

Las enzimas en las lesiones tisulares*

JESUS KUMATE**

EL AUMENTO DE LA ACTIVIDAD enzimática sérica consecutivo a lesión tisular había sido estudiado fragmentariamente desde hace más de 30 años siendo común el uso de la determinación de fosfatasa ácida para diagnóstico y evolución del carcinoma prostático¹; la de fosfatasa alcalina² en raquitismo; amilasa en pancreatitis³; actividad proteolítica en úlceras pépticas⁴, etc., los resultados mostraban elevaciones francas siendo el factor de magnificación 5X en los casos más demostrativos y aunque el principio operante era claro, i.e.; fuga hacia la circulación sistémica de componentes intracelulares por lesión celular, regurgitación o alteración franca de la permeabilidad celular; no fue hasta 1954 cuando se inició la exploración sistemática de las anomalías a nivel sérico de diversos sistemas enzimáticos; lo observado en esos estudios reveló:

- (1) Aumento de la actividad del orden de 100 X o más, en relación a los valores normales; en efecto, las alteraciones encontradas mediante esta metodología son de un orden no revelado en otras pruebas; así, en intoxicaciones accidentales por tetracloruro de carbono se han hallado valores de TGO sérica hasta de 12,000 unidades/ml de suero, o sea 500 veces el promedio normal,
- (2) Salida de enzimas con modelos más o menos característicos según el órgano afectado; así, en lesión de hígado se elevan transaminasa, arginasa, ornitín-transcarbamilasa y sorbitol deshidrogenasa; en degeneración de músculo esquelético es notorio el ascenso en aldolasa; en infarto del miocardio la alteración es más objetiva en transaminasa GO y deshidrogenasa láctica, etc., etc.

* Trabajo presentado en la Mesa Redonda sobre enzimas en Medicina en la Academia Nacional de Medicina. Jornadas Médicas Nacionales de 1962.

** Departamento de Infectología Hospital Infantil de México.

- (3) Disminución a nivel celular de los componentes aumentados en suero,
- (4) Duración muy corta de dichas elevaciones y
- (5) Eliminación de enzimas a través de orina.

La exploración de numerosos sistemas enzimáticos en lesión tisular mostró que las esperanzas puestas en la especificidad diagnóstica no estaban justificadas ya que la distribución orgánica era muy generalizada y en ocasiones las diferencias orgánicas no mostraban ninguna discriminación útil; esta limitación motivó estudios encaminados a encontrar enzimas que tuvieran distribución menos general y pudieran aportar elementos útiles en el diagnóstico; así ha resultado que para lesión hepática las elevaciones de ornitina transcarbamilasa, arginasa y sorbitol deshidrogenasa ofrecen datos específicos; en páncreas algo similar ocurre con la leucilaminopeptidasa y para bazo se utiliza la desoxirribonucleasa. A pesar que estas innovaciones suponen un paso adelante en la especificidad del diagnóstico, conviene recordar que no hay enzimas estrictamente específicas de un órgano no solo porque los estudios de geografía bioquímica señalan la ocurrencia en varios órganos de todas las enzimas sino por cuanto los caminos metabólicos empleados por diferentes células son básicamente los mismos y entran en juego las mismas enzimas. La aplicación de relaciones entre diversas actividades enzimáticas — en base a la diversa concentración de los órganos ha permitido predicciones más acertadas en relación al origen de anomalías enzimáticas vgr. la relación GO/GP en infarto del miocardio y hepatopatías⁷ (mayor de 1 en la primera y menor de 1 en la segunda); la relación de transaminasa GO I y II en recién nacidos y adultos⁸, la relación transaminasa GO/fosfatasa alcalina⁹ para diferenciar ictericias, etc.

LIMITACIONES Y CAUTELAS EN INTERPRETACIÓN

Recién Nacidos:

Al nacimiento y durante la 1a. semana; algunas enzimas^{10, 11}, transaminasas entre otras, se encuentran elevadas (4 o hasta 5 veces sus valores normales) sin que el estudio histológico revele lesión necrótica de parénquima u obstructiva de tracto biliar. Otras, v. gr. colinesterasa¹² muestran actividad subnormal pensándose en inmadurez hepática.

Modificación de permeabilidad:

La hipoxia y las catecolaminas pueden inducir —en ausencia de modificaciones morfológicas— aumento de transaminasas GO, GP: deshidrogenasa láctica y fosfatasa alcalina; estas anormalidades¹³ pueden ser impedidas por la aplicación de agentes farmacológicos que bloquean impulsos adrenérgicos. Se cree que las condiciones mencionadas inicialmente aumentan selectivamente la permeabilidad celular a dichas enzimas. Un mecanismo similar podría explicar las elevaciones descritas en neonatos.

Participación de mecanismos no necróticos:

En obstrucción de árbol biliar extrahepático —sin evidencia morfológica de lesión parenquimatosa— ocurren aumentos pronunciados en los niveles séricos de algunas enzimas^{14, 16}, que se elevan también en lesiones necróticas de hígado; como la utilidad de las pruebas enzimáticas radica en que señala (se piensa) la existencia de necrobiosis en el tejido rico en dicho fermento, la participación de un mecanismo fisiopatogénico diferente plantea una limitación seria en su interpretación. Una interpretación diferente se hace de acuerdo a los hallazgos de Rutenburg¹⁷ quien basándose en la riqueza particular de leucilaminopeptidasa en células de conductillos biliares, encuentra elevaciones séricas muy francas en cuadros obstructivos de vías viliares en contraste con valores normales o elevaciones “no diagnósticas” en hepatitis y cuadros hemolíticos del recién nacido.

Irregularidades en los escapes enzimáticos:

La idea básica consistente en fuga de componentes intracelulares al producirse la destrucción tisular parece ser una simplificación poco satisfactoria; White¹⁸, en un estudio de más de 618 casos seguidos hasta por 18 meses en los que se determinaron deshidrogenasa láctica, transaminasa glutámico oxaloacética, deshidrogenasa isocítrica, aldolasa y fosfohexosaisomerasa, encontró que en infarto del miocardio, la deshidrogenasa láctica aumenta, no así la isocítrica a pesar de la riqueza evidente del miocardio en esa enzima; en tanto que en hepatitis infecciosa, dicha enzima aumenta enormemente y la láctica lo hace muy discretamente extrañándose esa conducta ya que el hígado no posee mayor riqueza (actividad específica) en ambas enzimas que la correspondiente a miocardio.

En tumores (estructuras con abundante cantidad de las deshidrogenasas láctica e isocítrica) el patrón sérico muestra elevación manifiesta de la láctica sin alteración ostensible en la isocítrica (excepción hecha de los casos con metástasis hepáticas).

NUEVAS POSIBILIDADES

La posibilidad de diferenciar el origen de una enzima sérica de un organismo que la contiene en diversas estructuras orgánicas ha sido explorada en varios sistemas utilizando técnicas diferentes; un intento inmunoquímico fue realizado en 1943 por Kubowitz y Ott¹⁹, al emplear sueros anti-deshidrogenasa láctica para separar la enzima de músculo normal de rata y la obtenida del sarcoma de Jensen; el antisuero producido en pavos no logró mostrar diferencias (la inhibición fue similar en ambas preparaciones).

Abul-Fadl y King²⁰ en 1949 utilizando formaldehído al 0.8% pudieron inhibir la fracción de fosfatasa ácida que deriva de eritrocitos y determinaron la actividad originada en próstata; mediante l-tartrato que puede producir una inhibición inversa; Hill²¹ en 1956 encontró diferencias de Km en la deshidrogenasa láctica de leucocitos normales y leucémicos.

Una separación que utiliza substratos diferentes y diversas concentraciones del mismo es la aplicada a colinesterasa; con acetilcolina a concentraciones selectivas se puede demostrar comportamiento distinto según sea colinesterasa plasmática o eritrocítica así como por el uso de acetilcolina o butirilcolina²².

La vuelta a métodos inmunoquímicos se hizo posible en 1957 con los estudios de Henion y Sutherland²³ quienes usando sueros anti-fosforilasas de perro obtenidas de hígado y de corazón, mostraron que la inhibición homóloga era más intensa. Posteriormente se han sucedido varias exploraciones inmunológicas tratando de aprovechar la posible diferencia en determinantes antigénicos de las enzimas producidas en diversos órganos del mismo individuo y algunos resultados son los descritos por:

I) Nisselbaum, Schlamowitz y Bodansky²⁴ han obtenido sueros animales vs. fosfatasa alcalina, deshidrogenasa láctica y fosfohexosaisomerasa de distintos órganos habiendo encontrado que:

- (a) los antisueros contra fosfatasa alcalina intestinal precipitan a ésta en casi 90% y sólo en 10% a la derivada de huesos, riñón e hígado en tanto que la obtenida de hueso muestra una especificidad inversa; este estudio reveló que en el suero de personas normales las 2/3 partes de la actividad fosfatásica alcalina derivan de hueso y poco menos de 1/3 parte es de estirpe intestinal; en pacientes con carcinomas óseos la proporción originada en hueso pasa del 90%.
- (b) en deshidrogenasa láctica se encontró que las enzimas hepática y musculoesquelética son similares, diferenciándose muy claramente de las presentes en miocardio, riñón, próstata, huesos y eritrocitos; la producción de lesión hepática se acompaña de aumentos muy claros de enzima que precipita selectivamente con sueros anti-deshidrogenasa láctica de hígado.
- (c) partiendo de fosfohexosaisomerasa hepática el antisuero no revela diferencias en preparaciones purificadas de la enzima procedentes de hígado, músculo esquelético, miocardio y eritrocitos humanos.

(II) Mc Geachin y Reynolds⁵² con el mismo sistema; i.e., antisueros obtenidos por la estimulación antigénica de amilasas purificadas de saliva, páncreas e hígado encontraron que las enzimas salival y pancreática son idénticas en tanto que la hepática muestra algunas diferencias; la adición de amilasa pancreática exógena a suero de enfermos con pancreatitis mostró que la enzima agregada era idéntica a la presente originalmente, con lo que se confirma la suposición que la hiperamilasemia en las pancreatitis se origina en ese órgano.

Los estudios de actividad enzimática en los complejos antígeno-anticuerpo (enzima-antienzima) han revelado 3 clases de interacciones:

- I) Precipitación y conservación de la actividad enzimática original, v. gr; fosfatasa alcalina y tirosinasa.
- I) Precipitación e inhibición de la enzima, como en amilasa, deshidrogenasa láctica, fosforilasa, carboxipeptidasa y ribonucleasa.
- III) Precipitación e interferencia parcial tal como se observa en ureasa y fosfohexosaisomerasa.

ISOENZIMAS

La electroforesis en gel de almidón ha permitido en deshidrogenasa láctica²⁶ y en otros sistemas, separar varias formas de la misma enzima que pueden diferenciarse por varios criterios (cinéticos, inmunológicos, físico-químicos) y lo que es más importante la proporción de esas isoenzimas varía según el órgano de donde derivan; la cromatografía en columnas de hidroxapatita ha logrado fraccionar a la ceruloplasmina²⁸ así, en el caso citado inicialmente, la separación electroforética revela 5 formas con movilidad distinta que en hígado exhibe una distribución en la que LD₁ constituye casi 85%, no hay LD₂; el miocardio no tiene LD₁ ni LD₂ en tanto que LD₄ y LD₅ suponen más del 95%; los demás órganos muestran distribuciones intermedias a los patrones extremos que representan hígado y corazón.

Las 5 variedades de la deshidrogenasa láctica²⁹ muestran características peculiares cuando se las examina en función de:

1. log. de la relación de velocidades de reacción en condiciones de pH y concentración de piruvato óptimas para las isoenzimas de los extremos electroforéticos,
2. inhibición por los antiseros vs. LD₁ y LD₅ con excepción de LD₁ y LD₂ que son idénticos,
3. log. de la constante de velocidad de inactivación térmica a 53°C.
4. log. de la energía de activación de la reacción catalizada (lactato-piruvato).

En el curso de lesiones que afectan a diferentes órganos el patrón del plasma se modifica según la riqueza de los diversos componentes en el tejido de origen; así en hepatitis aumenta LD₁ en tanto que en infarto del miocardio la elevación se hace a expensas de LD₅.

Estudios similares³⁰ han revelado 7 isoenzimas en colinesterasa sérica cuando se usa yoduro de butirilcolina como substrato; en ceruloplasmina se han separado 2 formas diferentes.

ERRORES METABÓLICOS CONGÉNITOS

Las anomalías enzimáticas encontradas en la enfermedad de von Gierke y la galactosemia, consistentes en disminución de glucosa-6-fosfatasa y fogalectasa uridiltransferasa, fueron descubiertas en hígado por lo

que el diagnóstico suponía la obtención de una porción de ese órgano con la consiguiente limitación en la posibilidad de efectuar estudios familiares o encuestas amplias; Hsia³¹ mediante cromatografía en columna ha encontrado en los enfermos con von Gierke y familiares un aumento de glucosa-6-fosfato y fructosa-6-fosfato en eritrocitos y Kalckar³² ha demostrado en galactosémicos que el defecto de la transuridilasa existe en glóbulos rojos.

INFECCIONES VIRALES

La inoculación con virus de la influenza A en la cavidad corioalantoidea del embrión de pollo³³, produce elevaciones en las deshidrogenasa láctica que son más pronunciadas entre las 48 y 72 horas; la comparación de títulos hemaglutinantes para glóbulos rojos de pollo y actividad de la enzima medida cualitativamente mostró una correlación perfecta entre ambas pruebas que ofrece la posibilidad de obviar algunos resultados erráticos por la presencia de inhibidores de la hemoaglutinación que puedan producir falsas negativas o la coexistencia de líquido corioalantoico lechoso que dificulta la realización de la prueba. La producción de la enzima se debe al desarrollo del virus que produce citopatología en las membranas extra-embriónicas o a la acción de productos tóxicos liberados durante el crecimiento y reproducción del virus; otro estudio³⁴ ha registrado aumento de la participación en el ciclo colateral de fosfatos de pentosas con síntesis simultánea de la deshidrogenasa láctica (funcionando como enzima oxidante del TPNH).

REFERENCIAS

1. Gutman, A. B., y Gutman, E. B.: "Acid" phosphatase and functional activity of the prostate (man) and preputial glands (rat). *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 39: 529, 1938.
2. Gutman, A. B.: Serum alkaline phosphatase activity in diseases of the skeletal and hepatobiliary systems. *Am. J. Med.* 27: 875, 1959.
3. Somogyi, M.: Diastatic activity of human blood. *Arch. Int. Med.* 67: 665, 1961.
4. Kowalewski, K.: Uropepsin and plasma pepsinogen after injection of histamine dihydrochloride in doses provoking acute gastric ulcers in guinea pigs. *Canad. J. Biochem. & Physiol.* 32: 553, 1954.
5. Bruns, F., y Puls, W.: Die Aktivität der Serumaldolase bei-Erkrankungen der Leber: ein neuer enzymatischer Test. *Klin. Wschr.* 32: 656, 1954.

6. La Due, J. S., Wróblewski, F., y Karmen, A.: Serum glutamic oxaloacetic transaminase activity in human acute transmural myocardial infarction. *Science* 120: 497, 1954.
7. De Ritis, F., Coltorti, M., y Giusti, M.: Ulteriore contributo al valore diagnostico ad al significato patogenetico delle modificazioni delle attività transaminasiche del siero nella epatite virale. *Minerva med.* 47: 167, 1956.
8. Kumate, J., y Mendoza, E. y Benavidez, L.: Isozimas del sistema transaminasa glutámico-oxaloacético en el período neonatal. *Gac. med. (Méx.)*. En prensa.
9. Latner, A. L. y Smith, A. J.: Serum transaminase alkaline phosphatase ratio in differential diagnosis of jaundice. *Lancet* 2: 915, 1958.
10. Kove, S., Goldstein, S., y Wróblewski, F.: Activity of glutamic-oxaloacetic transaminase in the serum in the neonatal period *Pediatrics* 20: 584, 1957.
11. Kumate, J.: Pruebas hepáticas en *Pediatría*. *Bol. Méd. Hosp. Infant. (Méx.)* 17: 403, 1960.
12. Lehman, H., Cook, J., y Ryan, E.: Pseudocholinesterase in early infancy. *Proc. Roy. Soc. Med.* 50: 147, 1957.
13. Highman, B., y Altland, P. D.: Serum enzyme rise after hypoxia and effect of autonomic blockade. *Am. J. Physiol* 199: 981, 1960.
14. Linde, S.: On the mechanism of the elevation of serum glutamic oxalacetic transaminase (SGO-T) in obstructive jaundice. *Scand. J. Clin. & Lab. Invest.* 10: 308, 1958.
15. Kove, S., y Wróblewski, F.: Serum transaminase as an aid in early diagnosis of chronic biliary atresia. *Am. J. Med. Sc.* 240: 353, 1960.
16. Kumate, J., Beltrán, F., Benavides, L., y Flores, M. A.: Liver function tests in infants with biliary atresia. *Pediatrics* 26: 630, 1960.
17. Rutenburg, A. M., Pineda, E. P., Goldburg, J. A., Levitan, R., Gellis, S. S., y Silverberg, M.: Serum leucine aminopeptidase in infants *Am. J. Dis. Child.* 103: 47, 1962.
18. White, L. P.: Some enigmas in the comparison of multiple serum enzyme levels. *Ann. N. Y. Acad. Sc.* 75: 349, 1958.
19. Kubowitz, F., y Ott, P.: Isolierung und Kristallisation eines Gärungsfermentes aus Tumoren. *Biochem. Z.* 314: 94, 1943.
20. Abul-Fadl, M. A. M., y King, E. J.: Properties of the acid phosphatases of the human prostate gland. *Biochem. J.* 45: 51, 1949.
21. Hill, B. R.: Some properties of serum lactic dehydrogenase. *Cancer Res.* 16: 460, 1956.
22. Augustinsson, K. B.: Acetylcholine esterase and cholinesterase. Tomado de: *The Enzymes. Chemistry and mechanism of action*". Vol. I. Parte 1. Nueva York, Academic Press Inc. Pub. 1950. p. p. 443-472.
23. Hcnion, W. F., y Sutherland, E. W.: Immunological differences of phosphorylases. *J. Biol. Chem.* 224: 477, 1957.
24. Nisselbaum, J. S., Schlamowitz, M., y Bodansky, O.: Immunochemical studies of functionally similar enzymes *Ann. N. Y. Acad. Sc.* 94: 970, 1961.

25. McGeachin, R. L., y Reynolds, J. M.: *Differences in mamalian amylases demonstrated by enzyme inhibition with specific antisera*. J. Biol. Chem. 234: 1456, 1959.
26. Wróblewski, F., Ross, C., y Gregory, K.: *Isoenzymes and myocardial infarction*. New. Eng. J. Med. 263: 531, 1960.
27. Agvist, S. E. G., y Anfinsen, C. B.: *The isolation and characterization of ribonucleases from sheep pancreas*. J. Biol. Chem. 234: 1112, 1959.
28. Hirschman, S. Z., Morell, A. G., y Scheinberg, I. H.: *The heterogeneity of the copper-containing protein of human plasma, ceruloplasmin*. Ann. N. Y. Acad. Sc. 94: 960, 1961.
29. Wróblewski, F., y Gregory, K. F.: *Lactic dehydrogenase isozymes and their distribution in normal tissues and plasma and in disease states*. Ann. N. Y. Acad. Sc. 94: 912, 1961.
30. Bernsohn, J., Barron, K. D., y Hess, A.: *Cholinesterases in serum as demonstrated by starch gel electrophoresis*. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 108: 71, 1961.
31. Hsia, D. Y. Y., y Kot, E. G.: *Detection of heterozygous carriers in glycogen storage disease of the liver (von Gierke's disease)*. Nature. 183: 1313, 1959.
32. Anderson, E. P., Kalckar, H. M., Kurahasi, K., e Isselbacher, . J.: *A specific enzymatic assay for the diagnosis of congenital galactosemia*. J. Lab. & Clin. Med. 50: 469, 1957.
33. Kelly, R., y Greiff, D.: *The level of lactic dehydrogenase activity as an indicator of the growth of influenza virus in the embryonate egg*. J. Exp. Med. 113: 125, 1961.
34. Kun, E., Ayling, J. E., y Siegel, B. N.: *Enzymic mechanism of increased utilization of glucose during virus multiplication in the chorioallantoic membrane of the chick embryo*. Science. 131: 1318, 1960.