

SESION DE POSTERS IV

Enzimas

POSTER N° 62

ACTIVIDAD LEUCINA AMINOPEPTIDASA EN PLASMA E HIGADO DE RATA BAJO LA ADMINISTRACION DE TIACETAMIDA. B. Feijóo, C. Toledo, A. Quenada, C. Pita y C. Parajes. Departamento de Bioquímica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense, Madrid.

La leucina aminopetidasa (LAP), aminoacil péptido hidrolasa, cataliza la hidrólisis de los leucineptidos y de la L-leucinamida (E.C.3.4.11 bis 3.4.11.4). Variaciones de la actividad enzimática en plasma son indicativas de trastornos hepáticos y biliares. La tiacetamida (TAM) induce el tipo de cirrosis experimental que más se asemeja a la humana (Schweitzer y cols., 1957).

La TAM se administró a ratas vía intraperitoneal durante 30 días en dosis de 50 mg/kg peso cuerpo/día. La actividad enzimática se determina por el método de Appel utilizando L-leucina-p-nitroanilida como sustrato (Bergmeyer, 1974) en plasma e hígado de ratas control y bajo la administración de TAM. En plasma se han ensayado diferentes condiciones de tiempo y temperatura de incubación. En hígado se utilizaron diferentes fracciones subcelulares.

El plasma de animales TAM mostró un valor 30% superior al de los controles, mientras que el hígado no presentó variaciones respecto al control. Estos resultados no reflejan una alteración en la síntesis de la proteína enzimática ni en la capacidad funcional de la misma.

- Schweitzer C.H. y Schaetz G. (1957) in *Pathologie Diagnostik und Therapie der Leber Krankheiten*. 40. *Freburger Symposium*, pp. 166, Springer Verlag.
- Bergmeyer H. (1974). *Methoden der Enzymatischen Analyse*, pp. 295. Verlag Chemie Weinheim/Bergstr.

POSTER N° 63

RELACION ENTRE LA MONOAMINO OXIDASA SERICA Y LA FIBROSIS HEPATICA.

J.Coba, F.Redondo, E.Miravalles, T.Pascual, M.Muñoz, E.Bergon J.Carrasco, R.Martinez-Cabruja. Servicios de Anatomía Patológica y Bioquímica/Hospital Central de la Cruz Roja / Avda. Reina Victoria, 26 / Madrid-3.

Objetivo: Demostrar que el aumento de la enzima monoamino oxidasa en sangre está relacionado con el grado de fibrosis hepática.

Descripción: En 54 pacientes, 6 con insuficiencia cardíaca, 13 con síndrome tóxico y 35 con enfermedad hepática, se determinó en suero la monoamino oxidasa y se visualizó al microscopio la biopsia hepática para estudiar el grado de fibrosis. 8 de los 35 enfermos hepáticos eran consumidores habituales de elevadas cantidades de alcohol. 2 tenían cirrosis establecida y en 6 las lesiones hepáticas eran mínimas, estando en todos la MAO elevada. 6 pacientes presentaban un grado severo de fibrosis hepática y MAO elevada. 6 enfermos presentaban una clínica sugestiva de hepatitis aguda y no se pudo establecer una relación entre el grado de fibrosis y niveles de MAO. 8 enfermos presentaban una hepatitis crónica portal, persistente o claramente reactiva asociada a problemas intestinales o de la vesícula biliar. En todos ellos excepto uno los niveles de MAO eran bajos. Enfermos con el denominado síndrome tóxico presentaban unos valores normales de MAO excepto en 2 que encontramos cifras francamente elevadas coincidiendo con cifras también elevadas de lípidos, colesterol y bilirrubina, fosfatasa alcalina y transaminasas.

Tres pacientes con cirrosis biliar primaria biopsiados, los niveles de MAO eran muy bajos. Creemos que esta relación con el depósito en hígado de cobre ya que la MAO necesita un nivel en sangre de cobre apropiado. En los pacientes con insuficiencia cardíaca las cifras de MAO eran normales.

Material y Métodos: Determinación de MAO por métodos colorimétrico midiendo la absorbancia del p-benzaldehído-azo-naftol a 500 nm.

Conclusiones.- La determinación en suero de la monoamino oxidasa puede aportar un dato muy interesante del estado histopatológico hepático de los pacientes.

ALA-DEHIDRASA ERITROCITARIA EN LAS ANEMIAS, RENALES CRONICOS Y SANGRE DE CORDON
D. Pérez-Sandoval, J. Rico y A. Juanes. Instituto Investigaciones Clínicas. Facultad de Medicina España n° 36. Salamanca

Se hace un estudio de la ALA-D en las anemias ferropénicas, secundarias y renales crónicas con el objeto de ver el comportamiento de la enzima en las anemias de distintas etiología.

Para este estudio utilizamos el método Standard Europeo puesto a punto por nosotros en 41 casos control, mediante determinación doble, encontrando una $r = 0.983$ y una $P < 0.001$, que estadísticamente es buena.

La cifra media de 20 controles fué de $\bar{x} = 51,4 \pm 6,2$; en las anemias ferropénicas se estudian 41 casos con una cifra $\bar{x} = 77,8 \pm 14$. De anemias secundarias vimos 33 casos y dieron unos valores de $\bar{x} = 49,4 \pm 12,8$. En renales crónicas que fueron 34, la cifra $\bar{x} = 31,0 \pm 5$ y en la sangre de cordón fué $63,8 \pm 10,1$.

Resumiendo diremos que el método en prueba doble va bien; que en las anemias ferropénicas la actividad de la ALA-D es superior a los controles en el 50%. Las anemias secundarias dan una cifra semejante a los controles, y en las renales crónicas la cifra de ALA-D es mas baja que los controles, lo cual diferencia esta anemia de los renales de las otras dos anemias anteriores. En la sangre de cordón, vemos cifras superiores a los controles, en lo cual coinciden todos los autores que realizaron este estudio.

DETERMINACION AUTOMATIZADA DE URATO CON URICASA ACOPLADA A PEROXIDASA

Elena SANZ y Antonio HERNANDEZ

Servicio de Laboratorio, Res. San. de la Seg. Social, Guadalajara y Departamento de Fisiología, Fac. de Medicina, Universidad de Alcalá de Henares.

Un método enzimático de determinación de urato basado en las reacciones catalizadas por uricasa y peroxidasa, con formación de un azocompuesto de A. max. a 578 nm. (Peridochrom, Boehringer Mannheim), ha sido adaptado al analizador automático "Bichromatic Analyzer VP" (Abbott).

En un estudio sistemático de las condiciones óptimas del ensayo, se adoptaron las siguientes: longitudes de onda: 500/600 nm., tiempo y temperatura de reacción: 6 min. y 37 °C, respectivamente. Empleando un tiempo de elución de la tira reactiva de 15 min., al reconstituir el reactivo, se obtuvieron absorbancias más estables que con los 5 min. recomendados por el fabricante. La estabilidad del reactivo, una vez reconstituido, fué de hasta 4 días a 4 °C.

La imprecisión del método se valoró a niveles de concentración de urato de 260.6 y 432.5 $\mu\text{mol/l}$ (4.38 y 7.27 mg/dl), obteniéndose C.V. promedios de 0.96 %, intraensayo, y de 2.50 %, interensayos. La validación de los resultados obtenidos por este método se hizo por comparación con los del método "Uricaqueant" manual, en 50 muestras de pacientes, no seleccionadas. El coeficiente de correlación entre ambos métodos fué de 0.98.

LA DETERMINACION DE ENZIMAS LISOSOMALES Y OBTENCION DE VALORES NORMALES

M.T. Villar, J. Narbona, P. De Pablo, I. Villa.
Unidad Patología Molecular. Departamento Bioquímica. Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona.

Las enfermedades lisosomales congénitas son tesaurismosis hereditarias debidas a la pérdida más o menos completa de actividad o a la ausencia de un enzima lisosomal. Como consecuencia de ello se acumulan sustancias en los lisosomas de la mayor parte de las células del organismo. El diagnóstico preciso de estas enfermedades necesita generalmente de un análisis multidisciplinario, siendo el estudio enzimático junto con el ultraestructural decisivo en la mayor parte de los casos.

Hemos puesto a punto las técnicas descritas por Van Hoof y Hers (1) para la determinación de la mayor parte de las actividades enzimáticas lisosomales. El Material biológico utilizado han sido leucocitos, plasma, lágrimas, orina y biopsia hepática.

Presentamos los valores normales obtenidos en nuestro laboratorio en leucocitos y plasma para los siguientes enzimas: α -L-Fucosidasa, α -D-Galactosidasa, β -D-Galactosidasa, α -D-Glucosidasa, β -D-Glucosidasa, β -D-Glucuronidasa, N-Acetil- α -D-Galactosaminidasa, N-Acetil- β -D-Galactosaminidasa, N-Acetil- α -D-Glucosaminidasa, N-Acetil- β -D-Glucosaminidasa, p-nitrofenil-fosfatasa ácida, Sulfatasas A, B y C, β -Xilosidasa, Esfin gomielinasa.

Los resultados se expresan en miliunidades de actividad enzimática por miligramo de proteína.

Hemos detectado una leucodistrofia metacromática juvenil, dos Tay-Sachs, un Nieman-Pick tipo C y tenemos por completar el estudio de tres probables Hurler.

(1) Van Hoof, F. and Hers, H.G. The abnormalities of lysosomal enzymes in mucopolysaccharidoses. Eur. J. Biochem. 7, 34 (1.968)

ANALISIS DISCRIMINANTE DE NUEVE ENZIMAS SERICOS EN ENFERMEDADES DEL PARENQUIMA HEPATICO

J.M. Queraltó, M. Cortés, J. Balanzó

Servicio de Bioquímica
Hospital de la Santa Cruz y San Pablo. Barcelona.

En una población de 281 pacientes con enfermedad del parénquima hepático distribuidos en los siguientes grupos: patología inflamatoria (21), cirrosis (210), neoplasias (21), cirrosis e inflamación (12) y cirrosis y neoplasia (17) se determinó la actividad sérica de aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa (Wroblewski, 25°C) LDH y GLDH (métodos recomendados por la Sociedad Alemana de Química Clínica, 25°C), fosfatasa alcalina (Bessey-Lowry, expresado a 37°C), amilasa (Caraway, 37°C), gamma glutamil transferasa (Szasz, 25°C), oxidasa de la ceruloplasmina (Schosinski, 30°C), y colinesterasa (butirilcolina, 25°C). Con los resultados se obtuvieron cuatro funciones discriminantes lineales, explicando entre las dos primeras más del 85% de la varianza total. Como criterio de discriminación se utilizó la maximización de la V de Rao. Con el fin de resaltar más las variables que mejor caracterizan cada función discriminante se les aplicó una rotación por el método Varimax.

En la primera función discriminante (que explica el 67% de la varianza), los principales factores discriminantes son la alanina aminotransferasa y la actividad oxidasa de la ceruloplasmina. En la segunda función discriminante (que explica un 19% de la varianza total) los factores discriminantes más importantes fueron la colinesterasa, la gamma glutamiltransferasa y la amilasa.

Utilizando estas dos funciones discriminantes se obtuvo un 68% de casos correctamente clasificados. La mejor clasificación correspondió al grupo de cirrosis (74%) y la peor clasificación al grupo de neoplasias (38%) al adjudicar un 35% de casos al grupo de cirrosis y neoplasia.

DETERMINACION DE LAS ENZIMAS ALDOLASA, CPK, JUNTO CON OTROS PARAMETROS, EN UNA HELMINTIASIS TISULAR: TRICHRONELLA SPIRALIS

M. MORILLO-VELARDE, J.C. BUREO, J. REMON.

DEPARTAMENTO BIOQUIMICA HOSPITAL Rv. S. PERPETUO SOCORRO.

DIRECCION: M. MORILLO-VELARDE - N. SAN FRANCISCO, 2 BADAJOZ.

RESUMEN:

Cinco miembros de una familia que ingresan en nuestro Hospital, afectados de una Tricrinosis, confirmada por Biopsia muscular.

Cuadro Clínico: Diarreas, fiebre, cefaleas, algias, musculatura edema facial, hemorragias subconjuntival.

Se determinan los siguientes parámetros: Hemograma, GOT, GPT, LDH, IgE y en especial: CPK, Aldolasa. Bacteriológicos: Test de floculación Latex.

Métodos utilizados: Métodos Cinéticos, IgE = RIA.

Tratamiento: Tiabendazol, Corticoides.

CONCLUSIONES: Nos encontramos ante una enfermedad inflamatoria vascular de etiología infecciosa parasitaria con elevación de los parámetros antes indicados y las enzimas tisulares, Aldolasa y CPK, retornando a sus valores normales al final del tratamiento. Si bien se aprecia una diferencia significativa en el tiempo necesario para conseguir la normalización en función del tratamiento empleado.

ALTERACIONES ENZIMATICAS SERICAS DEL METABOLISMO GLUCIDICO EN CANCER. Garcia-Melgar J.R., Otero J. e Iglesias J.. SERVICIO DE BIOQUIMICA. CENTRO ONCOLOGICO REGIONAL. LA CORUÑA.

Debido que Warburg encontró diferencias entre el metabolismo glucídico de los tejidos normales y neoplásicos, se han estudiado diversas enzimas de este metabolismo en varios tejidos, describiéndose actividades más elevadas de ciertas enzimas en los tumorales. Weber y Col. (x) estudiaron la estrategia de la célula tumoral, observando un aumento de síntesis de las enzimas glicolíticas y de la vía de las pentosas sobre las enzimas anabólicas. En el presente estudio, se intenta valorar si estas alteraciones tisulares se manifiestan en sangre periférica.

Se han valorado las enzimas LDH, PHI, PFK, PGM, G-6-PDH y FDP en el suero de 57 donantes y 94 enfermos tumorales, distinguiendo entre tumores sólidos (pulmón y esófago) y no sólidos (linfomas Hodgkin y no Hodgkin).

Los valores medios obtenidos muestran un aumento de la PFK en todos los tumores estudiados excepto en LH; la PGM disminuye su actividad excepto en LNH; la FDP presenta una disminución discreta o es similar a lo normal, salvo en cáncer de pulmón en que está algo elevada; y por último, la G-6-PDH está elevada en todos.

Se han valorado los cocientes LDH/PHI, PFK/FDP y PGM/G-6-PDH, siendo el primero más alto en los tumores no sólidos que el valor medio normal, mientras que en los sólidos es inferior a este. El cociente PFK/FDP está elevado en todos los tumores, y finalmente el PGM/G-6-PDH presenta un comportamiento diverso.

(x) Weber G. : Enzymatic Strategy of the cancer cell. In "Cancer Enzymology" pp. 63-68. Academic Press. New York 1976

VALORACION DE LOS ISOENZIMAS DE CPK (2.7.3.2) EN EL SUFRIMIENTO NEONATAL.

J. González Vilchez, M.D. Lluch Fernández, A. Vallis S. de Puerta.

Departamentos de Bioquímica Clínica y Pediatría. Hospital Universitario. Sevilla.

Dirección: Laboratorio de Enzimas. Dpto Bioquímica Clínica. Hospital Universitario. Sevilla.

La presente comunicación tiene por objeto el estudio de las posibles alteraciones de los isoenzimas de la CPK en pacientes afectados de sufrimiento neonatal. Para ello se han escogido 50 niños, que se han dividido en dos grupos de 25 cada uno. El primero de ellos se ha utilizado como control, y el segundo ha estado integrado por niños diagnosticados clínicamente de sufrimiento neonatal.

En el suero de todos ellos se llevó a cabo la determinación de la actividad de la CPK total, así como de sus isoenzimas entre las 24 h. y las 48 h. después del parto.

El método utilizado fue el de Takahashi K. Creatine Phosphokinase Isoenzymes of Human Heart Muscle and Skeletal Muscle. Clinica Chimica Acta. 38. 285. 1972.

De los resultados obtenidos se deduce que los valores de actividad de CPK total y de sus isoenzimas se elevan respecto al grupo control de la experiencia. Habiéndose observado las diferencias más significativas para el isoenzima B B.

APORTACION AL ESTUDIO METABOLICO DE LAS PORFIRINAS.

DIAGNOSTICO BIOQUIMICO DIFERENCIAL DE SUS ALTERACIONES.

J. M. GONZALEZ LOPEZ

Servicio de Análisis Clínicos (Bioquímica). Ciudad Sanitaria "José Antonio Primo de Rivera" de la Seguridad Social de Zaragoza.

Con el fin de realizar el diagnóstico bioquímico diferencial de los diferentes tipos de porfiria, se valoran en orina de veinticuatro horas los siguientes metabolitos: Acido delta-aminolevulínico (ALA), porfobilinógeno (PBG), Uroporfirinas y Coproporfirinas; así como también el plomo. Se procede así mismo a determinar en sangre el hematocrito, hemoglobina, plomo y ALA-Dehidraza eritrocitaria.

Se presentan los resultados obtenidos en los casos pertenecientes a nuestra casuística, y que corresponden a: protoporfiria eritropoyética secundaria a intoxicación por plomo (saturismo), porfiria hepatocutánea tarda, coproporfiria y Porfiria variegata.

Se comparan los resultados obtenidos con los de una muestra de población normal estudiada y se realiza el análisis estadístico de los mismos.

PORFIRIA EN INSUFICIENCIA RENAL CRONICA (I.R.C.)
 J.Rico; D.P-Sandoval; A.Juanes; J.M.Tabernero y
 J.L. Rodriguez. Inst. Investigaciones Clínicas y
 Serv^o Nefrología. Hosp. Clín.^o Universitario.
 Sorias nº 17. Salamanca.

Se estudia un caso de porfiria aparecida en una enferma afecta de I.R.C. y sometida a hemodiálisis periódica.

En la analítica general una sideremia de 97 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$; ferritina sérica de 400 $\mu\text{g}/\text{l}$. y uremia de 0.870 gr/l. Al examen físico, hiperpigmentación hipertricosis y multiples ampollas en cara y manos erosiones y cicatrices en diversos estadios de evolución. El estudio anatomopatológico ofrece las características de una PCT. Las porfirinas fueron altas en plasma (372 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) y sangre (288 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) y normales en hematies lavados (30 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$); algo elevada en heces la copro (61,3 $\mu\text{g}/\text{gr}$) y normal la proto; el dializado acusó 8,5 μg de copro y 276 μg de uro/litro. La cromatografía en capa fina del dializado y plasma ofreció un mayor porcentaje de las fracciones carboxílicas octo (48,1 y 33,7 %) y hepta (42, 5 y 47 %) con ausencia de la tetra en ambos casos.

Estimamos por todas estas características que esta porfiria puede identificarse como cutánea tarda. Respecto a su etiología es difícil precisarla; no obstante sin descartar una predisposición genética, podrían ser desencadenantes la uremia y la sobrecarga terapéutica endovenosa de hierro.

ACTIVIDAD URO-S Y PORFIRIA INTERMITENTE AGUDA (PIA)
 A.Juanes; D.P-Sandoval; J.Rico; J.L.Gutierrez y D. Alonso. Inst. Invest. Clin. Fac. Medicina. Salamanca. Dr. Piñuela nº 2

Estudiamos una enferma gestante, en un episodio agudo de PIA, sospechado por el color de la orina y confirmado por los siguientes resultados bioquímicos:

Sin alteraciones en la serie roja, ni en el metabolismo del Fe. Porfirinas eritrocitarias libres = 40 $\mu\text{g}\%$ (N=hasta 50). En orina los precursores muy elevados, más el PBG =92 mg/l (N=0 a 3) que el ALA = 55 mg/l (N=0 a 5). Las fracciones urinarias aumentadas: copro =492 $\mu\text{g}/24\text{h}$. y Uro = 1772 $\mu\text{g}/24\text{h}$. En las heces solo había una ligera elevación de la copro = 59 $\mu\text{g}/\text{g}$.

Se estudian también las fracciones carboxílicas de la orina, sin encontrar alteraciones.

Dado el carácter hereditario, estudiamos todos los familiares directos (padres, hermanos, hijos) que no muestran anomalía en los parámetros citados; no obstante y por descubrir los portadores asintomáticos, determinamos la actividad URO-sintetasa, cuyo déficit es patognomónico de la enfermedad, encontrándola reducida en la enferma, en la madre, en una de las hijas y una hermana gestante.

Aunque esta enfermedad no es frecuente, interesa que los clínicos piensen más en ella, con lo que junto al correcto diagnóstico, puedan detectarse los portadores asintomáticos, problema de la mayor importancia tanto desde el punto de vista de la prevención como del tratamiento.