66 Kg

**SANGUE**

GLYCOSE	J'EJUM	1/2 h.	1 h.	1 1/2 h.	2 h.	2 1/2 h.	3 h.	3 1/2 h.
mg %	164	296	330	338	364	370	379	
	143	276	310	318	345	350	360	SOMOGYI
	21	20	20	20	19	20	19	TUNGSTATO
								DIFFERENÇA



**URINA**

Volume	120 cc.	50 cc.			100 cc.		
Glycose	0	1,95%			++		

### III

#### DOSAGEM DAS SUBSTANCIAS REDUCTORAS NÃO FERMENTESCIVEIS

Procuramos investigar também si as S. R. n. f., quando determinadas por outros métodos, coincidem com a diferença obtida pela desproteinização com Somogyi e o tungstato.

Para isto utilizamos o método da fermentação e o da glycolyse.

Pelo primeiro a emulsão de Fermento Fleischmann é acrescentada ao sangue. A glycose é completamente fermentada. A desproteinização é feita em seguida, pelo processo do tungstato e depois a capacidade reductora do filtrado, determinada por um dos processos de dosagem, dá o valor destas S. R. n. f.

*Pela glycolyse:* — O sangue é deixado na estufa a 38° durante 24 horas. Sabemos já da existência nelle de um fermento glycolytico que destrói a glycose do sangue retirado da circulação. No fim das 24 horas, então, a capacidade reductora do sangue determinada como no método anterior, representa do mesmo modo as S. R. n. f.

Vejamos cada um destes métodos:

##### a) FERMENTAÇÃO:

Utilizamos sempre o Fermento Fleischman. Antes de adicionado ao sangue era este fermento levado por meio de centrifugações repetidas como aconselha Somogyi (43). Depois a sua emulsão em água distillada (1:10) era adicionada ao sangue. Cinco minutos foi o tempo de fermentação, mostrado por Somogyi, em 1927, necessário á fermentação completa do assucar verdadeiro do sangue.

E' a seguinte technica usada: 1 cc. de sangue e acrescentado a 7 cc. da emulsão do fermento. Esperam-se cinco mi-



nutos. Adicionam-se, em seguida, 1 cc. de tungstato de sodio a 10% e depois 1 cc de H<sup>2</sup>SO<sup>4</sup> 2/3 de N.

Agita-se. Filtra-se. No filtrado limpo faz-se a dosagem da substancia reductora. Nós utilizamos para isto o processo de Hagedorn. Um prova em branco, sómente com o levado, foi sempre feita.

Os resultados são mostrados no quadro abaixo:

### Substancias reductoras não fermentesciveis

N.	NOME	SOMOGYI	TUNGSTATO	DIFFERENÇA	S. R. M. I.
1	M. M. ....	76	102	26	25
2	G. S. F. ....	81	99	18	19
3	S. F. ....	77	99	22	21
4	W. E. ....	193	213	20	22
5	A. C. E. ....	77	104	27	26
6	C. R. R. ....	246	266	20	20
7	E. S. B. ....	236	264	28	24
8	A. N. C. ....	706	107	34	36
9	F. F. J. ....	69	89	20	23
10	J. C. ....	74	94	20	23
11	J. W. F. ....	69	98	29	32
12	O. V. ....	79	99	20	21
13	T. ....	88	106	18	24
14	Z. V. ....	296	316	20	22
15	R. A. ....	175	206	31	32
16	I. M. F. ....	246	260	14	15
17	P. M. B. ....	69	107	38	37
18	R. T. B. ....	83	111	28	25
19	C. B. D. ....	82	109	27	26
20	E. L. L. ....	72	97	29	26
21	P. M. ....	74	96	22	24
22	P. R. ....	85	107	22	23
23	M. F. ....	85	128	43	46
24	J. L. ....	87	121	34	31
25	S. C. ....	81	99	18	20
26	N. J. ....	71	91	20	20
27	L. A. P. ....	72	95	23	25
28	G. C. V. ....	86	117	31	31
29	M. G. ....	91	113	22	25
30	C. P. M. G. ....	78	117	39	25
31	G. G. ....	78	100	22	25



Neste quadro nós collocamos os mesmos resultados obtidos pela fermentação juntamente com as diferenças dos valores achados para a glycose no mesmo sangue, tratado pelo Somogyi e pelo tungstato.

Vê-se que elles se approximam muitissimo. — As divergencias, em parte, são devidas a erros proprios dos processos.

**B: GLYCOLYSE:**

Por este processo o sangue é collocado em pequenos tubos de hemolyse (1,5x8). Estes são arrolhados e postos em uma estufa a 38°.

Milne, Peters, Macleod e outros mostraram que este fermento glycolityco está no interior dos corpusculos do sangue.

Torna-se então necessario de quando em vez agitar os tubos para que, com a sedimentação globular não seja difficultada a acção dos fermentos sobre o assucar do plasma.

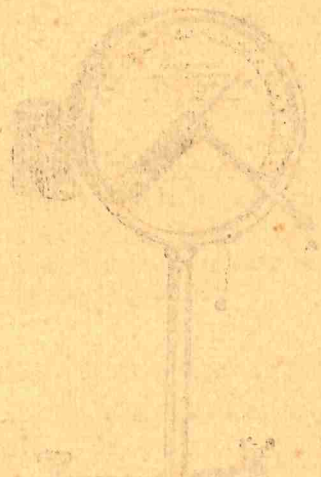
Nós dosamos nos diversos sangues a glycose após desproteinisação pelos dois processos já referidos.

Deixamos na estufa durante 24 horas e no fim desde tempo repetimos a mesma operação.

O resultado, como mostra o quadro, foi muito interessante. Com o Somogyi o valor de reduccão foi nullo ou quasi nullo após a glycolyse. Com o tungstato elle foi igual á differença obtida antes da glycolyse.

N.	NOME	IMMEDIATO				24 HORAS A 38 °		
		SOMOGYI	TUNGS	DIFF.	S. R. n. I.	Som	Tungs.	Diff.
1	M. G. ...	91	113	22	25	1	24	23
2	C. P. M. ..	78	117	39	40	0	43	43
3	G. G. ..	78	100	22	25	1	24	22
4	E. B. S.	308	327	19	18	0	19	19
5	C. A. F. ...	68	86	18	20	0	18	18
6	A. M. ....	68	82	14	17	0	19	19
7	B. M. ....	78	103	25	28	0	30	30
8	A. J. O.	79	101	22	27	2	30	28
9	A. B. S. ...	122	158	36	34	2	33	31
10	A. J. O. ...	74	103	29	29	2	30	28
11	E. J. L. ...	194	209	15	18	6	14	14
12	J. P. ....	85	103	18	20	0	16	16
13	F. A. C. ...	314	338	24	21	0	20	20





IV

#### EMPREGO DA BALANÇA DE TORÇÃO

Bang introduziu a balança de torção em chimica biologica, a qual nos permite uma determinação rapida, com sensibilidade de milligrammo, pondo de parte a preocupação de se evitar a coagulação do sangue.

Este é retirado por picada no dedo ou no lobulo da orelha. Um pequeno papel chupão, apropriado para este fim, previamente pesado, recolhe a gotta resultante da picada. Colocado em uma alça da balança, seu peso, então, é tomado em poucos segundos.

A differença entre este peso do papel embebido com o sangue e do mesmo papel antes da embebição dá a quantidade de sangue que vae ser utilizada para a dosagem.

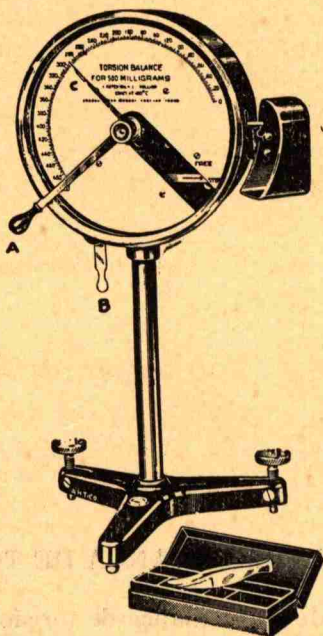
O manejo da balança é simples: — Não vamos, aqui, descrevel-o porquanto a sua technica póde ser encontrada em muitos manuaes de physica.

Como se tratava de uma experimentação, necessitando de controle, nós não fizemos a colheita do sangue por picada no dedo, e sim por punção venosa.

O material, assim colhido em quantidade maior, era

em parte desproteínizado pelo Somogyi, conforme foi descrito anteriormente.

Outra parte era então distribuída em gottas nos vários papéis chupões e pesada na balança de torção.



Como não dispunhamos do verdadeiro papel de Bang que não dá redução, utilizamos o Schleicher und Schüll n. 597.

Este foi lavado, desfeito em água destilada, e depois feito tomar uma espessura maior. Depois de secco, foi cortado em pequenos quadrados, com o peso de 70 mg. em média (variação de 60 a 80 mg.).

Os papéis, contendo sangue, depois de pesados, eram collocados em tubos de ensaio seccos, e logo era feita a extração juntamente com a desproteínização.

Para isto nós usavamos não as soluções do Smogyi na concentração, já descriptas, mas as mesmas diluídas:

Solução A:

A 100 cc. da solução I, aconselhada por Somogyi adicionar 325 cc. de  $H_2O$ .

Solução B:

NaOH a 0,15 N.

Nos tubos de ensaio (contendo os papéis) collocava-



mos 3,5 cc. da solução A; deixávamos alguns minutos e facilitávamos a extracção do sangue,, desmanchando os papeis com um bastão de vidro. Ajuntávamos depois 0,5 cc. da solução B, agitávamos e filtrávamos.

O aquecimento rapido em banho-maria, do precipitado accelerava a filtração. Elle terá que ser cuidadoso e não exagerado porque expõe ao perigo de concentração.

2 cc. deste filtrado, correspondendo á metade do sangue pesado, é tomado para a determinação pelo Hagedorn.

Um papel igual, mas sem sangue, era submettido á mesma prova. O valor de reducção que este fornecesse era subtrahido do que fosse achado para o que continha sangue.

O resultado, assim obtido, era comparado com o fornecido pela determinação no mesmo sangue desproteinizado directamente, sem o emprego do papel.

No quadro abaixo vêm-se os nossos resultados:

N.	Nome	Filtrado mg %	1º. Papel		2º. Papel		3º. Papel	
			Peso	Glycose	Peso	Glycose	Peso	Glycose
1	B. S. L. ...	81	80 mg	87	110 mg	84		
2	A. T. ....	138	124 mg	141	93 mg	130		
3	M. B. ....	224	164 mg	200	120 mg	220		
4	G. S. P. S. ...	81	84 mg	83	118 mg	89		
5	S. F. ....	77	86 mg	72				
6	C. R. R. ...	318	82 mg	321	108 mg	315	107	320
7	E. B. S. ...	308	121 mg	298	145 mg	300	140	296
8	A. N. ....	78	72 mg	75	98 mg	79	74	74
9	A. D. F. ...	75	130 mg	73	95 mg	75	120	78
10	J. P. ....	116	110 mg	112	86 mg	116	116	112

V

CONSERVAÇÃO EM PAPEL

Muitas vezes o exame do sangue não pôde ser feito logo após a colheita. E' necessario, então, ajuntar uma substancia que, inhibindo a acção glycolytica do fermento, evita o abai-xamento da glycose.

A conservação mesmo assim nem sempre é absoiuta.

Outras vezes pode-se desproteinisar o sangue e conser-var o filtrado, mas isto não é possível em todos os meios.

Dresler, de Berlim, em 1924, experimentou a conser-vação do sangue em papel. Este era colhido pela mesma techni-ca mostrada para o caso da balança de torção. Depois, em vez de ser examinado logo, era deixado seccar ao ar, e a determina-ção feita muitas horas depois.

Diaz, Cuenza e Salomon criticaram o processo e mos-traram-no imperfeito porque a conservação não foi observa-da nos seus trabalhos.

Em 1928 volta Dresler (44), apontando os erros que tiveram aquelles pesquisadores mantendo os papeis em tubos fechados, evitando pois, a evaporação e facilitando a glycolyse.

Se tal processo fôr de facto seguro, as vantagens delle decorrentes são enormes. Permittirá a colheita do sangue em um lugar e o transporte simples para outro distante, onde a



dosagem possa ser feita. Experimentamos. O sangue, em quantidade correspondente a 0,1 cc. foi distribuido nos papeis. Destes foi a glycose extrahida 6, 24, 48, 72 horas depois e determinada.

Os resultados, como indica o quadro abaixo não são constantes. Nos casos normaes de glycemia a conservação se faz mais ou menos bem durante o tempo observado. Nas hyperglycemias, porém, a baixa foi sempre notada com o correr do tempo.

**PAPEL**

N.	SEM PAPEL	6 horas	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
1 . . . . .	70	66	68		68	
2 . . . . .	77	86	74			
3 . . . . .	76	82	78			
4 . . . . .	81		76	80	71	85
5 . . . . .	87		85	82		71
6 . . . . .	89		86		88	92
7 . . . . .	83	88	80	84		78
8 . . . . .	138	142	140	122		146
9 . . . . .	76		80	84	92	
10 . . . . .	81	82	74		80	
11 . . . . .	246		206	216		
12 . . . . .	69		68	68	70	68
13 . . . . .	246		238	216	198	

Alguns papeis foram embebidos previamente com uma solução a 2% de NaFl e depois deixados seccar. Mesmo nestes a glycolyse foi regra, conforme mostram os numeros que se seguem.

Experiencia I  
Glycose no sangue — 194 mg. %  
Conservação em papel.

HORAS	Com fluoreto	Sem fluoreto
24	178	160
48	176	150
72	146	140

Experiencia II  
Glycose no sangue — 85 mg. %  
Conservação em papel.

HORAS	Com fluoreto	Sem fluoreto
24	80	74
48	76	68
72	58	66



## VI

### EMPREGO DO SOMOGYI Á DEFECÇÃO URINARIA

Por suggestão do Prof. Baeta Vianna fizemos tambem a applicação do Somogyi á defecção da urina.

E' do conhecimento de todos encerrar a urina um grande numero de substancias reductoras; e que estas, de natureza glucidica ou não, normaes ou accidentaes, muito prejudicam a determinação. Costuma-se dizer commumente que a urina normal não contem glycese. Na verdade ella contem uma certa quantidade, mas insufficiente para reduzir os reactivos commumente utilizados.

A urina pode-se tornar muito concentrada e as substancias reductoras de natureza não glucidicas são capazes de accusar traços de redução nos reactivos empregados. Fica a duvida: effeitos de concentração? ou glycese presente? Num e noutro caso temos que remover estas substancias e repetir a pesquisa.

O processo classico de defecção urinaria é a addição de sal de chumbo, ou reactivo de Courtonne. Nós o empregamos sempre juntamente com o Somogyi e em todos os casos, como teremos a oportunidade de mostrar, elle se apresentou inferior ao primeiro.

Foram tomadas urinas normaes e pathologicas. Daquellas nós fizemos variar a concentração, seja por evaporação na estufa, seja pela addição de constituintes normaes taes como uréa e acido urico.

As urinas pathologicas investigadas continham albumina ou glycose.

Todo poder de redução foi determinado pelo Hagedorn e calculado como equivalente em glycose. Antes de se addicionar o Somogyi, as urinas eram neutralisadas. A technica usada foi a mesma que para o sangue: 1 cc. de urina mais 8 cc. da solução I mais 1 cc. de NaOH. Filtração.

Os resultados foram os seguintes:

A

Urina Normal

a) concentração normal

N.	NOME	Redução Total	Somogyi	Pb Courtonne
1	A. P. V. ....	0,298%	0,224%	0,274%
2	G. S. P. S. ....	0,333%	0,240%	0,314%
3	O. M. ....	0,266%	0,182%	0,238%
4	T. G. B. ....	0,280%	0,204%	0,278%
5	J. C. ....	0,370%	0,300%	0,355%

b) Urina concentrada 4 vezes por evaporação na estufa.

N.	NOME	Redução Total	Somogyi	Courtonne	Urina
1	O. M. ....	0,266	0,182	0,238	Normal
		0,600	0,588	0,600	conc. 4x
2	T. G. B. ....	0,280	0,204	0,278	Normal
		0,764	0,740	0,752	conc. 4x
3	J. C. ....	0,370	0,300	0,355	Normal
		0,544	0,475	0,520	conc. 4x



c) Urina artificialmente concentrada em acido urico e uréa.

Uréa gr. o/o	Acido urico gr. o/o	R. Total mg. o/o	Somogyi mg. o/o	Courtonne mg. o/o
4,3	0,15	96	87	100
8,7	0,30	199	172	198
8,7	0,50	199	172	185
8,7	0,70	199	171	199
20,0	0,30	197	173	188
30,0	0,30	197	172	188
40,0	0,30	197	172	188
50,0	0,30	197	170	180

B

Urinas Pathologicas

a) albuminuricas:

ALBUMINA	REDUCCÃO TOTAL	SOMOGYI	COURTONNE
0	0,251	0,186	0,209
1,25%	0,254	0,184	0,209
2,50%	0,255	0,186	0,232
5,0 %	0,272	0,186	0,247

b) urinas glycosuricas

N.	NOME	Reducção Total	Somogyi	Courtonne
1	C. R. R. ....	67,5%	58,5%	62,0%
2	E. B. S. ....	64,5%	59,5%	57,0%
3	E. J. L. C. ....	24,4%	22,4%	24,4%
4	F. A. C. J. ....	29,0%	28,0%	25,5%
5	M. C. ....	21,5%	19,5%	21,5%

Vê-se pela analyse destes numeros que o Somogyi possibilita uma defecação mais completa, pois dá valores de redução inferiores. Com o chumbo os resultados são mais inconstantes.

Em algumas urinas, artificialmente concentradas pudemos, com reactivo de Benedict, mostrar traços de redução. Desproteínizamos a seguir, estas urinas pelo Somogyi e pelo Courtonne.

Repetimos a pesquisa: a urina defecada pelo chumbo deu ainda uma ligeira redução e tornou o reactivo turvo; enquanto que o tubo contendo a urina defecada pelo Somogyi permanecia limpido e sem redução.

Como um complemento á dosagem da glycose urinaria, empregamos tambem o methodo de fermentação. Utilizamos para isto do aparelho de Lohnstein, que é muito simples. A concentração de glycose é determinada pela elevação do mercurio em um dos ramos do aparelho.

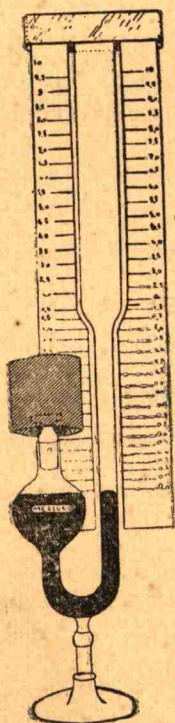
$\frac{1}{2}$  cc. de urina é collocado no ramo menor e dilatado, acompanhada de 3 gottas de emulsão de fermento.

O mercurio, no ramo mais fino, é elevado por inclinação do aparelho até o ponto 0. Arrolha-se e leva-se para a estufa ou banho-maria a 38 grãos, durante 3 ou 4 horas. No fim deste tempo a glycose é calculada directamente pela elevação do mercurio, produzida pelo desenvolvimento de CO<sup>2</sup>. Esta leitura pôde ser feita a 35° na escala da direita ou a 20° á esquerda do aparelho.



O quadro abaixo nos mostra os resultados obtidos na dosagem realizada na mesma urina por redução e por fermentação.

N.	NOME	Redução grs. por 1000	Fermentação grs. por 1000
1	C. R. R. ....	58,5	52,
2	E. B. S. ....	59,5	59,0
3	E. J. L. C. ....	22,4	20,0
4	F. C. J. ....	18,0	19,0
5	M. C. ....	19,5	19,5



### CONCLUSÕES

1.º) A glycose no sangue determinada após a desproteinição pelo Somogyi dá resultados sempre mais baixos do que depois de tungstato.

2.º) A diferença é mais ou menos constante, variando de 17 a 43mg.%, com a media dos valores em 24,6 quando o Hagedorn-Jensen é applicado.

3.º) Esta não cresce nas hyperglycemias.

4.º) Provas de fermentação e glycolyse demonstraram ainda que uma tal diferença é devida á presença de substancias reductoras não fermentesciveis.

5.º) As glycemias achadas por nós em individuos normaes variaram assim:

HAGEDORN	{ 69 — 89 mg% — após Somogyi
	{ 89 — 107 mg% — após Tungstato
FOLIN	{ 68 — 88 mg% — após Somogyi
	{ 87 — 120 mg% — após Tungstato
FOLIN - WU	{ 69 — 90 mg% — após Somogyi
	{ 89 — 122 mg% — após Tungstato

6.º) A balança de torção pôde ser empregada, e o sangue dos papeis extrahido scom as soluções utilizadas pelo Somogyi, com resultados satisfatorios.

7.º) Em nossas mãos a conservação da glycose no sangue em papeis de filtro não foi perfeita.

8.º) Applicado á urina o processo de Somogyi elimina mais substancias reductoras do que o Courtonne.



BIBLIOGRAPHIA

- 1 — LEPINE — Le sucre du Sang — 1921.
- 2 — BANG — Mikromethoden zur Blutuntersuchung — 1922.
- 3 — OTTO NIELSON — Bioch. Journal. 22:1490 — 1928.
- 4 — BODANSKY — Introduction to Physiolog. Chem. — 1927.
- 5 — WRIGHT — Applied Physiology — 1935.
- 6 — SHIRLEY SWEENEY — Arch. of. Int. Med. 40:818 — 1927.
- 7 — AUBERTIN — L'insuline — 1926.
- 8 — SEALE HARRIS — J. of. Am. Med. — Ass. 83:729 — 1924.
- 9 — SEALE HARRIS — Am. J. Dig. Dis. and. Nut. 2:257 — 1935.
- 10 — FOLIN-BERGLUND — J. of. Biol. Chem. 51:213 — 1922.
- 11 — HOEGLER-ÜBERRACK — Bioch. Zeitsch. 155:125 — 1925.
- 12 — SOMOGYI — J. of. Biol. Chem. 78:117 — 1928.
- 13 — SOMOGYI — J. of. Biol. Chem. 90:725 — 1931.
- 14 — SOMOGYI — J. of. Biol. Chem. 103:665 — 1933.
- 15 — DUMARZET — Bull. Soc. Chim. Biol. 17:1163-1935.
- 16 — LAWRENCE — Brit. Med. J. 1:516 — 1926 (Citado por Rabinowitch).
- 17 — FRIEDENSON — Arch. of. Int. Med. 43:633 — 1929.
- 18 — TRUMPER e CANTAROW — Bioch. in Int. Med. — 1932.
- 19 — MILLER e LEWIS — J. of. Biol. Chem. 98:141 — 1932.
- 20 — LEWIS-BENEDICT — J. of. Biol. Chem. 20:61 — 1915 (citado por F. Thivolle).
- 21 — BERTRAND — Bull. Soc. Chim. Biol. 35:1285 — 1906 (citado por F. Thivolle).
- 22 — FONTES THIVOLLE — Bull. Soc. Chim. Biol. 4:353 — 1927
- 23 — BANG — Obra citada.
- 24 — BAUDOIN — Bull. Soc. Chim. Biol. Tome X; 977 — 1928.
- 25 — JONESCO — Bull. Soc. Chim. Biol. 10:252 — 1928.
- 26 — WEST, Scharles e Peterson — J. of. Biol. Chem. 82:137 — 1929.
- 27 — FUJITA A. e IWATAKE D. — Biochem. Ztschr. 242:43 — 1931.
- 28 — VAN SLYKE — J. of. Biol. Chem. 64:625 — 1925.
- 29 — RABINOWITCH — Bioch. Journal 22:752 — 1928.
- 30 — SOMOGYI — J. of. Biol. Chem. 90:731 — 1931.
- 31 — SOMOGYI — J. of. Biol. Chem. 75:33 — 1927.
- 32 — BENEDICT — J. of. Biol. Chem. 76:457 — 1928.
- 33 — BENEDICT NEWTON — J. of. Biol. Chem. 12:361 — 1929.
- 34 — BENEDICT — J. of. Biol. Chem. 72:367 — 1927.
- 35 — HUNTER-EAGLES — J. of Biol. Chem. 80:615 — 1928.
- 36 — VAN SLYKE — obra citada de 1925.
- 37 — SOMOGYI — J. of. Biol. Chem. 86:655 — 1930.
- 38 — HAGERDORN-JENSEN — Biochem. Ztscher 135:45 — 1923.
- 39 — COLE — Practical Physiological Chemistry — 1928.
- 40 — AGGEO PIO SOBRINHO — Microdosagem da glycose — These — 1927.
- 41 — FOLIN O. J. of. Biol. Chem. 82:83 — 1929.
- 42 — HAMMARSTEN — Lehrbuch der Physiol. Chemie — 1925.
- 43 — SOMOGYI — Obra citada de 1927.
- 44 — KURT DRESEL — Bioch. Ztschf. 194:466 — 1928.



# ERRATA

Além de outros pequenos descuidos que o leitor inteligente facilmente perceberá, escaparam á revisão os seguintes:

<i>Página</i>	<i>Linha</i>	<i>Como está:</i>	<i>Como deve ser:</i>
7	9	desapercebidas	despercebidas
9	14	separa	separado
10	3	proivnha	provinha
10	7	Berenard	Bernard
10	14	a	á
10	25	glycosura	glycosuria
11	9	que glycese	que a glycese
12	10	vant'tHoff	van t' Hoff
12	23	Howarth	Haworth
13	5	das glycofuranoses	das glycopyranoses
13	15	e esta, que	esta, e que
16	19	que acção	que a acção
20	28	para biose	parabiose
28	33	assucar	glycose
31	7	Thivoelle	Thivolle
31	11	Baudoin	Baudouin
38	19	nas primeiras	nos primeiros
44	23	500 cc.	50 cc.
47	8	Jensen, que	Jensen, e que
69	3	evita	evite
73	21	ao primeiro	a este ultimo
75	5	96 — 87 — 100	192 — 174 — 200

