

BIOQUÍMICA CLÍNICA

PARA CIENCIAS DE LA SALUD

CAPÍTULO VI

ENZIMAS



EDICIONES **MAWIL**

Amilasa



Fotografía 15. La Docente Magdalena Aray Andrade prepara el espectrofotómetro previo a la clase práctica de Bioquímica correspondiente la cuantificación de la amilasa.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Médicas UEES.

Las amilasas son enzimas del tipo hidrolasa, producidas, en menor cantidad en las glándulas salivales, y en mayor cantidad, en el páncreas; que tienen como función catalizar las reacciones de hidrólisis del almidón para formar azúcares digeribles e incluso glucosa libre.

Cuando alguna las glándulas secretoras de amilasas se inflama, como en la parotiditis o en la pancreatitis; como consecuencia, aumenta la producción de amilasas y aparece elevado su nivel en sangre (amilasemia). La insuficiencia renal también puede contribuir con el aumento de la amilasa en sangre, ya que se reduce su excreción por este órgano.

La amilasa se considera un marcador importante de la función pancreática, ya que se eleva o disminuye con la hipertrofia de este, o con la disminución de sus funciones. Así, por ejemplo, la función exocrina del páncreas suele disminuir con la fibrosis quística y por el contrario, aumenta debido a las pancreatitis crónicas causadas por el hábito del alcoholismo. El adenocarcinoma de páncreas, es la enfermedad maligna de esta glándula (43). Suele ser de mal pronóstico. Con esta condición los niveles de amilasa se elevan dramáticamente.

Objetivos

1. **Propósito preventivo:** A individuos con antecedentes familiares de adenocarcinoma de páncreas.
2. **Propósito reactivo:** Pacientes diabéticos, pacientes con presunta parotiditis y trastornos recurrentes del sistema digestivo.
3. **Propósito de control:** Pacientes con parotiditis en tratamiento, pacientes con adenocarcinoma bajo tratamiento.

Método 1: Enzimático/colorimétrico

Fundamentos

La α -amilasa hidroliza el 2-cloro-4-nitrofenil- α -D-maltotriósido (CNPG3) a 2-cloro-4-nitrofenol (CNP) y forma 2-cloro-4-nitrofenil- α -Dmaltoside (CNPG2), maltotriosa (G3) y glucosa (G), según la siguiente reacción:

ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



Condiciones

- Suero recolectado de la manera estándar.
- Es recomendable procesar la muestra a las pocas horas de haber sido tomada. Sin embargo, pueden conservarse hasta por una semana bajo 2-10 °C.
- Los anticoagulantes citratos y oxalatos inhiben la actividad de la amilasa.
- Orina, el sujeto descarta la primera micción del día, y toma la siguiente 2 horas después de la primera. Esta muestra, que corresponde a 2 horas de diuresis, se diluye a 200 ml con agua. La determinación se efectúa con 20 μ l de esta dilución, obteniéndose el resultado directamente en Unidades Amilolíticas/hora (44).



Valores de referencia

- Suero: < 120 UA/dL
- Orina: < 260 UA/hora

Diagnóstico

La pancreatitis aguda ofrece valores entre 300-12000 unidades amilolíticas/dL en sangre, en tanto que en orina muestra más de 900 Unidades amilolíticas/hora.

La pancreatitis crónica por su parte, arroja valores en sangre de hasta 200 UA/dL y en orina más de 300 UA/HORA.

La parotiditis exhibe valores séricos de más de 350 UA/dL y en orina más de 750 UA/hora (19).

La lipasa

La lipasa es una enzima, producida por el páncreas, cuya función es separar las grandes moléculas de grasa que se ingieren en la dieta, de tal forma que se puedan absorber con facilidad. Esto lo hace, catalizando la hidrólisis de los triglicéridos para llevarlos a glicerol y ácidos grasos libres.

La cuantificación de la actividad de la lipasa se usa para diagnosticar enfermedades como pancreatitis aguda y la obstrucción del conducto pancreático. El diagnóstico debe consolidarse con la clínica del paciente y otras pruebas de laboratorio. Otras afecciones en las cuales se incrementa la actividad de lipasa incluyen intoxicación aguda con alcohol y traumatismos accidentales o quirúrgicos del abdomen (31).

Objetivos

1. **Propósito preventivo:** A individuos con antecedentes familiares de adenocarcinoma de páncreas.
2. **Propósito reactivo:** Pacientes diabéticos, pacientes trastornos recurrentes del sistema digestivo e intolerantes a la grasa (es-



teatorrea).

- 3. Propósito de control:** Pacientes con adenocarcinoma de páncreas bajo tratamiento.

Fundamentos

Método Cinético

La lipasa, presente en la muestra, hidroliza el sustrato 1,2-O-dilaúril-racglicerol-3-glutárico-(6'-metilresorufina)-éster para generar ácido glutárico-metilresorufina éster, compuesto inestable que se descompone espontáneamente, liberando un compuesto coloreado (metilresorufina) que se mide a 570 nm. La velocidad de aparición de color es directamente proporcional a la actividad enzimática (45).

Condiciones

- Suero o plasma heparinizado obtenido de la manera usual. Separar del tubo lo más pronto posible después de la extracción.
- La lipasa en suero o plasma es estable 8 días bajo 2-10°C y hasta 12 meses a -20°C.

Valores de referencia

Adultos: 13 - 60 U/l (37°C)

Diagnóstico

Altos niveles de actividad de la lipasa pueden estar ocasionados, entre otras causas, por una obstrucción intestinal, por la condición celíaca, por úlceras duodenales, adenocarcinoma pancreático y pancreatitis.

Fosfatasa ácida total y prostática

Las fosfatasas ácidas están presentes en gran parte de los tejidos del organismo, siendo particularmente altas en la próstata, el estómago, el hígado, los músculos, el bazo, los eritrocitos y las plaquetas. Su principal función consiste en escindir los grupos fosfatos ligados a diferentes moléculas. Se encuentra almacenada en los lisosomas y se activa cuando estos se unen a los endosomas, los cuales tienen un pH ácido.

Es por esto que su óptima actividad se desarrolle en medios ácidos.

La fosfatasa ácida prostática constituye es un indicador precoz importante para diagnosticar el cáncer de próstata. De allí el interés clínico principal de esta prueba.

Altas concentraciones de Fosfatasa ácida total se asocian a algunas enfermedades hematológicas como leucemia mielocítica, trombocitopenia idiopática; y óseas como enfermedad de Paget, carcinoma óseo; así como en algunos tipos de cáncer, enfermedades hepáticas (hepatitis, ictericia obstructiva), etc (46).

Objetivos

1. **Propósito preventivo:** A hombres mayores de 45 años de edad, con antecedentes familiares con cáncer de próstata.
2. **Propósito reactivo:** Hombres con diagnóstico de prostatitis o hiperplasia prostática.
3. **Propósito de control:** Pacientes bajo tratamiento prostático.

Fundamentos

Método Cinético

La fosfatasa ácida hidroliza el α -naftil fosfato en un medio ácido, con la liberación del fosfato y el α -naftol. El naftol reacciona posteriormente con un diazorreactivo incorporado en el sistema generando un Cromógeno azoico (pigmento amarillo) que es proporcional a la actividad de fosfatasa ácida total presente en la muestra. Cuando se mide la actividad en presencia de tartrato, se inhibe la actividad de la isoenzima prostática. La fracción prostática corresponde a la diferencia entre las actividades de fosfatasa ácida total y de la resistente al tartrato (Fosfatasa Ácida no Prostática/ACP-NP) (47).



ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



Condiciones

- Suero obtenido de la manera usual. No utilizar plasma. Separar el suero del plasma lo más pronto posible y refrigerar hasta el momento de su procesamiento. Para prevenir la inactivación de la enzima, puede agregarse al suero, 50 µl de acético 0,7 mol/l por cada mililitro de suero. En estas condiciones puede permanecer viable durante varios días bajo 2-10 °C.
- Deben rechazarse sueros francamente ictericos.
- No usar anticoagulantes.

Valores de referencia

- Fosfatasa Acida Total (ACP): < 9 U/L (a 37° C)
- Fosfatasa Acida Prostática (PAP): < 3,5 U/L (a 37° C)

Diagnóstico

No se puede usar la fosfatasa ácida para fines de diagnóstico por sí sola, es necesario cotejar con la clínica del paciente y otras evaluaciones de laboratorio.