

# 79

## Enzimología clínica

### CAPÍTULO

El interés de los clínicos por las enzimas séricas empezó hace aproximadamente medio siglo, con la demostración de la utilidad de la determinación de los niveles de fosfatasa alcalina en el diagnóstico de las enfermedades óseas y hepatobiliares; de los niveles de fosfatasa ácida en el diagnóstico del carcinoma de la próstata, y de los de amilasa y lipasa en el diagnóstico de las pancreopatías.

Pese a la utilidad clínica de estos parámetros en la enfermedad y a la demostración de un número determinado de otras enzimas del suero durante los siguientes 25 años, el interés clínico de la enzimología sérica se mantuvo en un relativo letargo hasta 1953. En ese mismo año, la demostración de una transaminasa (la GOT) en el suero de individuos normales, y las observaciones subsiguientes de que el aumento de los niveles de esta enzima eran útiles en el diagnóstico de las enfermedades cardíacas y hepáticas, condujeron a una intensificación del interés en la enzimología.

Actualmente se han identificado en el suero más de 50 enzimas. Los niveles de muchas enzimas se han estudiado con extensión en una gran variedad de procesos. Se han aplicado algunas pruebas de enzimas séricas con tanta amplitud en algunos problemas clínicos, que se consideran como procedimientos habituales en el laboratorio. Otras, aunque muestran claramente ser un reflejo de diversas enfermedades, se llevan a cabo en pocos laboratorios clínicos, porque la prueba en sí es técnicamente difícil o porque la información facilitada se considera que ayuda muy poco a la ya brindada por las enzimas del primer grupo.

Otras pruebas tienen un interés de investigación, más que un interés clínico, o bien son importantes sólo en situaciones clínicas especiales. Otro grupo incluye las enzimas que no se han estudiado suficientemente, para confirmar su utilidad clínica.

En este capítulo brindaremos un panorama general de este campo y profundizaremos en algunas de las enzimas de mayor empleo en la actualidad. Además, se presenta una visión somera de las aplicaciones más recientes de las determinaciones enzimáticas asociadas a la práctica médica.

### **Aspectos sobresalientes de las enzimas presentes en el suero**

#### **Origen**

Todas las enzimas séricas tienen su origen en las células. Muchas proceden de numerosos tejidos, entre ellas la aldolasa, la láctico deshidrogenasa, la fosfo-

hexoisomerasa, la málico deshidrogenasa y otras. Por otra parte, hay enzimas con una distribución hística más limitada, por ejemplo: la ornitil carbanil transferasa y la alcohol deshidrogenasa se hallan casi exclusivamente en el hígado.

Naturalmente, las alteraciones en la actividad en suero o plasma, de enzimas de amplia distribución, no aportan una orientación tan específica, como la que proporciona una enzima de las confinadas a 1 ó 2 tejidos en particular.

Constantemente llegan al espacio extracelular pequeñísimas cantidades de muchas enzimas intracelulares. En el individuo sano las enzimas extracelulares tienen una actividad que varía dentro de límites muy estrechos. En cambio, hay muchas enfermedades orgánicas en las que está aumentada la salida de enzimas, bien por el incremento de la permeabilidad de las membranas celulares, o bien por la pérdida de la estructura celular. Así se originan las modificaciones del nivel enzimático en el plasma sanguíneo, de indudable valor diagnóstico.

### Migración

Entre los espacios intra y extracelular existe un gradiente de concentración extraordinariamente grande. Las células animales no están limitadas, como las vegetales, por una membrana rígida. Sus membranas, entre las que contamos no sólo la membrana plasmática, sino también el sistema de endomembranas y las de los organelos subcelulares como las mitocondrias (capítulos 20 y 37), presentan permeabilidad selectiva para sustancias inorgánicas y orgánicas, lo que permite un intercambio rápido y diferenciado de sustancias con el entorno.

No es de sorprender, dado el alto gradiente de concentración existente, que ya con daños poco pronunciados de la membrana salgan enzimas de la célula al espacio extracelular, al líquido intersticial y al plasma sanguíneo.

Las enzimas que aparecen en el plasma sanguíneo pueden dividirse no sólo por sus efectos, sino también por su origen. Las enzimas específicas del plasma son segregadas a éste de forma activa, y predominantemente por el hígado. La seudocolinesterasa o colinesterasa sérica, así como las enzimas de la coagulación son ejemplos importantes de enzimas que actúan en el propio plasma sanguíneo.

El origen de las enzimas inespecíficas plasmáticas no siempre puede determinarse con claridad. Cuando existen enzimas de secreción, como la amilasa del páncreas o la fosfatasa ácida de la próstata, el origen es obvio. La importancia de la determinación de las enzimas órgano-específicas para el diagnóstico es fácil de comprender; sin embargo, si se determinan las enzimas ubicuas de las principales vías del metabolismo energético, que constituyen la mayor parte de las enzimas hísticas, resulta difícil la localización en un determinado lugar de origen.

Las enzimas de secreción y las hísticas no tienen función bioquímica en el plasma, ya que no disponen de sustratos ni de coenzimas.

Parece que inmediatamente después de la salida de las enzimas de las células se producen modificaciones en su actividad catalítica, la cual puede disminuir o aumentar. La molécula enzimática también se modifica en su camino a través de las capas limítrofes y en el espacio extracelular, medio extraño a ella. Estas modificaciones, por ejemplo, oxidación reversible de grupos SH en el centro activo, pueden suprimirse parcialmente por medio de una reactivación. Un ejemplo de ello es la reactivación de la creatina quinasa mediante la adición de sustancias que contienen grupos sulfidrilos.

Cuando existen condiciones patológicas (enfermedades, intoxicaciones), la membrana celular puede lesionarse de forma reversible o irreversible. Tras una lesión irreversible de la membrana, las células necróticas colaboran - en muy escasa medida - en el aumento de las enzimas del suero. La parte principal procede de células todavía vivas, y como se muestra en el ejemplo de la hepatitis vírica aguda, también de células lesionadas sobrevivientes. Normalmente, en el plasma se encuentra un nivel de enzimas muy constante, con las variaciones conocidas, las cuales dependen de la edad o del

peso, y de otros factores, por ejemplo los casos de la colinesterasa sérica (CES) y la glutámico pirúvico transaminasa (GPT) en el hígado graso alcohólico, en el estado preclínico. La concentración de las enzimas se mantiene mediante la desintegración normal de las células, es decir, la destrucción celular fisiológica; sin embargo, en muchos estudios clínicos se ha demostrado una coincidencia entre la gravedad de la enfermedad y el grado de aumento de la actividad enzimática en el suero.

Todas las proteínas están sometidas a una renovación constante. Del mismo modo las enzimas del organismo vivo se neoforman y transforman continuamente (por ejemplo, activación de tripsinógeno en tripsina), y, por último, se inactivan y descomponen. Al igual que las restantes proteínas del plasma sanguíneo, se supone que muchas enzimas se desintegran hasta el grado de aminoácidos que después se vuelven a utilizar.

Las transformaciones estructurales de las enzimas, a su entrada en el plasma sanguíneo, son todavía bastante desconocidas. Actualmente se sabe que la pérdida de la actividad enzimática -a lo largo del tiempo- sigue un proceso en 2 fases: una primera fase la constituye la dilución de la enzima en los espacios vascular y extravascular; a esta dispersión le sigue la fase de eliminación propiamente dicha, la cual tiene una duración muy diferente, según el tipo enzimático. En esta fase se establece una velocidad constante en su eliminación. Tras una salida de enzimas de células lesionadas, la distribución, el transporte y la eliminación se solapan en procesos parcialmente opuestos. De los resultados de algunas investigaciones se desprende que muchas enzimas celulares (bajo condiciones fisiológicas) alcanzan primero el intersticio, después de su salida de la célula, y posteriormente son transportadas al espacio intravascular, a través de las vías linfáticas.

La dispersión de las enzimas en la totalidad del espacio extracelular se manifiesta con especial claridad por un rápido descenso inicial de la actividad enzimática, tras su inyección intravenosa. A ello le sigue una disminución lenta del nivel de enzimas en el plasma: la fase de eliminación enzimática. La velocidad de la eliminación es independiente del valor absoluto del nivel enzimático y sigue una función exponencial. Ello permite un cálculo sencillo de las constantes de semidesintegración de las diversas enzimas. Las constantes de semidesintegración en el plasma son específicas para cada enzima de una especie, independientemente de la edad y del sexo, y variables entre horas y días.

Es de destacar que también las isoenzimas aisladas presentan grandes diferencias. La importancia práctica de las diversas constantes de semidesintegración se observa con claridad en las isoenzimas de la LDH, mientras que las isoenzimas 1 y 2 (tipo miocardio) se utilizan con éxito en el diagnóstico, debido a su prolongada constante de semidesintegración, la LDH<sub>5</sub> (tipo del hígado y músculo esquelético) apenas es útil para el diagnóstico de las hepatopatías, porque su eliminación es tan rápida que solamente pueden esperarse aumentos significativos en las lesiones hepáticas agudas y graves.

Las enzimas con pesos moleculares bajos pueden entrar directamente al espacio intravascular, por ejemplo, a través de una membrana capilar. Otra excepción la constituye el hígado, en el cual las células parenquimatosas tienen un contacto directo con el plasma. Esto, unido a la importancia capital del hígado en el metabolismo, sus funciones específicas y su riqueza en enzimas, constituye uno de los motivos principales de la significación especial del diagnóstico enzimático en las hepatopatías.

De las experiencias realizadas con enzimas marcadas radioactivamente, se desprende que en el espacio intravascular las enzimas sólo se inactivan en una medida mínima.

## Fundamentos de las determinaciones enzimáticas

En el capítulo 16 se refirió la forma de determinar las actividades enzimáticas. Según la Comisión Internacional de Nomenclatura Bioquímica, una unidad (estándar) es aquella cantidad de enzima que transforma un micromol de sustrato por minuto.

Las actividades catalíticas en los líquidos se refieren en general a 1 mL ó 1 L. En consecuencia, se expresan en  $\text{mU}\cdot\text{mL}^{-1}$  ó  $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$  que son, por cierto, idénticas numéricamente. En la actualidad la denominación  $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$  es la preferida al nivel internacional. El catal (cat), unidad que en unas condiciones definidas equivale a una velocidad de reacción que transforma un mol de sustrato por segundo, no ha logrado imponerse.

Otros elementos acerca de las diferentes técnicas de determinación enzimática fueron tratados en el capítulo 16.

Para poder obtener resultados comparables en las determinaciones enzimáticas, la Sociedad Alemana de Química Clínica ha recomendado condiciones de reacción estandarizadas para 8 enzimas clínicamente significativas. Los autores seleccionaron una temperatura de 25 °C y fijaron, además, el tipo de solución amortiguadora y el valor del pH, la concentración del sustrato, y los cofactores y efectores. Estas recomendaciones son aplicables a las enzimas siguientes:

- Glutámico oxalacético transaminasa (GOT).
- Glutámico pirúvico transaminasa (GPT).
- Glutámico deshidrogenasa (GLDH).
- Láctico deshidrogenasa (LDH).
- Alfa-hidroxi-butírico deshidrogenasa (HBDH).
- Fosfatasa alcalina (AP).
- Leucina-aminopeptidasa (LAP).
- Creatina quinasa (CK).

### Consideraciones de interés práctico

Tanto durante la toma de muestras, como en el transporte de éstas pueden aparecer factores perturbadores. En el cuadro 79.1 se presentan los principales.

**Cuadro 79.1. Influencias sobre las determinaciones enzimáticas de factores dependientes de la toma y el transporte de las muestras**

Factores dependientes de la toma y el transporte de las muestras	Influencia sobre las determinaciones enzimáticas
Éstasis venosa prolongada	Hipoxia y aumento de la permeabilidad de las células sanguíneas
Lesión mecánica	Por la salida del líquido de la jeringa y mezcla de la sangre.
Microhemólisis	Un déficit de $\text{O}_2$ y un sustrato por abandono prolongado de las muestras conduce a un aumento de la permeabilidad
Coagulación	Liberación de enzimas plaquetarias, por ejemplo de fosfatasa ácida
Envejecimiento durante el transporte	Proteólisis; pérdida de estructuras terciarias; bloqueo de grupos SH

El análisis de otras fuentes de error se escapa de los objetivos de este libro, pero se han de tener en cuenta, a saber: concentración insuficiente de sustrato, pH erróneo de la solución tampón o capacidad amortiguadora insuficiente, temperatura de incubación errónea, inestabilidad de los reactivos y errores de manipulación y de medición, ya sea por pipetas y equipos mal calibrados o poca habilidad del operador.

La conservación de las muestras de suero tiene grados diversos de exigencia, según la enzima que se vaya a determinar. Aun a temperatura ambiente, algunas enzimas tienen poca pérdida de actividad, de las cuales son ejemplos relevantes la fosfatasa alcalina y la colinesterasa (CES). En la tabla 79.1 se presentan algunos datos relacionados con este aspecto.

**Tabla 79.1. Promedio (en %) de la pérdida de actividad en la conservación del suero**

Enzima	Temperatura (°C)	4h	48 h	3 días	5 días	7 días
GOT	4	2	5	8	10	12
	25	2	6	10	11	13
GPT	4	2	5	10	14	20
	25	8	12	17	19	39
GLDH	4	0	2	5	13	26
	25	10	12	15	24	30
LDH	4	0	4	8	9	12
	25	0	1	2	10	15
β-HBDH	4	0	0	0	3	5
	25	0	0	0	0	5
AP	4	0	0	0	0	0
	25	0	2	3	6	10
LAP	4	0	0	0	0	0
	25	0	0	0	0	0
CES	4	0	0	0	0	0
	25	0	0	0	0	0

## Principales enzimas de interés clínico

### **Aamilasa**

La α amilasa (α 1,4-glucan-4-glucano hidrolasa) actúa rompiendo los enlaces α 1-4 glicosídicos del almidón. Esta enzima está presente en la saliva y el jugo pancreático. La actividad de la amilasa en el suero normal proviene (en menos de un 25 %) del páncreas.

La amilasa en el suero aparece después del primer mes de edad y es al año cuando sus valores alcanzan el rango normal del adulto. Las cifras normales reportadas varían con el método de determinación. En el procedimiento de Henry y Chiamori, el cual modifica la técnica original de Somogyi, se señala en la literatura un rango de 38 a 118 U·dL<sup>-1</sup>, en los varones, y de 46 a 141 U·dL<sup>-1</sup> en las mujeres. Los productos reductores, liberados a partir del almidón, son determinados en un medio de pH 7.

A pesar de que la contribución del páncreas a la actividad sérica normal de la amilasa no llega a un tercio del total, es en las enfermedades de este órgano donde se suele explorar. Las enfermedades pancreáticas más comunes son la pancreatitis aguda o crónica y el cáncer del páncreas.

En la pancreatitis aguda se produce la autodigestión del páncreas, con necrosis del tejido parenquimatoso. En personas de edad avanzada las manifestaciones clínicas de esta enfermedad, que suelen ser determinantes para su diagnóstico, pueden no evidenciarse en un inicio a pesar de su gravedad. Aquí, naturalmente, el diagnóstico enzimático puede ser de gran ayuda.

La amilasa puede elevarse a las pocas horas del comienzo de la enfermedad, pero estos incrementos pueden ser fugaces. La determinación en la orina de 24 h permite comprobar estas alteraciones y es el mejor procedimiento para seguir la evolución del proceso. En los casos graves de necrosis pancreática masiva la actividad de la amilasa puede disminuir abruptamente y ello ha de tenerse en cuenta.

En el caso de la pancreatitis crónica se produce una pérdida de la capacidad secretora del órgano y los valores séricos tienden a estar ligeramente disminuidos; recuérdese la gran proporción proveniente de las glándulas salivales. La determinación de la actividad de la enzima en el jugo duodenal, después de la administración de pancreozimina, resulta un dato decisivo.

En el cáncer de páncreas no es común detectar en el suero la elevación de la actividad de la amilasa; en ocasiones, el hallazgo puede comprobarse en la orina de 24 h.

### **Lipasas**

Esta enzima puede elevarse, al igual que la amilasa, en las horas siguientes de iniciado el ataque de pancreatitis aguda, aunque de forma más lenta que la amilasa (a veces hasta 24 a 48 h después del comienzo), pero con la ventaja de que siempre será de causa pancreática), mientras que las afecciones de otras glándulas del organismo pueden aumentar marcadamente a la amilasa (parotiditis). Las consideraciones en torno a la pancreatitis crónica y al carcinoma son similares a lo expuesto en relación con la amilasa, es decir, su valor es relativamente pequeño en el diagnóstico de la pancreatitis crónica y del cáncer del páncreas.

### **Transaminasas**

Las transaminasas se estudiaron en el capítulo 55. En el suero se han determinado la GPT y la GOT.

Aunque los cambios electrocardiográficos se producen con mayor rapidez que los enzimáticos, en el 10 % de los casos de infartos del miocardio los primeros pueden estar ausentes. También en la recurrencia del episodio puede no detectarse un nuevo hallazgo en el electrocardiograma.

El valor diagnóstico de las determinaciones crece mucho cuando se trata de un conjunto de enzimas, entre las que se encuentra la GOT. Ésta aumenta en las primeras horas de instalado el proceso y es de mucha utilidad junto a la CK, la cual se eleva no sólo en las afecciones del corazón, sino también en las enfermedades o lesiones del músculo esquelético. Para diferenciar estas 2 posibilidades se emplea el cociente CK/GOT. Si el cociente supera a 10, la probabilidad de lesión o enfermedad del músculo esquelético es del 90 %.

Si como consecuencia del infarto se instala una insuficiencia cardíaca derecha, la congestión del hígado por éstasis no sólo hace visible el aumento de la GOT, sino también el de la GPT.

Las transaminasas son fundamentales en el diagnóstico y la evolución de las hepatopatías; se elevan considerablemente en la hepatitis aguda (la GPT más que la GOT). En las lesiones graves, como las de la intoxicación por tetracloruro de carbono, la GOT aumenta más que la GPT.

En la hepatitis vírica, de todas las enzimas elevadas la GPT y la gamma-glutamil transpeptidasa ( $\gamma$ -GT) son las últimas en retornar a sus cifras normales, de ahí su inapreciable valor para seguir la evolución y curación de la enfermedad.

En la cirrosis hepática alcohólica las transaminasas suelen estar elevadas, pero en la medida en que avanza la enfermedad vuelven a disminuir. En periodos avanzados la intensa disminución de la GPT hace que el cociente GOT/GPT sea mayor que 1, resultado aparentemente contrario a la lógica, por la conocida preponderancia de la GPT en el hígado y de la GOT en el corazón.

## Fosfatasa

### *Fosfatasa alcalina (AP)*

Es la enzima con mayor antigüedad en su aplicación al estudio de las enfermedades del hígado. Originalmente se descubrió que sus niveles séricos estaban aumentados en pacientes con íctero obstructivo (posthepático). El método de determinación más extendido emplea el beta-glicerofosfato como sustrato y se determina el fósforo liberado por la incubación a pH 8,6. Las unidades definidas por el autor de la técnica, Bodansky, equivalen a la actividad de 1 dL de suero que libera 1 mg de fósforo en 1 h. Los valores normales oscilan entre 1 y 4 UB (unidades Bodansky). En la obstrucción completa pueden superar las 25 UB. Es curioso que, por lo general, la obstrucción biliar de compresiones por neoplasia maligna provoca valores de AP, superiores a los observados en pacientes con obstrucciones de causa benigna.

Aunque en la ictericia hepatocelular vírica o tóxica la AP también se eleva, en la inmensa mayoría de los casos no sobrepasa las 15 UB y es apenas en el 5 % de estos pacientes que pueden encontrarse valores entre 15 y 25 UB.

En la ictericia hepatocanalicular, muchas veces provocada por fármacos como la clorpromazina, se encuentran valores séricos de AP tan elevados como en la ictericia obstructiva.

En cuanto a los procesos del hígado que evolucionan sin íctero, se pueden observar elevaciones impresionantes de más de 50 UB en las enfermedades granulomatosas, en el carcinoma hepático primario o metastásico, en los abscesos hepáticos y en la amiloidosis.

En la cirrosis, la afectación de los niveles séricos de AP depende del tipo. Es en la cirrosis biliar donde casi siempre se observan valores altos, aunque inferiores a las 15 UB, si el proceso es de origen obstructivo. Si se trata de una cirrosis biliar primaria (muchos la consideran secuela de una hepatitis colangioliítica) los valores pueden ser como los del íctero obstructivo.

En realidad, los primeros valores elevados de la fosfatasa alcalina se hallaron en enfermedades óseas que evolucionan con aumento de la actividad osteoblástica. En los niños en crecimiento y durante el tercer trimestre del embarazo los valores suelen ser altos.

La determinación de la fosfatasa alcalina en las osteopatías es útil, principalmente en la identificación de la osteítis deformante, el hiperparatiroidismo y las neoplasias óseas.

### *Fosfatasa ácida (SP)*

Esta enzima se halla en concentración elevada en la próstata. Otra isoenzima existe en los eritrocitos y las plaquetas. Los métodos de determinación son similares a los de la fosfatasa alcalina, pero en este caso a pH 5.

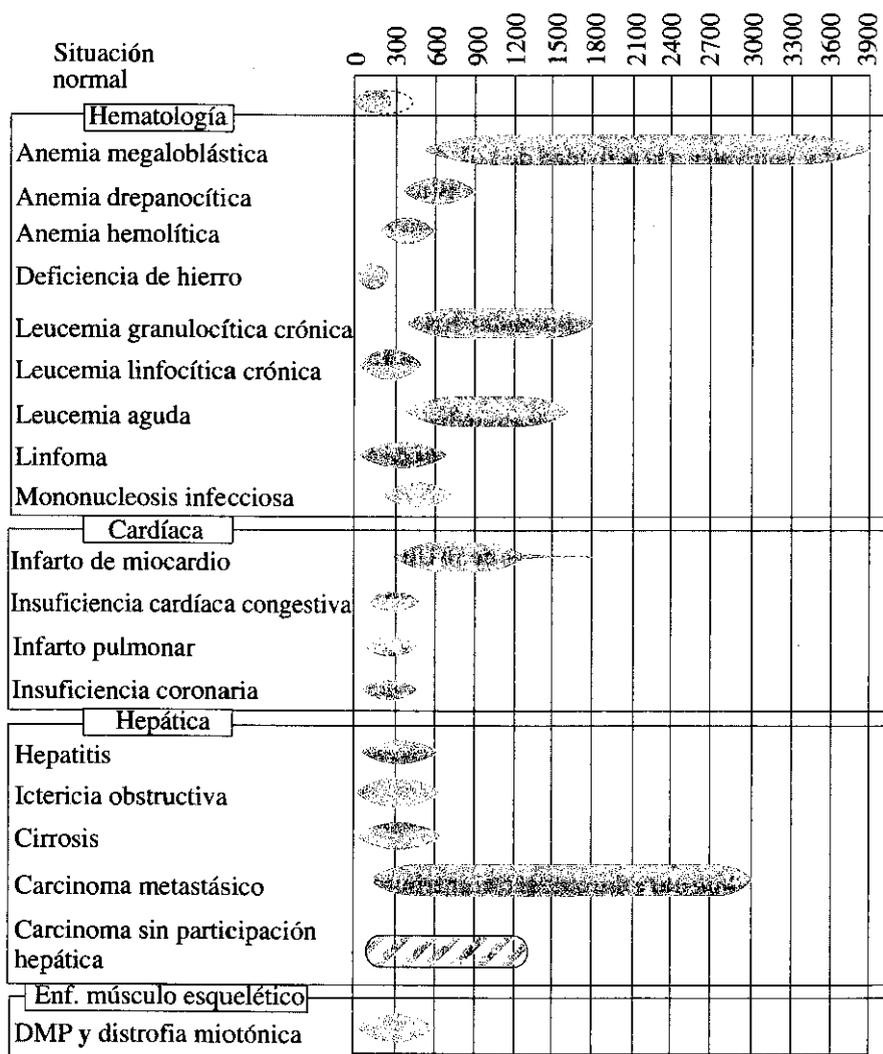
En el carcinoma prostático localizado los niveles de la enzima suelen ser normales. En los casos en que la neoplasia se ha extendido fuera de la cápsula del órgano se hallan elevaciones en más de la mitad de los pacientes. Si el cáncer prostático es metastizante se observan los valores elevados de SP en el suero de todos los pacientes.

La hemólisis puede producir ligeras elevaciones de esta enzima, pero sólo si no se emplea el beta-glicerofosfato como sustrato, pues éste no es atacado por la isoenzima eritrocitaria.

Como hemos visto, la determinación de la SP es valiosa para detectar metástasis de cáncer prostático, pero no ayuda en el diagnóstico precoz de un cáncer *in situ*.

## Deshidrogenasa láctica (LDH)

Esta enzima es abundante en el miocardio, el riñón, el hígado y los músculos. Su elevación ocurre en múltiples enfermedades. Los valores más altos se registran en el carcinoma hepático metastásico y en la anemia megaloblástica (Fig. 79.1).



Fuente: Davidsohn, L. Henry, JB. Diagnóstico clínico por el laboratorio. Ed. Científico-Técnica, p. 874, 1982.

Fig. 79.1. Comportamiento de la lactato deshidrogenasa sérica. Gráfico de los valores normales y en varias enfermedades de la lactato deshidrogenasa en mil unidades internacionales. La línea discontinua refleja los valores normales en niños. DMP: distrofia muscular progresiva.

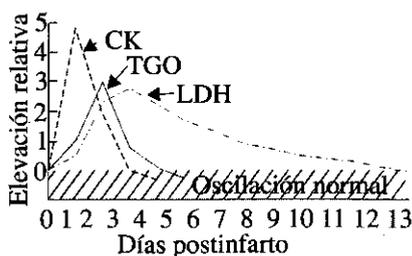


Fig. 79.2. Principales alteraciones de las enzimas del suero en el infarto del miocardio. Evolución de los niveles de glutámico-oxalacético transaminasa, lactato deshidrogenasa y creatina quinasa en el infarto del miocardio.

A pesar de ello puede ser útil en asociación con otras determinaciones enzimáticas, por ejemplo, en los casos de infarto del miocardio y pulmonar. En el primero, la LDH se eleva a las pocas horas de producirse el cuadro clínico, al igual que la GOT, aunque no tanto en cantidad, pero se prolonga más que esta última (de 10 a 14 días) (Fig. 79.2).

En el infarto pulmonar también es posible apreciar aumentos significativos de la LDH, de modo que a las pocas horas de un dolor torácico agudo la LDH elevada con una GOT normal orienta mucho hacia el infarto pulmonar.

La determinación de las isoenzimas de LDH constituye un recurso adicional para la ubicación diagnóstica. En el suero se separan por electroforesis 5 isoenzimas, numeradas del ánodo al cátodo; cada isoenzima es un tetrámero. Existen 2 tipos de subunidades, ambas con un peso molecular de 34 000, que se designan H y M (del inglés: *heart*= corazón y *muscle*= músculo); las 5 isoenzimas abarcan las 5 combinaciones de estas 2 subunidades en tetrámeros, a saber:  $H_4$ ,  $H_3M$ ,  $H_2M_2$ ,  $HM_3$  y  $M_4$ . Cada tejido contiene las 5 isoenzimas, pero en proporciones variables.

La concentración relativa de las isoenzimas en el suero normal es en orden decreciente  $H_3M$ ,  $H_4$ ,  $H_2M_2$ ,  $HM_3$  y  $M_4$ .

Como la  $H_4$  es la que más se acerca al ánodo se designa  $LDH_1$ , y la  $M_4$ , que queda más alejada,  $LDH_5$ . Por supuesto, la  $LDH_2$ ,  $LDH_3$  y  $LDH_4$  denotan por el subíndice el orden de cercanía al ánodo. En la mezcla sérica normal se supone que los eritrocitos son los mayores contribuyentes. Si se observa la tabla 79.2 se comprobará que tanto en la mezcla de los glóbulos rojos, como en la del corazón predominan las 2 isoenzimas que más abundan en el suero normal. De los datos de esta tabla se explica que en el infarto del miocardio, las isoenzimas que predominan en la elevación sean las más abundantes en el suero normal ( $LDH_1$  y  $LDH_2$ ) y que en cambio, en la hepatitis vírica predominen en el incremento la  $LDH_4$  y  $LDH_5$ .

**Tabla 79.2. Isoenzimas de la deshidrogenasa láctica del suero, separadas por electroforesis y su composición según su origen histórico**

	Contenido relativo de la enzima					
	Miocardio	Hígado	Músc. esq.	Cerebro	Riñón	Hematíes
$LDH_1$ HHHH	++++	0	0	++	+	+++
$LDH_2$ HHHM	++++	0	0	++	+	+++
$LDH_3$ HHMM	+	+	+	++	++	+
$LDH_4$ HMMM	0	++	++	++	++	0
$LDH_5$ MMMM	0	++++	++++	0	++	0

No obstante lo antes expuesto, para la caracterización del perfil de las 5 isoenzimas en la muestra de suero el procedimiento es complejo y costoso; sin embargo, la determinación de la isoenzima miocárdica  $LDH_1$  se puede simplificar porque ella soporta la exposición a 65 °C durante 30 min, de modo que el tanto por ciento de la actividad total de la LDH que resulta termoestable equivale a la determinación de la  $LDH_1$  ( $H_4$ ).

### Colinesterasa sérica (CES)

La CES que se detecta en el suero, proveniente mayormente del hígado, se denomina seudocolinesterasa para distinguirla de la acetilcolinesterasa del sistema nervioso e intraeritrocitaria. La significación biológica de esta seudocolinesterasa se desconoce. Puede determinarse tanto por técnicas colorimétricas, como midiendo el cambio de pH que se produce por la liberación de uno de los productos de la reacción: el ácido acético.

La utilización más específica de la CES es en las intoxicaciones por insecticidas de fósforo orgánico, como el parathion, que son potentes inhibidores de esta enzima; se produce disminución de la seudocolinesterasa y de la CES eritrocitaria. Al parecer, los valores séricos vuelven a la normalidad, antes que los intraeritrocitarios.

Las lesiones graves y extensas de las células del parénquima hepático o la intensa disminución de las células hepáticas traen consigo un marcado descenso de la colinesterasa. Muchos autores incluyen a la CES con la GPT y la  $\gamma$ -GT como la tríada de enzimas, que de encontrarse normales permiten excluir, con un 95 % de probabilidad de acierto, una hepatopatía inflamatoria o tóxica, o la participación del hígado en otras enfermedades.

### Leucinaminopeptidasa (LAP)

Las fluctuaciones en los valores séricos de esta enzima, una peptidasa que se determina utilizando acilnaftilamida como sustrato, son paralelas a las de la fosfatasa alcalina en las afecciones hepatobiliares; sin embargo, sus valores son normales en las enfermedades de los huesos, pero como la distinción entre las enfermedades del hígado-

do y las osteopatías comunes no presenta grandes dificultades por los datos clínicos, la determinación de la LAP tiene una aplicación bastante limitada.

### **Creatina quinasa (CK)**

Esta enzima aparece elevada en el infarto del miocardio, con la toma apropiada de la muestra.

Aunque la enzima no es específica del miocardio (existen concentraciones relativamente altas de la enzima, sobre todo en el músculo esquelético, pero también en el cerebro y la musculatura lisa), dado que la CK cerebral no traspasa la barrera hematoencefálica, sucede que las grandes elevaciones séricas sólo pueden provenir del corazón o de la musculatura esquelética.

En el infarto su elevación es muy precoz, a lo sumo a las 6 h de producirse, con un pico a las 24 h y su normalización entre el 4to. y el 5to. días. En la figura 79.2 se presentan los comportamientos de la CK, la GOT y el LDH en el infarto del miocardio.

En la parte dedicada a la GOT se trató acerca de la ayuda del cociente CK/GOT para descartar o no lesiones de la musculatura esquelética. Ello es importante además, pues si el paciente infartado cae en *shock* pueden sobrevenir lesiones hipóxicas en el músculo, que se reflejarían por el incremento de un cociente que originalmente era menor que 10.

La CK también se presenta en forma de isoenzimas y la discriminación de sus 3 tipos puede brindar información adicional, tal como hemos analizado en otros casos. Este recurso no está tan difundido como la determinación más simple de la CK total.

### **Otras enzimas séricas**

Se han investigado otras enzimas que son útiles en la clínica, pero se emplean muchísimo menos que las que hemos discutido anteriormente. Entre ellas se encuentran la fosfohexoisomerasa, como índice de metástasis en los carcinomas de mama y próstata; la aldolasa, que se eleva en miopatías, carcinomatosis, leucemia granulocítica, anemia megaloblástica, hepatopatías y otros procesos. La deshidrogenasa isocítrica, la ornitina-carbamil transferasa, la sorbitol deshidrogenasa, la 5' nucleotidasa y otras se han estudiado, sobre todo, por su elevación en las afecciones hepáticas muchas otras se han analizado en los laboratorios de investigación, a pesar de que no se emplean habitualmente en ninguna instalación clínica.

## **Enzimas en otros fluidos biológicos**

### **Orina**

Las enzimas de la orina proceden predominantemente del riñón, donde se liberan por la destrucción celular. La eliminación de las enzimas a través del riñón sano, por ejemplo de la amilasa, la CK y la LDH, está limitada por los pesos moleculares.

Las enzimas del suero son reabsorbidas casi por completo de la orina primaria en el tubo proximal. Según el estado actual de la cuestión, la determinación de la  $\gamma$ -GT y la LDH en la orina tiene cierta utilidad para el descubrimiento temprano de la reacción de rechazo en el transplante de riñón y, naturalmente, en algunas enfermedades renales.

Ya referimos que en la pancreatitis aguda los aumentos pasajeros de las enzimas, y que pueden pasar inadvertidos en una muestra sérica, se reflejan en la orina de 24 h.

## Líquido cefalorraquídeo (LCR)

Se han determinado muchas enzimas en el LCR. Así, las isoenzimas de la láctica deshidrogenasa LDH<sub>4</sub> y LDH<sub>5</sub> aparecen en la meningitis bacteriana, mientras que en la viral se revelan la LDH<sub>1</sub> y LDH<sub>2</sub>. Sin embargo, los casos graves de meningitis bacteriana, con desenlace fatal, presentan elevaciones de la LDH<sub>1</sub> y LDH<sub>2</sub>, causadas presumiblemente por lesión cerebral. En la hemorragia subaracnoidea y los cánceres primario y metastásico que toman el cerebro o la columna vertebral también se presenta el incremento de la actividad de la LDH en el LCR.

En todos los casos anteriores, excepto en la meningitis viral, se ha reportado el aumento de la aspártico transferasa (AT). En general, estos incrementos no parecen ser muy específicos, ya que los aumentos de las enzimas mencionadas pueden ocurrir en múltiples enfermedades, por lo cual no aportan mucho a los datos convencionales de recuento de células, determinaciones de glucosa, proteínas, etc.

## Otros líquidos corporales

En el líquido amniótico es posible determinar, actualmente, enfermedades congénitas, como los defectos de cierre del tubo neural y otras muchas, pero no son precisamente determinaciones enzimáticas las que más se utilizan.

En el líquido sinovial se ha descrito aumento de la fosfatasa ácida en la artritis reumatoidea. En la misma enfermedad, pero además en la artritis séptica y en la gota, puede elevarse la LDH.

En la pancreatitis aguda se detecta un incremento de la  $\alpha$  amilasa en el líquido pleural, al igual que en el peritoneal.

La LDH está elevada inespecíficamente en los líquidos mencionados, si los derrames son causados por cáncer, o por inflamación séptica o aséptica.

La determinación de la fosfatasa ácida en el aspirado vaginal o en el lavado provee una prueba cierta de la presencia de semen, por la altísima concentración de la enzima en el líquido seminal, aun cuando el varón sea aspérmico.

## Diversos usos clínicos de las enzimas

Algunas enzimas se utilizan terapéuticamente; la quimotripsina se ha empleado para facilitar la mejor difusión de otros medicamentos, generalmente antibióticos. La estreptoquinasa se utiliza en las primeras horas posteriores al infarto del miocardio para propiciar la reperfusión precoz del tejido isquémico.

En enfermedades específicas puede ser necesaria la biopsia diagnóstica y la determinación histórica *in vitro* de una enzima, como sucede en las glucogenosis. Desde el punto de vista técnico, las enzimas también han contribuido a desarrollar determinaciones de aplicación clínica y a veces en pesquisajes masivos: el método ELISA combina técnicas inmunológicas con una determinación final enzimática.

## Resumen

Todas las enzimas presentes en el suero se originan en las células. Pueden provenir de múltiples tejidos o, en el caso de algunas, solamente de 1 ó 2 órganos específicos. Naturalmente, estas últimas son las de mayor utilidad clínica.

Al salir de las células, las enzimas experimentan modificaciones que pueden aumentar o disminuir su acción catalítica original.

Las transformaciones estructurales de las enzimas, en su camino hacia el torrente sanguíneo, parecen abarcar 2 fases: primero, la dilución de la enzima en los compartimientos extracelulares y después la eliminación propiamente dicha. La velocidad de la eliminación sigue una función exponencial y en consecuencia es posible el cálculo de las constantes de semidesintegración. Aun en las isoenzimas se observa diferencia en esta constante. Ello tiene importancia práctica debido a que algunas fracciones perduran lo suficiente para ser detectadas y otras no, en casos de aumentos fugaces provocados por procesos nosológicos.

Las enzimas de empleo más generalizado en la aplicación clínica son: la amilasa, la lipasa, las transaminasas glutámico-pirúvica y glutámico-oxalacética, las fosfatasas alcalina y ácida, la colinesterasa sérica, la leucina amino peptidasa y la creatina quinasa.

La actividad de la alfa-amilasa en el suero proviene en un 25 % del páncreas. Su elevación en la pancreatitis aguda se detecta con seguridad en la orina de 24 h, en caso de que sea tan fugaz que no coincida con la toma de la muestra sérica. Si existe una necrosis pancreática grave su actividad puede estar disminuida.

La lipasa se comporta como la alfa-amilasa, con la ventaja de que no se produce en las glándulas salivales y en consecuencia es más específica en las pancreopatías.

Las transaminasas se utilizan rutinariamente en la clínica del infarto cardíaco y las hepatopatías. La GOT se eleva en las primeras horas de instalado el cuadro. También se eleva notablemente la creatina quinasa. Como esta última puede provenir además de lesiones musculares, se ha empleado el cociente CK/GOT que suele ser menor que 10 en el caso de que la lesión sea cardíaca.

En la hepatitis viral las transaminasas se elevan considerablemente (la GPT más que la GOT). La GPT es de las últimas enzimas que normaliza sus niveles séricos en esta afección. En la cirrosis se observa una caída en la actividad de GPT, que provoca que el incremento de la GOT sea mayor.

La fosfatasa alcalina es de inestimable valor en las hepatopatías obstructivas, su elevación en los procesos hepatocelulares es más discreta y por lo general no rebasa las 15 UB.

La determinación de la leucina aminopeptidasa en las osteopatías es útil, principalmente en la osteítis deformante, el hiperparatiroidismo y las neoplasias óseas.

La fosfatasa ácida se eleva casi siempre en el carcinoma prostático, pero en estadios avanzados de éste. Su elevación indica, por tanto, la existencia de metástasis.

Los valores más elevados de la actividad de la enzima láctico deshidrogenasa se registran en el carcinoma hepático metastásico y en la anemia megaloblástica.

En el infarto pulmonar, cuyo síntoma principal puede ser el dolor torácico agudo, la LDH aumenta pronto, al igual que en el infarto cardíaco, pero como éste se acompaña siempre del incremento de la GOT, la alteración aislada de la LDH ante este cuadro clínico establece con certeza la localización del proceso.

Un recurso adicional es la determinación diferencial de las isoenzimas de la LDH, dada su relativamente amplia distribución. Además, la caracterización de la isoenzima miocárdica no requiere de técnicas electroforéticas, pues ella resiste temperaturas de 65°C por 30 min, a diferencia de las 4 isoenzimas restantes.

La actividad sérica de la colinesterasa es inapreciable en las intoxicaciones por insecticidas y otros productos organofosforados. Aquí su actividad decrece por el efecto inhibitorio del tóxico.

Las hepatopatías con pérdida del parénquima funcional también se reflejan por la disminución de la CES. En las complejas interpretaciones de los cambios enzimáticos en las diversas enfermedades del hígado, se ha llegado a establecer, por algunos, que la normalidad de 3 enzimas, entre las que se halla la CES, permite excluir la participación del hígado en un proceso morboso (las otras 2 son la GPT y la gamma-glutamil transpeptidasa).

La leucinaminopeptidasa presenta un perfil semejante al de la AP en las enfermedades hepatobiliares, pero no experimenta alteraciones en las osteopatías.

La creatina quinasa es una de las enzimas más importantes en el estudio del infarto del miocardio, siempre se eleva y muy precozmente. Sucede que en las lesiones musculares también se eleva notablemente la actividad sérica de esta enzima. Se emplea el cociente CK/GOT si es necesario disipar dudas por este motivo. En las miopatías el cociente es muy superior a 10, de ordinario mayor que 15.

Las determinaciones enzimáticas en la orina y otros líquidos biológicos tienen escasa utilidad, en relación con otros métodos, en los casos específicos en que pueden contribuir a una interpretación clínica. Un ejemplo que ilustra este hecho es el incremento de las isoenzimas LDH<sub>4</sub> y LDH<sub>5</sub> en el líquido cefalorraquídeo en la meningitis bacteriana y de las isoenzimas LDH<sub>1</sub> y LDH<sub>2</sub> en la viral, pero es que el predominio linfocítico en esta última y el de los polimorfonucleares en la primera es un recuento más expedito que la determinación de las isoenzimas de la LDH.

En la farmacopea se emplean unas pocas enzimas.

Para la determinación de sustancias de significación diagnóstica, los ensayos enzimáticos asociados a otros métodos han posibilitado la simplificación, rapidez y sensibilidad de las técnicas modernas; el sistema ELISA es una muestra de ello.

## Ejercicios

1. Dé ejemplos de modificaciones que pueden experimentar las enzimas en su trasiego desde las células de origen hasta el espacio intravascular.
2. ¿Qué importancia, en la aplicación clínica de la enzimología, puede tener el hecho de que las constantes de semidesintegración de las enzimas sean diferentes, incluso para isoenzimas?
3. Aborde brevemente los aspectos que se han de tener en consideración, desde la toma de la muestra hasta el ensayo bioquímico de una determinación enzimática, para que el resultado de esta última sea confiable.
4. Exprese las alteraciones enzimáticas del suero en las pancreopatías agudas.
5. ¿Cuál es la importancia del cociente CK/GOT?
6. ¿Cómo puede contribuir la enzimología clínica en el diagnóstico diferencial del infarto pulmonar y cardíaco?
7. ¿Cómo se puede determinar específicamente la isoenzima de la LDH preponderante en el miocardio, sin necesidad de emplear el fraccionamiento electroforético?

## Resumen de la sección

En el centro de determinadas afecciones se halla algún trastorno del curso normal del metabolismo. La diabetes mellitus, la encefalopatía hepática y el íctero son 3 ejemplos de estos cuadros. En la diabetes -como consecuencia de un déficit en la acción insulínica- se establecen complicadas secuencias de fenómenos metabólicos que intentan ser compensatorios, pero culminan frecuentemente en serias alteraciones del equilibrio metabólico del sujeto.

En la encefalopatía hepática, el metabolismo de los compuestos nitrogenados y, especialmente, los dispositivos metabólicos para deshacerse del amoníaco resultan insuficientes y esta molécula origina serias repercusiones, sobre todo en el encéfalo.

La bilirrubina se origina en el catabolismo del hemo y sigue distintos pasos hasta su normal excreción por la bilis. Dificultades en cualquiera de estas etapas pueden conducir a un exceso del pigmento circulante en la sangre, que se visualiza en la piel y las mucosas como íctero.

La enfermedad molecular se origina por un defecto en la síntesis de una proteína determinada. Existen muchísimas enfermedades de esta naturaleza y se conocen en buena parte, pero, por suerte, se progresa también en la posibilidad de detectarlas durante la vida intrauterina y evitar, en lo posible, sus funestas consecuencias.

El exceso o el defecto en la secreción de una hormona se traduce en enfermedad, porque las hormonas son sustancias reguladoras y, por tanto, los niveles en que se producen deben ser determinados cuidadosamente mediante mecanismos reguladores, los cuales son muy sensibles a las condiciones cambiantes del organismo. La hiper o hiposecreción, en ocasiones, traerá consigo muchos cambios bioquímicos, en dependencia de la glándula afectada. El hiper e hipotiroidismo -por afectar a una hormona de amplio control metabólico- son modelos de endocrinopatías con múltiples cambios bioquímicos.

Los virus contienen una sola clase de ácido nucleico, ya sea ADN o ARN, que codifica la información genética necesaria para la replicación de éste. Para que un virus se multiplique, tiene que infectar primero a una célula. La patogenia de las enfermedades virales tiene que ver con los efectos tóxicos de algunos productos virales, las reacciones del huésped a las células infectadas que están expresando los genes del virus o, finalmente, las modificaciones de la expresión genética propia del huésped por interacciones con el material genético del virus, como parece ser el caso de los virus oncogénicos.

Muchas de las enzimas presentes en el suero pueden servir de indicadores para la detección o el seguimiento de varias enfermedades. Existe un grupo de enzimas cuyo uso se halla más generalizado en la aplicación clínica; otras sólo son de interés en los centros de investigaciones. Entre las primeras se encuentra el grupo de enzimas que se suelen observar en los infartos del miocardio y en las enfermedades del hígado.