



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**VALORACIÓN DE TRIPSINA  
SÉRICA COMPARADA  
CON AMILASA EN  
ENFERMEDADES PANCREÁTICAS**

**T E S I S**

Que para obtener el título de  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO  
P R E S E N T A  
JUANITA C. DE J. FONTOVA ROMÁN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS  
DE \_\_\_\_\_  
FECHA 1975  
PROG 108  
8 \_\_\_\_\_



Con cariño y admiración a mis padres  
que depositaron su confianza en mí, -  
enseñándome, que todo esfuerzo cons-  
tante se valora al llegar a la meta.

A mis hermanos como muestra  
de mi cariño.

Con especial cariño a Roberto Salas

A mi tío Luis con gratitud por las  
muestras de cariño de él recibidas.

Con agradecimiento y respeto al  
Sr. Eulalio Ferrer por el apoyo -  
que me brindó durante mi carrera.

En reconocimiento sincero a la  
Q.F.B. Dea Coronado

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	Q.F.B. GUADALUPE VELEZ PRATT
VOCAL	Q.F.B. DEA CORONADO PERDOMO
SECRETARIO	Q.F.B. MA. ELENA BUSTAMANTE CALVILLO
1er. SUPLENTE	Q.F.B. ELVIRA BETANCOURT JIMENEZ
2do. SUPLENTE	Q.F.B. GPE. LETICIA CARRASCO RIVERA

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA  
LABORATORIOS MERCK SHARP & DOHME

SUSTENTANTE:

JUANITA CONSUELO DE JESUS FONTOVA ROMAN

ASESOR DEL TEMA:

Q.F.B. DEA CORONADO PERDOMO

## I N D I C E

- CAPITULO I. INTRODUCCION
- CAPITULO II. GENERALIDADES
- CAPITULO III. MATERIAL Y METODOS
- CAPITULO IV. DISCUSION
- CAPITULO V. RESUMEN Y CONCLUSION
- CAPITULO VI. BIBLIOGRAFIA



CAPITULO I

INTRODUCCION

En el siglo XVII De Graaf (14) inició el estudio científico de la secreción pancreática, al hacer una fístula pancreática experimental, por donde recogía la correspondiente secreción.

Sin embargo fué el genio del gran fisiólogo francés Claude Bernard (14) -- que en el siglo pasado, reveló la capacidad de los fermentos pancreáticos para degradar los alimentos en ácidos grasos y glicerol. Con el uso de la fístula pancreática mostró como se realizaba la digestión proteica. También reconoció el triptofano, recién descubierto, como producto final de tal digestión. Su alumno Willy Kuhne denominó tripsina a este -- responsable de la digestión proteica. En la misma época 1888 dos médicos franceses Bard y Adrien Pic, describieron por primera vez el cáncer de páncreas.

La relación de "los licores calientes y rebeldes", y sus virtudes tóxicas se -- en desde hace siglos, pero hasta hace poco tiempo se apreció la asociación de alco-- y enfermedades pancreáticas.

Sólo en los últimos 30 años se pudo hacer el análisis cuantitativo de las en-- pancreáticas.

El refinamiento de los análisis químicos que se efectuaron durante la década -- incrementó la precisión y validez de tales exámenes además de haberse ampliado la -- l de enzimas posibles en estudio.

Las enzimas proteolíticas, que por muchos años no pudieron determinarse a -- causa de la presencia de inhibidores endógenos ahora pueden estimarse con precisión con el -- uso de técnicas modernas.

Las enzimas que tienen valor clínico en el diagnóstico de las enfermedades pancreáticas se miden en el suero, orina, líquido peritoneal y otros fluidos corporales. Ellas comprenden los grupos amilolíticos, lipolíticos y proteolíticos.

Hoy en día, la prueba que se lleva a cabo para el diagnóstico de enfermedades pancreáticas es la determinación de la actividad de la amilasa. Pero se ha visto que esta prueba no es tan específica como se cree, puesto que estudios anteriores han demostrado que los niveles de amilasa se encuentran elevados en otros padecimientos no pancreáticos de los cuales citaremos algunos:

- a) Necrosis Hepática
- b) Obstrucción intestinal
- c) Embarazo ectópico

A ctualmente, solo se hacen determinaciones de tripsina en heces y en contenido duodenal. Ambas pruebas tienen algunos inconvenientes; así en el caso de la prueba en heces la tripsina puede ser simulada por la erepsina y por bacterias proteolíticas.

En el caso de la prueba en contenido duodenal, la obtención de la muestra se hace por medio de una sonda, y la introducción de la misma, causa una serie de trastornos y molestias al paciente, tales como vómito, dolores abdominales, desgarramiento interno y en algunos casos que el enfermo este muy delicado, hasta la muerte.

Nuestro estudio está enfocado a la determinación de tripsina sérica cuyos valores serán comparados con los de amilasa sérica, enzima ampliamente estudiada en enfermedades pancreáticas.

Por lo tanto, es nuestro propósito, evaluar la tripsina sérica, enzima pro--

teolítica secretada también por el páncreas y que quizá resulte más específica para poner de manifiesto los padecimientos pancreáticos. Evitando así los inconvenientes que se presentan de su determinación en heces y contenido duodenal.

El método usado para su valoración es el descrito por Arthur M. Siegelman, Arthur S. Carlson y Theodore Robertson (1), el cuál consiste en medir la hidrolisis del - - - p-toluensulfonyl-L-arginina metil ester (TAME).

CAPITULO II

GENERALIDADES

El páncreas es una glándula de secreción externa e interna unida al duodeno por sus conductos excretores.

Está extendido transversalmente por delante de los vasos prevertebrales y del riñón izquierdo, desde la segunda porción del duodeno hasta el bazo.

Dicho órgano está sostenido sólidamente en esta situación por el duodeno, por los vasos que recibe ó emite y sobre todo por el peritoneo que aplica a la pared abdominal posterior. (15)

### FUNCIONES EXOCRINAS DEL PANCREAS

Las funciones exocrinas del páncreas son la producción y secreción del jugo pancreático. Entre los solutos mayores que podemos encontrar en el mismo, están: bicarbonato sódico, amilasa, lipasa, tripsinógeno.

El jugo pancreático se produce en las células acinares y es secretado al lumen del acino, (ver figura No. 1) para pasar finalmente al conducto pancreático principal (conducto de Wirsung).

El ducto pancreático principal vierte en la ampolla de Vater, la cual está situada en la parte inferior del duodeno. Con frecuencia el ducto pancreático se une al ducto biliar justamente proximal a, ó en, la ampolla de Vater. El páncreas tiene un segundo conducto, (ducto de Santorini), el cual puede verter independientemente ó en unión del conducto principal en el duodeno ahí, el jugo pancreático se mezcla con las sustancias alimenticias que proceden del estómago.

La combinación de enzimas secretadas por el páncreas, al pH apropiado,

proporcionado por el bicarbonato, puede digerir prácticamente toda materia alimenticia.

La secreción del jugo pancreático está regulada, por varios mecanismos. - Es sabido que la distensión del estómago induce la secreción del jugo pancreático, y hay algunas pruebas de que la hormona gastrina (secretada por la membrana mucosa pilórica) estimula la secreción exócrina del páncreas. (15)

Las hormonas secretina y pancreocimina, son producidas por la mucosa intestinal superior, cuando se pone en contacto con el ácido clorhídrico ó el quilo gástrico. La primera estimula la secreción de mayor cantidad de jugo pancreático, rico en bicarbonato, y la pancreocimina provoca un jugo de mayor contenido enzimático.

El páncreas normal secreta varias enzimas, que pasan casi por completo al duodeno. Solo una fracción muy pequeña llega directamente a la sangre, en donde pueden demostrarse pequeñas cantidades.

El mecanismo por el cual las enzimas entran en la circulación no se conoce exactamente, pero se cree que se debe a cambios en la presión en el conducto pancreático - y los ductos, cambios en la permeabilidad de células acinares ó destrucción de la membrana limitante acinar.

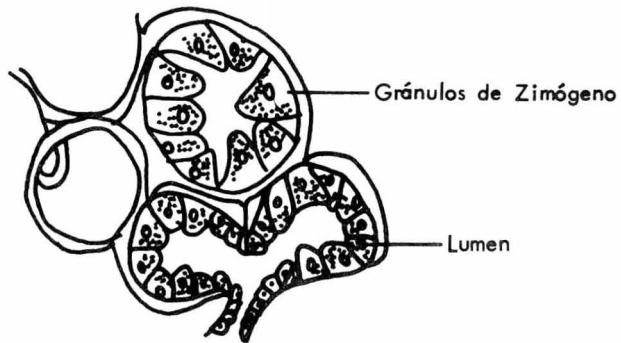


Figura No. 1

Sección transversal de Páncreas  
mostrando células acinares



## FISIOPATOLOGIA DE LA SECRECION ENZIMATICA

Los conocimientos sobre la función pancreática, se han ido incrementando en los últimos años, con el desarrollo de estudios sobre la estructura histológica de la glándula (acinar y ductal).

Las ciencias y disciplinas que se usan para evaluar estos aspectos fundamentales de la función exócrina del páncreas incluyen la microscopía óptica, contraste de fases, histoquímica, microscopía electrónica y fraccionamiento celular; esto último estima la actividad enzimática y síntesis proteica dentro de partículas subcelulares. Por su peculiar estructura e íntima relación con la síntesis de proteínas, el páncreas fué, uno de los órganos con que se ha contado más fácilmente para tales estudios microcitológicos.

Estudios histoquímicos del páncreas muestran la presencia de gran número de enzimas dentro de los acinos celulares, por lo general con mayor actividad en los gránulos de zimógeno. Es probable que la presencia de estas enzimas en otras fracciones, indique contaminación, y que los gránulos de zimógeno sean la fuente de las enzimas pancreáticas.

La comprensión de la fisiopatología de la pancreatitis aguda, envuelve la apreciación de los términos "difusión ó desparramo de las enzimas pancreáticas, desde su fuente el páncreas, hasta los órganos donde estas sustancias actuarán finalmente por ejemplo: vasos sanguíneos y células del tejido intersticial.

Dreiling, Janowitz y Perrier (14) enumeraron los mediadores químicos, como la hipertripsinemia e hiperlipemia, y sus efectos fisiopatológicos, que incluyen la con--

tracción del volumen sanguíneo, alteraciones electrolíticas, fenómenos hemorrágicos y tromboembólicos.

Egdahl (14) determinó las rutas de acceso a la circulación sistémica, así como a todo el organismo, las cuales pueden ser divididas básicamente en dos:

- a) La vía transvenosa
- b) La vía translinfática

Es probable que esta forma de difusión se haga por simple gradiente, por lo cual las enzimas fluyen desde áreas de alta concentración a otras de baja. La vía transvenosa que transporta la mayor parte de las enzimas en las fases iniciales, va por las venas pancreáticas a la porta, hígado y de allí a los grandes vasos.

La vía linfática que se origina en el espacio linfático periacinar, hace su transporte a través de los espacios subcapsulares del páncreas, la cavidad peritoneal, los linfáticos y el conducto torácico y de allí a la corriente sanguínea.

Anderson y Schiller (14) estimulados por los hallazgos de Egdahl investigaron el problema del transporte de las enzimas pancreáticas y estudiaron la dinámica microcirculatoria en el páncreas normal y en el inflamado, con el uso de inyecciones de tinta china dentro del conducto torácico y los conductos pancreáticos.

Evaluaron en especial el espacio linfático periacinar y su doble comunicación con los capilares linfáticos y sanguíneos. Encontrando que la obstrucción del sistema linfático de drenaje ó su sobrecarga a causa de un proceso inflamatorio dá como resultado, la desviación de la linfa hacia el sistema venoso.

Este mecanismo explicaría la precoz elevación enzimática en la porta durante la inflamación aguda. La diapedisis eritrocitaria con estasis en el espacio linfático periacinar y pequeños linfáticos, se debe a la hematoquilia de la pancreatitis hemorrágica y a la relativa insuficiencia linfática. Por consiguiente, la liberación del sistema linfático, con la dilatación ductal tanto como la reducción del exudado inflamatorio y enzimático, permite la posterior dirección del flujo linfático a través de su vía ductal.

## INDICACIONES PARA DETERMINAR NIVELES ENZIMATICOS

La indicación para buscar las enzimas en el suero, orina, materia fecal y aspiración duodenal incluyen: sintomatología abdominal, deficiencia nutricional crónica y progresiva y dudas en el diagnóstico.

A menos que se mantenga la sospecha, la enfermedad pancreática no se diagnóstica o se reconoce tarde. Por lo general las alteraciones de este órgano son bizarras en su presentación clínica, por lo cuál puede perderse la oportunidad de un tratamiento activo en la etapa precoz, reversible o curable. Esta es la razón de que los estudios enzimáticos deban hacerse con frecuencia, aunque falte una clara indicación clínica de la enfermedad pancreática.

### PANCREATITIS AGUDA

La pancreatitis aguda aparece en la edad media de la vida, entre los 30 y los 50 años, sin predominio de sexo, se han descrito algunos casos en el niño y en el viejo.

Parece que esta enfermedad aparece en un terreno especial, sujetos que han sufrido una afección de un órgano cercano al páncreas, que puede ser una afección de las vías biliares (litiasis vesicular en especial) o en menor grado, una úlcera gastroduodenal.

Entre los factores desencadenantes tenemos, una comida copiosa o la absorción excesiva de bebidas alcohólicas. En algunos casos, figura entre los antecedentes un traumatismo accidental.

Patogenia de la Pancreatitis aguda:

Está poco clara, pero se admite que la pancreatitis aguda, se debe a un proceso de autodigestión del páncreas. En condiciones normales, la tripsina está unida a un antifermento y permanece inactiva en los conductos pancreáticos, pero en la luz intestinal se activa por la acción de una enteroquinasa y en presencia de calcio.

Las lesiones tisulares pancreáticas liberan citoquinas que tienen la propiedad de separar tripsina de su antifermento y de hacerla activa. Al iniciarse la autodigestión pancreática se activan otros fermentos: amilasa, lipasa. Los restos celulares liberan una cantidad creciente de citoquinas que activan aún más la tripsina, con lo cuál se provoca una reacción en cadena, que explica la extensión de las lesiones.

## PANCREATITIS CRONICA

Con este nombre se designan las inflamaciones crónicas más o menos evolutivas del páncreas, caracterizadas anatómicamente por el desarrollo de una esclerosis inflamatoria, a la que se asocian alteraciones de los conductos glandulares y del parénquima exócrino, en tanto que los islotes de Langerhans pueden ser normales o presentar lesiones diversas e incluso predominantes.

Por lo que se refiere al sexo, hay un predominio masculino particularmente evidente en las formas calcificantes. La afección puede sobrevenir a cualquier edad, pero se observa un máximo de frecuencia entre los 30 y 60 años. La frecuencia real de la enfermedad es, sin embargo, de difícil apreciación, pues su diagnóstico resulta problemático en la mayoría de los casos.

Como hemos visto la teoría de la enfermedad pancreática única, según la -

cuál, la pancreatitis crónica sería la forma evolutiva en que terminarían los accesos repetidos de pancreatitis aguda, solo puede ser admitida para una variedad clínica particular, la pancreatitis crónica recurrente.

Doubilet (14) considera que la pancreatitis crónica, sería debida al reflujo de bilis en los conductos pancreáticos, pero el valor de este reflujo como factor causal, resulta discutible debido a su inconstancia en la pancreatitis y su relativa frecuencia independientemente de toda lesión pancreática.

La obstrucción de las vías excretorias es una hipótesis explicativa que permite comprender la patogénesis de ciertas pancreatitis secundarias, pero que no puede ser aplicada a la pancreatitis primaria, sobre todo cuando en ellas no existe dilatación alguna de dichas vías.

## ENZIMAS UTILES EN EL DIAGNOSTICO

Desde hace mucho se sabe que el páncreas contiene proteínas celulares - que catalizan reacciones químicas dentro del tubo digestivo, desde la identificación de las amilasas dentro del intestino, y más tarde en la sangre, el páncreas se ha reconocido como - rica fuente de enzimas.

Las enzimas que tienen valor clínico en el diagnóstico de las enfermedades pancreáticas, se midieron en el suero, orina, líquido peritoneal y otros fluidos corporales, - tanto como en la luz intestinal y material fecal.

Elas comprenden los grupos amilolíticos, lipolíticos, proteolíticos y nucleolíticos.

De estos grupos, los que son de interés para nuestro trabajo son: el grupo - amilolítico y el proteolítico.

El primer grupo está representado en el hombre, por la alfa amilasa que rompe las uniones alfa 1-4 glucosídicas a un pH óptimo de 7.1 en presencia de ión cloro. (14)

Las amilasas forman un grupo de hidrolasas, que desdoblan polisacáridos - como almidón y glucógeno. Esta enzima en suero tiene un pH óptimo de 6.9 a 7.0.

La enzima es activa incluso a temperaturas tan altas como 50°C pero se - determina a 37°C - 40°C.

El peso molecular de la amilasa en suero humano es de 45,000 así pues, la enzima es lo suficientemente pequeña para atravesar los glomérulos y por ello normalmente -

se encuentra en la orina cierta cantidad de amilasa.

La enzima es bastante estable; la pérdida de su actividad a temperatura ambiente es despreciable en el curso de una semana y si se guarda en el refrigerador por un período de más de dos meses.

Con excepción de heparina, todos los anticoagulantes comunes inhiben su actividad. Por lo tanto solo deberán de hacerse determinaciones de amilasa en suero.

La mayor parte de la amilasa pancreática, es destruída por la acción de la tripsina en las porciones inferiores del tracto intestinal.

En la determinación de amilasa por el método de somogyi que es un procedimiento cronométrico, se mide el tiempo necesario para que la amilasa hidrolice el almidón presente en una mezcla de reacción.

Somogyi (14) definió su unidad, en el análisis sacarogénico como "la cantidad de enzima que puede liberar azúcares con valor reductor equivalente a 1 mg de glucosa en el curso de una reacción de 30 minutos a 40°C y a un pH de 6.9 a 7.0 .

La unidad de Street y Close se define como la cantidad que convierte en dextrinas 20 mg de amilosa en 15 minutos y a 37°C .

Valores Normales:

Son de 50 a 150 unidades Somogyi por 100 ml.

Las unidades de Street y close son de 6 a 33 unidades.

El origen de esta enzima en suero, es enigmático, aunque la mayoría



de los investigadores la consideran un producto del páncreas.

Experimentos en perros han demostrado que los niveles normales de amilasa en suero se mantienen constantes aún cuando se haya extraído el páncreas. El hígado es otra fuente de amilasa en el suero humano normal. La cantidad de amilasa presente en suero normal no se vé afectada por una pancreatectomía o la escisión de las glándulas salivales. Cuando un paciente presenta una lesión pancreática, desarrolla niveles altos de amilasa en suero la electroforesis de la amilasa demuestra que corre en el área de las gama globulinas de las proteínas del suero.

Los niveles de amilasa son bajos en la primera infancia y aparecen a los 2 meses de edad, alcanzando niveles de adulto a la edad de 1 año.

Las causas de una elevación de los niveles de amilasa en suero son:

- 1.- Pancreatitis aguda.
- 2.- Úlcera péptica perforada.
- 3.- Obstrucción intestinal.
- 4.- Obstrucción del ducto pancreático por carcinoma ó cálculo.
- 5.- Espasmo del esfínter de Oddi por codeína ó metil colina (opiáceos)
- 6.- Estimulación pancreática por secretina ó pancreocimina.
- 7.- Enfermedad de las glándulas parótidas, parotiditis supurativa, papilas, y cálculos en los conductos parotídeos.
- 8.- Falla renal con oliguria ó anuria, causando retención de amilasa, debido a insuficiencia del riñón.
- 9.- Necrosis hepática.
- 10.- Embarazo ectópico.

11.- Macroamilacemia, debido a la combinación de la amilasa con una inmunoglobulina.

12.- Producción ectópica de amilasa por carcinoma extrapancreático.

13.- Hemólisis.

La causa común para encontrar una amilasa sérica alta es la pancreatitis, la cuál puede ser secundaria a varios trastornos.

La destrucción del tejido pancreático, con ó sin obstrucción del flujo de la secreción pancreática da por resultado la liberación de varias enzimas pancreáticas dentro del páncreas y de la cavidad peritoneal, habiendo consecuentemente absorción de estas enzimas en la sangre, dando una elevación subsiguiente de la amilasa sérica.

En la pancreatitis aguda la amilasa sérica aumenta casi simultáneamente con los síntomas, se encuentra arriba de 500 unidades Somogyi. El nivel más alto se alcanza usualmente dentro de las primeras 24 horas, después del cuál retorna a valores normales dentro de 2 a 4 días.

La ausencia de una elevación en el nivel de amilasa dentro de las primeras 24 horas, después de los síntomas, es una evidencia para descartar el diagnóstico de pancreatitis aguda. Una elevación de la amilasa sérica se acompaña de una elevación de la amilasa en orina.

Una amilasa urinaria elevada, con amilasa sérica normal, puede ocurrir en la pancreatitis aguda, por la rápida eliminación de amilasa por el riñón.

Si se encuentran elevados los niveles de amilasa sérica, es recomendable

determinar amilasa en orina. Se excreta una cantidad aproximada de 160 unidades - Somogyi por la orina por hora, con un aumento total de más de 4000 unidades Somogyi por 24 horas.

Así muchos clínicos creen que el ensayo de amilasa urinaria en pa-- cientes con pancreatitis sospechosa es más útil que el de amilasa sérica.

La elevación de la amilasa sérica, puede ser inversamente relacionada a la severidad del daño pancreático. Cuando la amilasa está sobre 1000 unidades - - Somogyi, está presente una lesión que se puede corregir con cirugía. Cuando la amilasa está sobre 200 y 500 unidades Somogyi, se presenta una necrosis severa ó una - pancreatitis hemorrágica.

Otro procedimiento para detectar la presencia de pancreatitis aguda es la paracentesis abdominal con series de deteminaciones de amilasa en el fluido perito-  
neal.

La elevación de amilasa en este fluido es característica de la pancrea-  
titis aguda.

Otras condiciones como el embarazo ectópico, resulta de un páncreas inflamado por el paso de la enzima hacia la circulación a través de la vena porta. - El conducto torácico también contiene una elevada cantidad de enzima.

La amilasa sérica puede elevarse también cuando hay espasmo del es-- finter de Oddi causado por la administración de opiáceos.

Elevaciones similares ocurren debido a la obstrucción del conducto bi-

liar al esfínter de Oddi por cálculos, carcinoma del conducto biliar ó ampula y carcinoma de la cabeza del páncreas. Cuando una úlcera péptica perforada causa pancreatitis aguda, los niveles de amilasa sanguínea muestran una elevación importante.

Otra elevación de amilasa es causada por un daño en el intestino grueso o delgado por la liberación de la enzima a través de la mucosa intestinal.

Los niveles de amilasa sérica están elevados en la ruptura de un embarazo ectópico, la causa de esta elevación es la liberación de amilasa por la mucosa de las trompas de Falopio.

En la necrosis hepática existen niveles altos de amilasa.

Algunos investigadores creen que la elevación de ésta, se debe usualmente a la falla renal que acompaña a la necrosis hepática. La amilasa es excretada primeramente por el riñón en la orina, y con insuficiencia renal hay una filtración pobre de la enzima, esto hace que se observe una elevación de la amilasa sérica en pacientes con una insuficiencia renal con oliguria ó anuria.

Recientemente se han hecho algunas conjeturas concernientes a la elevación modesta en hepatitis viral sin insuficiencia renal. En presencia de necrosis masiva de hígado, podría encontrarse elevación de amilasa de las células hepáticas necrosadas.

La gama globulina se combina con la amilasa para formar una macroamilasa. En macroamilasemia, condición no usual, la amilasa está unida a inmunoglobulinas IgA ó IgG. Esta condición ha sido asociada a una mala absorción demostrada en biopsia de linfoma.

El linfoma causa mala absorción con la producción de inmunoglobulinas IgA ó IgG, las cuales se unen a la amilasa sérica dando una macromolécula. Presencia de macroamilasa en cantidades grandes, causa una elevación de la amilasa sérica simulando que hay enfermedad pancreática. Elevaciones de amilasa libre ó macroamilasemia no producirá amilasa urinaria elevada. Esto se debe a que el riñón no filtra moléculas grandes. Las glándulas parótidas son una fuente rica de amilasa. Infecciones de las mismas, tales como paperas, sialoadenitis parotida y cálculos en los conductos parotídeos, serían la causa de una elevación de los niveles de amilasa en suero.

Cualquier traumatismo en el abdomen trae como consecuencia daño del páncreas causando un aumento en la amilasa sérica. Un traumatismo en el cerebro puede dar por resultado hiperglicemia la cuál puede estar asociada con menor elevación de amilasa sérica.

Esta respuesta puede ser debida a la hiperglicemia ó al stress inducido por el trauma cerebral.

Otra causa rara de incremento de amilasa sérica es la producción de la enzima por cualquier padecimiento extrapancreático.

La elevación de amilasa en suero, se presenta también después de la ingestión de alcohol, por la estimulación de la secreción de las parótidas y el páncreas.

Encontramos niveles bajos de amilasa sérica en:

- 1.- Administración de glucosa, insulina ó cortisona.
- 2.- Caquexia.
- 3.- Anticoagulantes como oxalatos.
- 4.- Anticoagulantes como citratos.

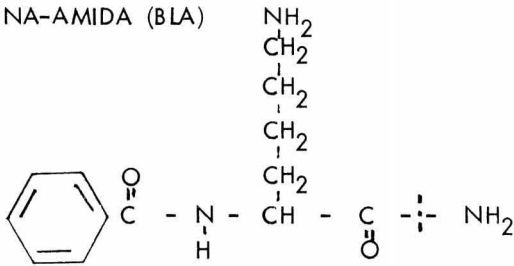
## GRUPO PROTEOLITICO EN SUERO

Este grupo está representado por la tripsina, que son un grupo de enzimas que escinden proteínas y que antiguamente se creyó eran una sola enzima. (13)

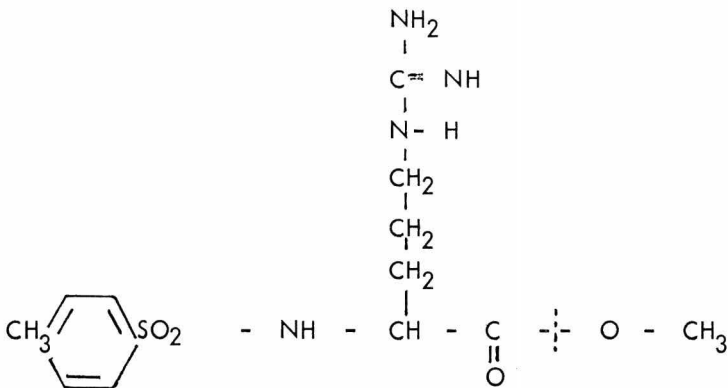
Ahora se sabe que el componente proteolítico del jugo pancreático, - consiste de Tripsinógeno, Quimiotripsinógeno y procarboxipeptidasa.

La tripsina rompe de preferencia los enlaces en que interviene el grupo carboxilo de lisina o de arginina. Esta especificidad, se ilustra a continuación en donde presentamos la estructura de dos substratos sintéticos, a saber:

BENZOIL LISINA-AMIDA (BLA)



ESTER METILICO DE P-TOLUEN SULFONIL L-ARGININA (TAME)



que son hidrolizados rápidamente por la enzima. Aunque su especificidad principal está dirigida hacia enlaces de péptidos, la enzima posee también alguna actividad de esterasa y amidasa.

La tripsina es sintetizada en las células acinarias del páncreas en forma de proenzima inactiva, tripsinógeno (15). Este es almacenado en los gránulos de zimógeno y es secretado al duodeno bajo el estímulo del nervio vago o de la hormona intestinal pancreozimina. En el tracto intestinal, el tripsinógeno es convertido en la enzima activa, por la enzima intestinal enterocinasa o por la tripsina prefomada.

El quimiotripsinógeno se convierte en quimiotripsina por acción de la tripsina. La enzima es una endopéptidasa que parece ataca enlaces de péptido en que interviene el grupo carboxilo de tirosina y fenilalanina.

La carboxipeptidasa se forma con mayor probabilidad a partir de procarboxipeptidasa por la acción de la tripsina. Es una enzima que escinde aminoácidos terminales (exopeptidasa) del extremo del grupo carboxilo libre de la cadena peptídica.

La activación de las tres proenzimas nombradas tiene lugar en el intestino, después de su secreción en el páncreas.

El peso molecular de la tripsina es de 23,800 y la enzima contiene predominio de aminoácidos básicos (pto. isoeléctrico =  $\text{pH} = 10$ ).

El pH para actividad óptima de tripsina frente a sustratos proteínicos está en el intervalo de 8.0 a 9.0 pero con sustratos sintéticos como BIA y TAME el pH óptimo es de 7.8

La enzima ataca preferiblemente cadenas de proteínas desplegadas; por ello para determinar esta enzima, se usan proteínas desnaturalizadas como sustratos.

Las unidades usadas para expresar la actividad de tripsina son todas empíricas y como regla general no pueden ser convertidas a unidades internacionales, como tampoco pueden relacionarse unas con otras .

#### Valores Normales:

La mayoría de los sueros en personas clínicamente sanas presentan V.N. entre 10 y 30 micro moles/ml/hr. TAME (1)

La estimación de tripsina y enzimas proteolíticas en el suero y en el jugo pancreático demostró ser, a través de los años mucho más dificultosa que las que se mencionaron antes. Esto se debe a que están presentes, sustancias antiproteolíticas en asociación con la tripsina y otras enzimas similares.

Esta actividad antitripsina se debe a un presunto mecanismo de defensa para prevenir la autodigestión.

Warter y colaboradores (14) midieron la capacidad inhibitoria de la tripsina y de la quimiotripsina séricas. Y encontraron para la primera, un valor medio de 4.90 - 0.70 unidades y para la segunda de 0.31 - 0.70 unidades por 100 ml e informaron aumentos de hasta 180% en la pancreatitis crónica y de 260 % en la aguda - recidivante o quiste pancreático.

Un aumento de 200% ocurrió en un cáncer de cabeza de páncreas acompañado de Ictericia Obstructiva.



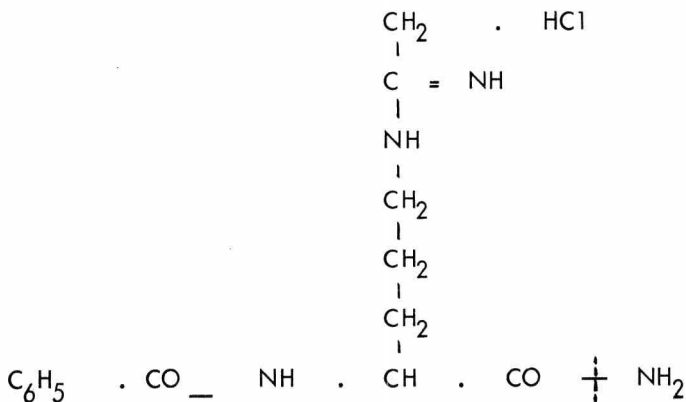
La presencia de inhibidores en la ascitis y líquido pleural de origen - pancreático avala el rol protector de estas sustancias contra la acción proteolítica y explica la aparente ausencia de este tipo de actividad en los pseudoquistes del pán- creas.

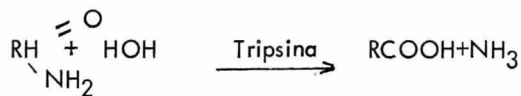
La consecuencia natural de esta activación de las enzimas proteolíti- cas es la erosión de los vasos sanguíneos, con la inevitable hemorragia interquística, - hemorragia digestiva y hematoquecia.

Otros estudios dentro de la misma línea incluyen la determinación de títulos de antitrombina que se usaron en el diagnóstico de pancreatitis aguda y cróni- ca, así como también de quistes y tumores.

La medida directa de la tripsina sérica se hizo hace poco tiempo. - Nardi y Lee (2) ya en 1958 describieron un método para la determinación de la hiper tripsinemia.

Usaron un substrato específico que es el clorhidrato de alfa-benzoyl - l-arginina, cuya fórmula estructural se muestra a continuación:





Este compuesto es hidrolizado rápidamente por la tripsina para dar benzoyl L-arginina y amoníaco.

Siendo bien conocido para nosotros que ninguna otra enzima que se encuentre circulando en la sangre, que no sea tripsina producirá la hidrólisis de este compuesto.

El valor de la reacción es proporcional a la concentración de la enzima.

La prueba se lleva a cabo mezclando el suero del enfermo con el substrato específico por 1 hora. El amoníaco formado es tratado por la modificación de Conway (2), técnica de microdifusión y es proporcional a la tripsina presente en la muestra de suero original.

Los valores son expresados en unidades de actividad trípica.

Se usa como standard tripsina liofilizada comercial.

Arbitrariamente se establecieron valores normales, teniendo como valor máximo, 100 unidades.

Encontrándose así que en enfermedades pancreáticas hay una elevación significativa en los niveles de tripsina en suero.

Se cree que esta elevación es el resultado de una obstrucción del páncreas, combinado con la secreción activa de la glándula.

Además de las estimaciones que se hicieron en la sangre, es posible - realizar el estudio de los fermentos pancreáticos de fluidos obtenidos de las cavidades peritoneal, pleural y otros sitios del organismo.

CAPITULO III

MATERIAL Y METODOS

Como ya se dijo el objetivo de nuestro estudio es valorar la actividad de la enzima Tripsina en padecimientos Pancreáticos, comparada con otro parámetro - ampliamente conocido como es la determinación de Amilasa sérica.

Nuestro estudio consistió en:

1o.- Estudio de la enzima Tripsina.- Cinética de la reacción estudiando:

- a) Variación en la concentración del Substrato.
- b) Variación en la concentración de la Enzima.
- c) Efecto de la Temperatura.
- d) Efecto del pH.
- e) Efecto del Tiempo.

Debido a que estos son los factores que afectan a la velocidad de la reacción. Así como la estabilidad de la enzima y espectro de absorción de la misma, con el objeto de determinar la absorbancia máxima del complejo colorido.

2o.- Determinación de la Tripsina sérica en 35 sueros de personas - "clínicamente sanas", para establecer los valores normales. Y 50 sueros de pacientes con diagnóstico de Pancreatitis del Centro Médico La Raza.

3o.- Determinación de Amilasa en los dos grupos de las personas estudiadas.

El material biológico empleado fué suero extraído en condiciones basales (ayuno de 12 horas) libre de hemolisis y trabajados 1 hora después de obtenida la muestra.

# METODOLOGIA

## TRIPSINA

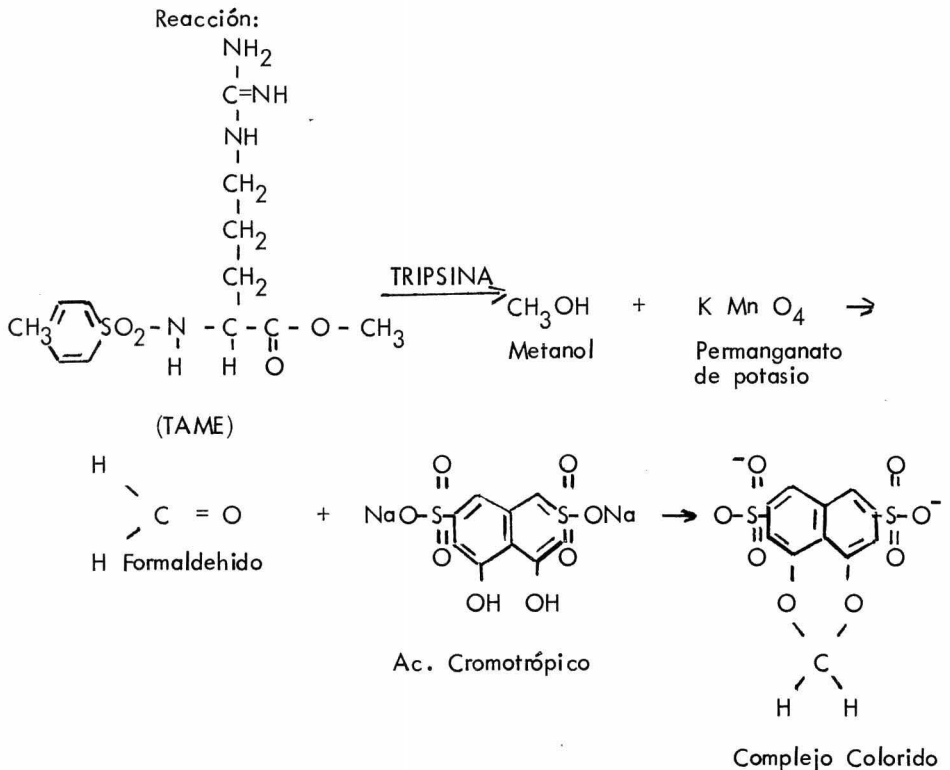
ARTHUR M. SIEGELMAN

ARTHUR S. CARLSON

THEODORE ROBERTSON

Fundamento:

El metanol liberado en la hidrólisis del Estemetilico del p-toluensulfonyl L-arginina (TAME) en amortiguador de boratos, por la tripsina del suero, es oxidado con permanganato de potasio hasta formaldehido. El formaldehido se determina coloriméticamente después de la reacción con ácido cromotrópico.



## APARATOS:

Espectrofotómetro Beckman DU

Centrifuga Internacional

Baño de agua a 37°C

Cronómetro

## MATERIAL QUIMICO:

Acido bórico

Borato de sodio

Substrato TAME

Suero fisiológico

Cloruro de calcio

Acido tricloroacético

Permanganato de potasio

Sulfito de sodio

Acido cromotrópico

Metanol

## REACTIVOS:

a) Solución amortiguadora de ácido bórico borax 0.05 M a pH=8.

Se pesan 0.043 gr de ácido bórico y 4.20 gr de borato de sodio, se  
afora a 1 lt con agua destilada y se ajusta con solución de ácido bórico ó borax res-  
pectivamente.

b) Sustrato TAME 0.025 M

Se pesan 95 mg de sustrato por cada ml de agua.

c) Suero fisiológico.

Se pesan 8.5 gr de cloruro de sodio y se afora a 1 lt con agua destilada y se lleva a esterilizar.

d) Cloruro de calcio, 0.05 M

Se pesan 2.7748 gr de cloruro de calcio y se afora en un matraz de 500 ml con agua destilada, se ajusta el pH a 2.5 con HCl.

e) Acido tricloroacético al 10%

Se pesan 10 gr. de ácido tricloroacético y se afora en un matraz de 100 ml con agua destilada.

f) Permanganato de potasio al 2%

Se pesan 2 gr de permanganato de potasio y se afora en un matraz de 100 ml con agua destilada.

g) Sulfito de sodio al 10%

Se pesan 10 gr de sulfito de sodio, se llevan a un matraz de 100 ml y se afora con agua destilada.

h) Acido cromotrópico, reactivo de trabajo.

En un matraz de 100 ml se ponen 20 ml de agua destilada, y 10 ml de ácido cromotrópico al 2%. Se añaden 60 ml de ácido sulfúrico concentrado (esto se hace en un baño de hielo). Una vez frío se afora con agua destilada.

i) Acido cromotrópico al 2%

Se pesan 2 gr de ácido cromotrópico y se llevan a un matraz de 100 ml y se afora con agua destilada.



j) Acido tricloroacético al 5%

Se pesan 5 gr de ácido tricloroacético, se llevan a un matraz de 100 ml y se afora con agua destilada.

k) Metanol "Key" St.  $10^{-3}$  M en TCA al 5%

Se toman 0.0406 ml de metanol y se llevan a un matraz de 1 lt. Se afora con ácido tricloroacético al 5%.

PROCEDIMIENTO:

1.- Para cada problema, se marcan 2 tubos A y B; a cada tubo, se añaden 0.8 ml de solución buffer.

2.- Solamente al tubo A se añaden 0.02 ml de muestra.

3.- A los tubos A y B se añaden 0.2 ml de substrato TAME en el mismo orden.

4.- Se hace un blanco opcional (1) blanco de reactivo con 0.8 ml de buffer y 0.2 ml del substrato TAME.

5.- Se incuban todos los tubos durante 15 minutos a 37°C.

6.- Después de incubar, se añaden a todos los tubos 1.0 ml de TCA al 10%, primero al tubo A y posteriormente al tubo B.

7.- Solamente al tubo B se añaden 0.02 ml de muestra y se mezclan.

8.- Se centrifugan

9.- Al quedar separados propiamente, se marcan tubos graduados de

10 ml y se añaden 0.5 ml de sobrenadante del paso No. 8. Además se ponen 2 tubos que contengan, ambos 0.5 ml de metanol Key St. ó TCA al 5% que sería el blanco II, estos se agregan al conjunto de tubos.

10.- Adicionar 0.1 ml de permanganato de potasio a cada tubo.

11.- Se agrega 0.1 ml de sulfito de sodio a cada tubo se mezclan hasta que se decoloren.

12.- Se añaden 4.0 ml del ácido cromotrópico a cada tubo, se mezclan fuertemente.

13.- Se calientan a ebullición en baño maría por 15 minutos.

14.- Se dejan enfriar por 3 minutos.

15.- Se agrega agua hasta llevar a un volumen de 5 ml.

16.- Se leen a 580 nm contra agua.

#### CALCULOS:

$$\frac{404 (\Delta D.O.)}{D.O. \text{ del Patrón}} = \text{micro moles/ml/hr. TAME}$$

D o n d e:

$$\Delta D.O. = D.O. \text{ de A} - D.O. \text{ de B}$$

$$D.O. \text{ del patrón} = D.O. \text{ del St.}$$

404 = Factor predeterminado que corresponde a la Extinción Molar del metanol Key utilizado como patrón y el patrón tripsina.

Los valores Normales encontrados son de 15 a 34 micro moles/ml/hr.TAME

# A M I L A S A

## METODO DE STREET CLOSE

### FUNDAMENTO:

La alfa amilasa desdobla almidón ó fécula en dextrinas reductoras y - unidades menores de azúcar. En el método según Street Close que se distingue por - su sencillez experimental y su fácil reproducción, la fracción amilosa del almidón sirve de substrato para determinar la actividad. Al término de cierto lapso de reacción con alfa amilasa, se compara el color azul producido, añadiendo solución de yodo, - en el problema y en el blanco.

Como la extinción declina proporcionalmente a la cantidad de substrato descompuesto, puede calcularse la concentración de la amilasa.

### APARATOS:

Espectrofotómetro ó fotómetro de filtro

Baño de agua a una temperatura constante de 37°C.

Cronómetro.

### MATERIAL QUIMICO:

- (1) Fosfato disódico, fosfato monopotásico cloruro sódico.
- (2) Amilosa
- (3) Yoduro potásico, yodato potásico.
- (4) Acido clorhídrico 0.5 N

REACTIVOS:

1.- Substrato amortiguador.- 0.2 g/1000 ml de amilosa. Cloruro de sodio 0.015M. Amortiguador de fosfato 0.02M a un pH = 7.1

En un matraz aforado de 1000 ml se lava el contenido del reactivo - (1) con unos 800 ml de agua bidestilada después de lavado, se añade el contenido - del reactivo (2), se enjuaga bien con agua bidestilada, y se completa hasta 1000 ml.

2.- Reactivo de color.- Solución 0.008 N de yodo.

Se vierte en un matraz aforado de 500 ml el contenido de los reacti- vos (3) (4); se enjuagan con agua bidestilada y se afora a 500 ml.

PROCEDIMIENTO:

Para cada problema se marcan tres tubos, A, B y C, donde A será el problema, B el blanco y C el Patrón.

	TUBO A	TUBO B	TUBO C
Substrato amortiguador (1)	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml
Se dejan en baño de agua a 37°C			
S u e r o	0.01 ml	-	-
Enzotrol (reconstituído)	-	-	0.01 ml
Se mezclan e incuban durante 15 minutos a 37°C			
Agua destilada	10 ml	10 ml	10 ml
Reactivo de color (2)	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml

Se mezclan bien, y se comparan 5 ó 10 minutos más tarde, su extinción contra agua destilada.

Leer a 620 nm.

#### CALCULOS:

$$\text{Factor} = \frac{\text{U Patrón}}{(\text{D.O. B} - \text{D.O. Patrón})} \quad \text{U. Patrón} = 270$$

$$\text{Conc. de la enzima} = F \times (\text{D.O.B} - \text{D.O. problema})$$

Nota: El patrón utilizado fué ENZA-TROL, producto comercial DADE, con concentración de 270 u/100 ml.

## ESTUDIO CINETICO DE TRIPSINA

### EFFECTO DE LA CONCENTRACION DEL SUBSTRATO

Observamos una relación importante, si mantenemos la concentración de la enzima fija y variamos la concentración del sustrato.

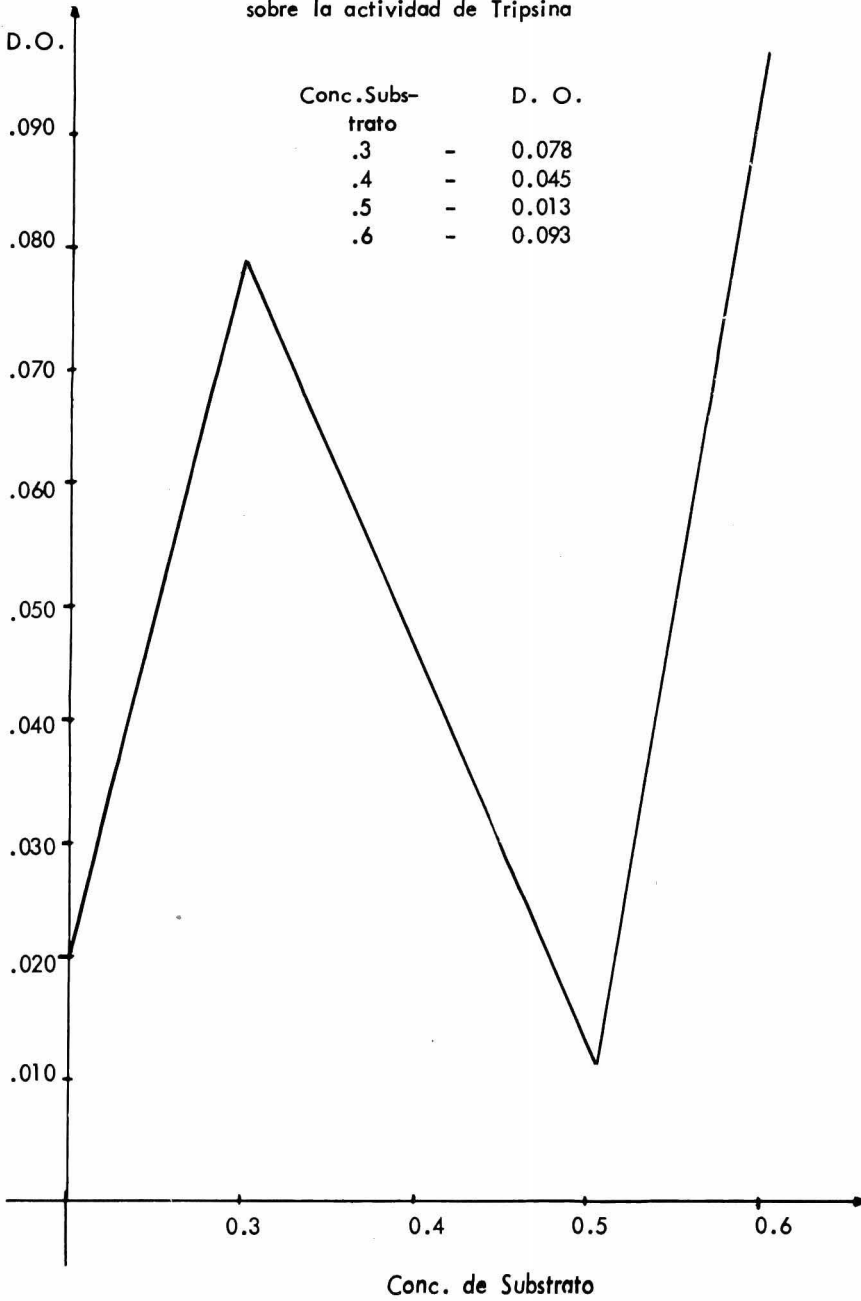
Una elevación de sustrato, manteniendo fija la concentración de la enzima, produce al principio un incremento considerable en la velocidad de la reacción.

A medida que el sustrato va aumentando, la aceleración va disminuyendo hasta que la velocidad de la reacción se estabiliza y aunque se siga aumentando la concentración del sustrato, ya no varía.

Al principio cuando nosotros aumentamos la cantidad de sustrato, la enzima es capaz de activarlo con toda eficiencia pero cuando la cantidad de sustrato ha sobrepasado la capacidad física de la enzima para recibirlo y poder transformarlo - la reacción prosigue a la misma velocidad, independientemente de la cantidad de sustrato adicionada.

GRAFICA No. 1

Efecto de la concentración del sustrato sobre la actividad de Tripsina



## EFFECTO DE LA CONCENTRACION DE TRIPSINA

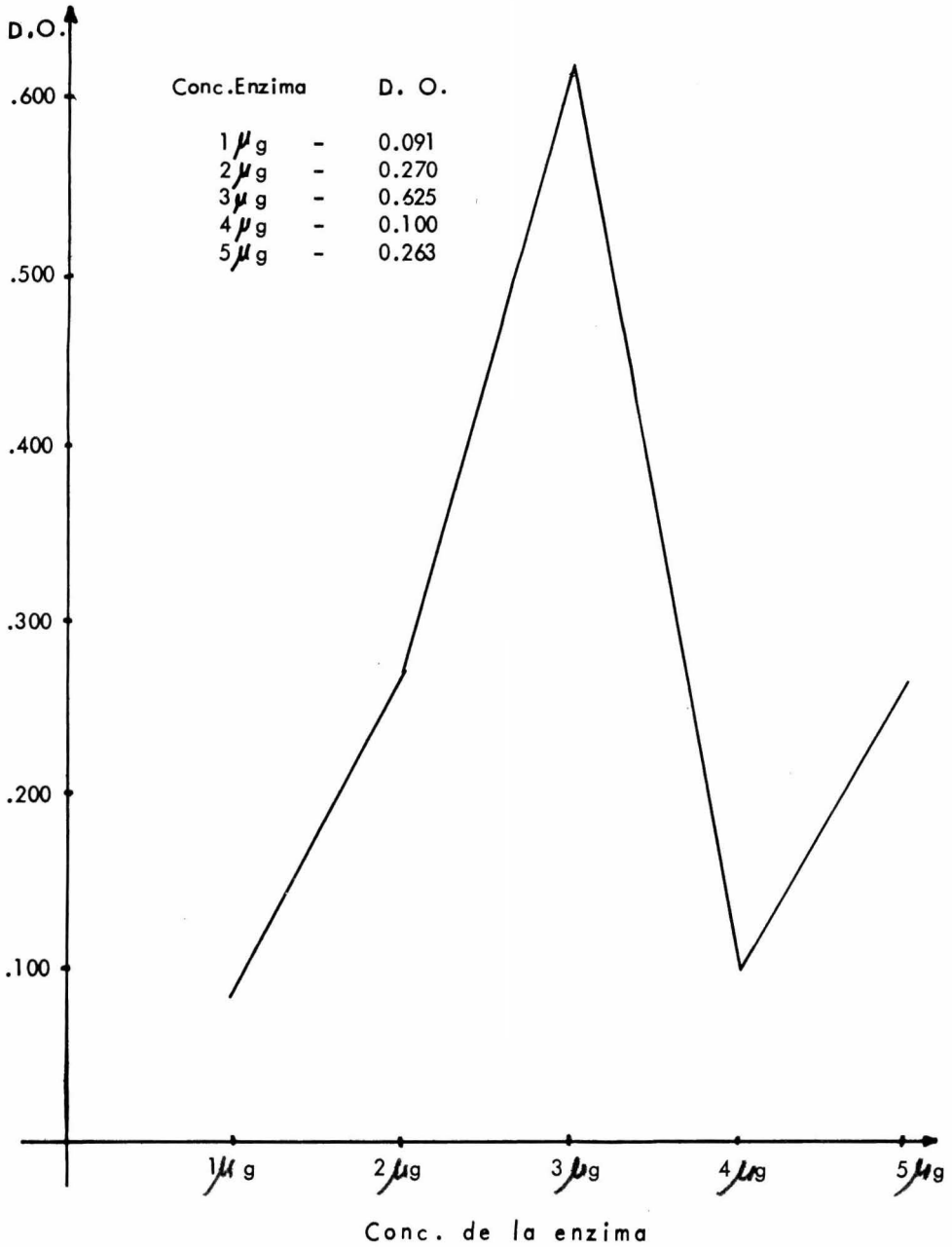
### SOBRE LA ACTIVIDAD ENZIMATICA

Cuando en una reacción enzimática, se sostiene fija la concentración del substrato y lo que variamos es la concentración de la enzima, observaremos el - - aumento proporcional de la actividad con respecto a la enzima, llega el momento en que la enzima es tan abundante que absorbe a todo el substrato y entonces este se - convierte en el factor limitante de la reacción.



GRAFICA No. 2

Efecto de la concentración de Tripsina sobre la actividad enzimática



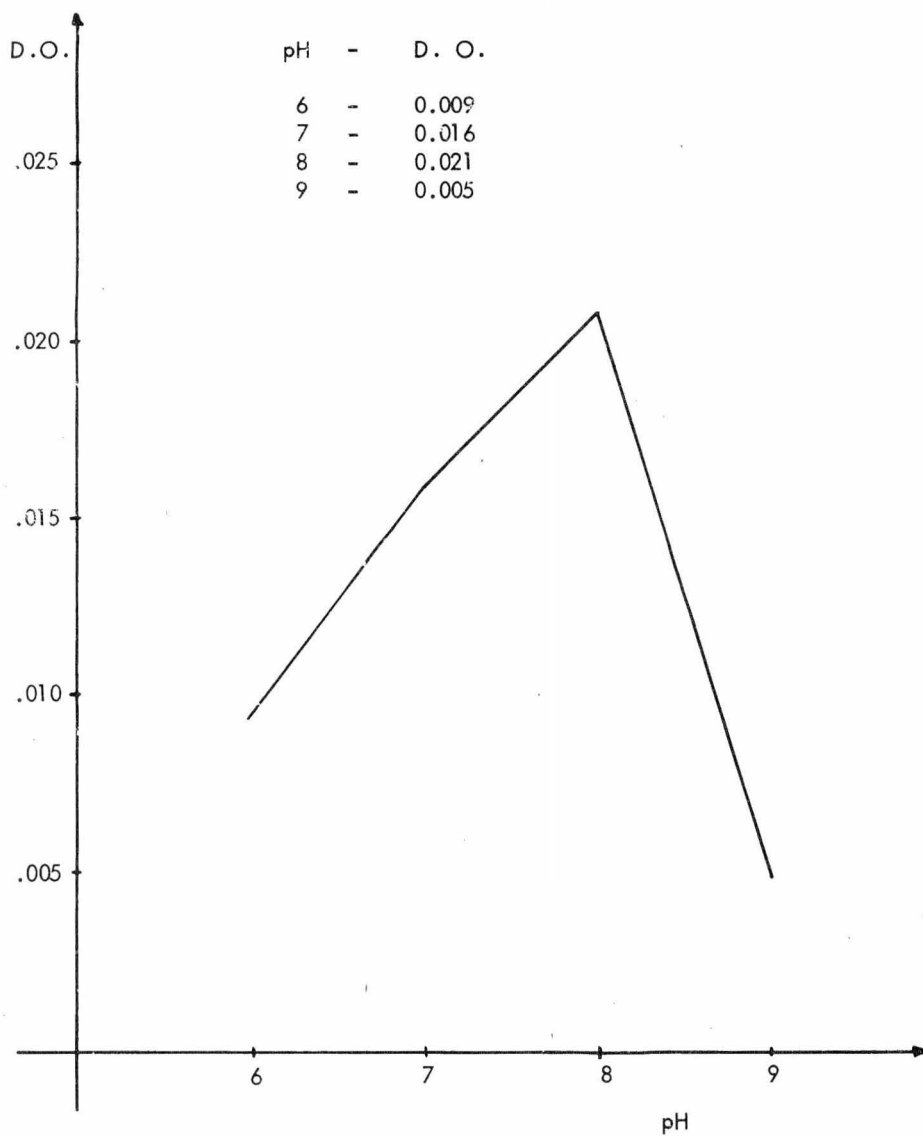
## EFEECTO DEL pH SOBRE LA ACTIVIDAD DE TRIPSINA

Se advierte la presencia de un valor de pH donde la actividad es mayor; se trata de un pH óptimo. Siendo las enzimas de naturaleza protéica, las modificaciones en el pH del medio, afectarán profundamente el carácter iónico de los grupos aminos y carboxilos de la proteína y, en consecuencia, modificarán sus propiedades catalíticas. Valores altos ó bajos de pH pueden producir una desnaturalización de la enzima.

En estudios enzimáticos es muy importante establecer un pH óptimo y los límites de actividad hacia uno ó otro lado. Una vez sabido esto debe mantenerse la reacción en un medio cuidadosamente controlado con soluciones amortiguadoras de adecuada capacidad estabilizadora.

### GRAFICA No. 3

Efecto del pH sobre la actividad de Tripsinia



## EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE LA ACTIVIDAD DE TRIPSINA

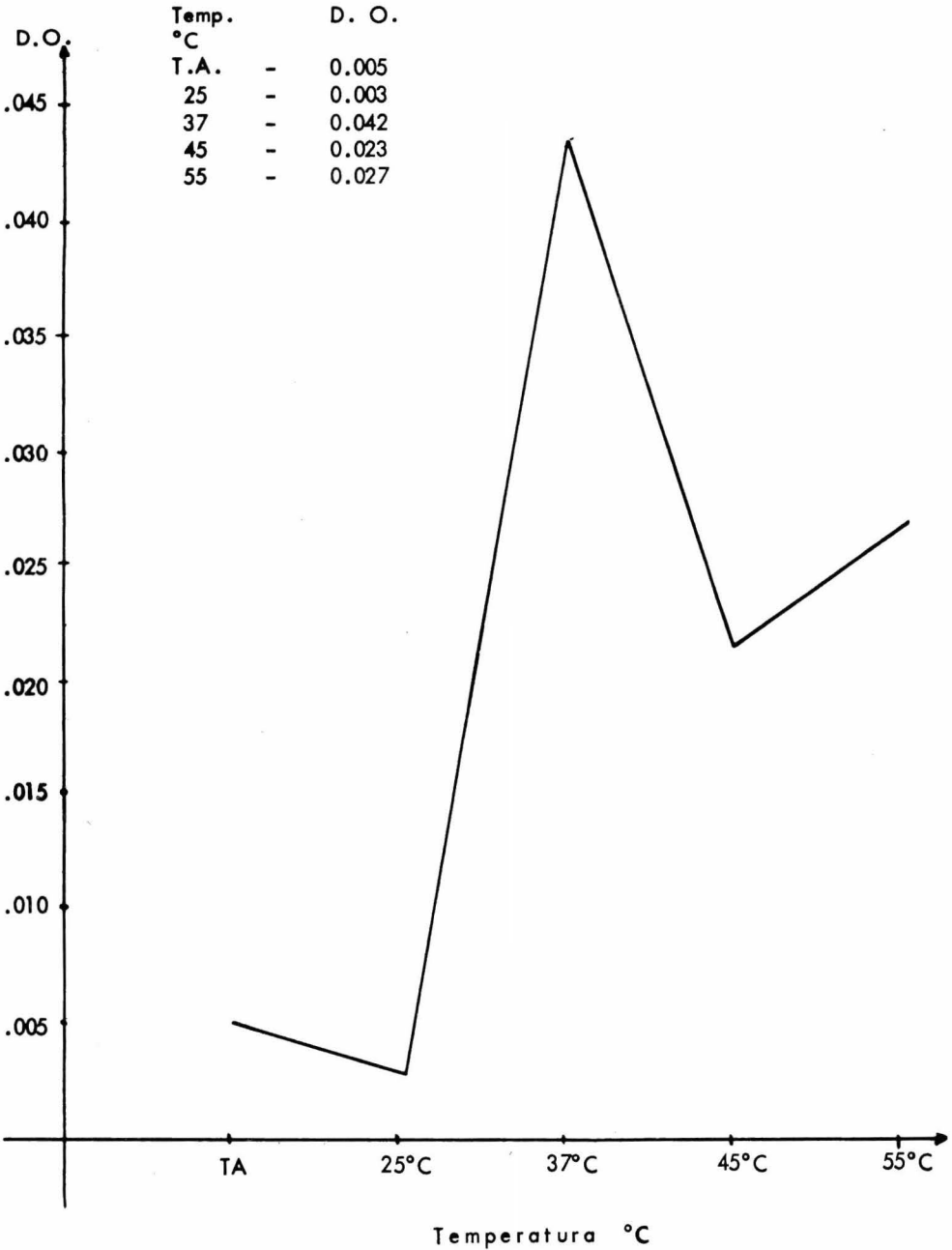
Así como las reacciones químicas son afectadas por la temperatura, - las reacciones enzimáticas también lo son; pero de una manera especial.

Debido a su naturaleza proteica, la desnaturalización enzimática a - temperaturas elevadas hace que disminuya su concentración efectiva y en consecuencia, decrece la velocidad de reacción.

Cuando se aumenta la temperatura más allá de ciertos límites sobrevienen dos fenómenos; por un lado, la actividad enzimática verdadera ó sea la velocidad inicial, presenta un alza conforme se eleva la temperatura de la reacción y por otro lado, simultáneamente con este efecto de activación de la enzima se presenta al fenómeno de la desnaturalización térmica de la enzima, que depende del hecho que son - proteínas que se desnaturalizan rápidamente con el calor, con la pérdida simultánea - de sus propiedades.

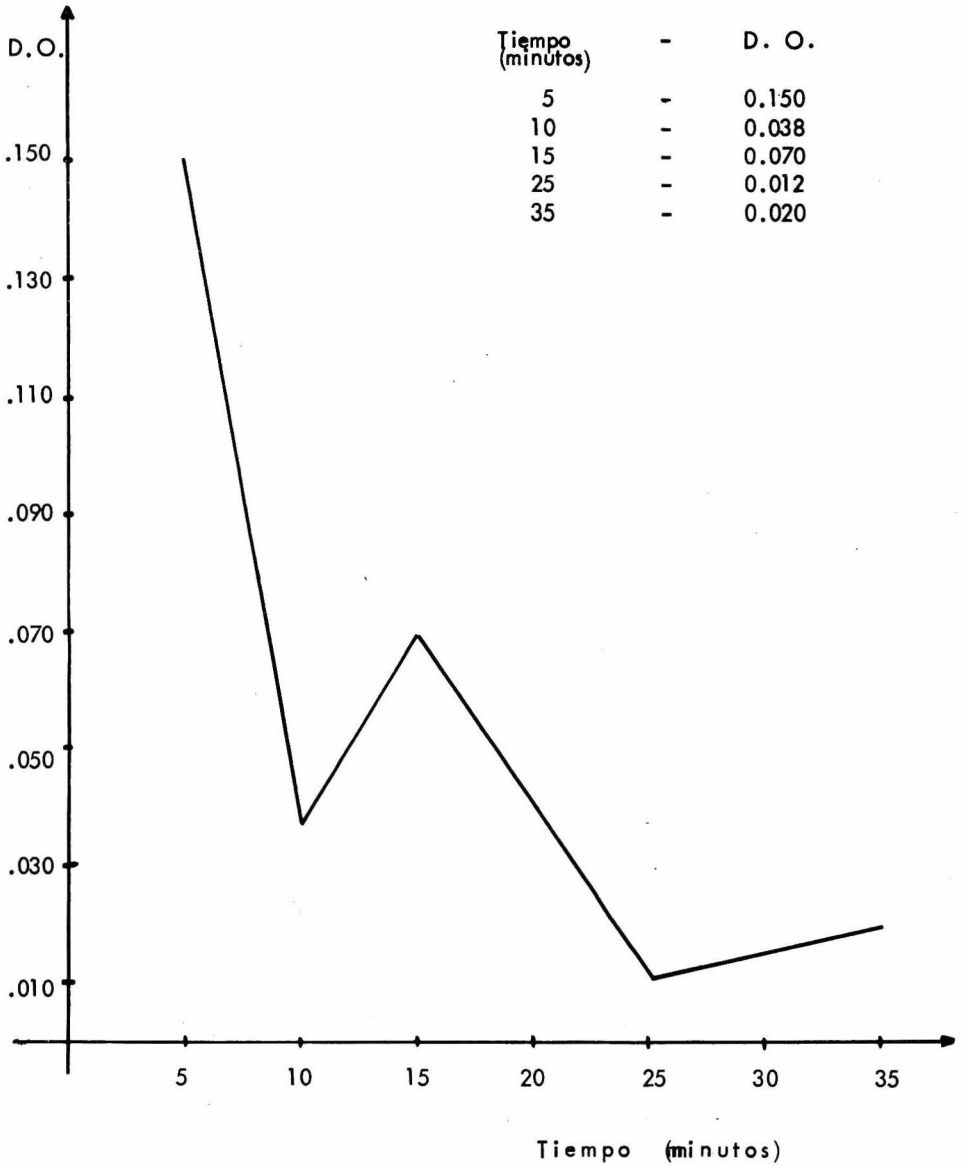
GRAFICA No. 4

Efecto de la temperatura sobre la actividad de Tripsina



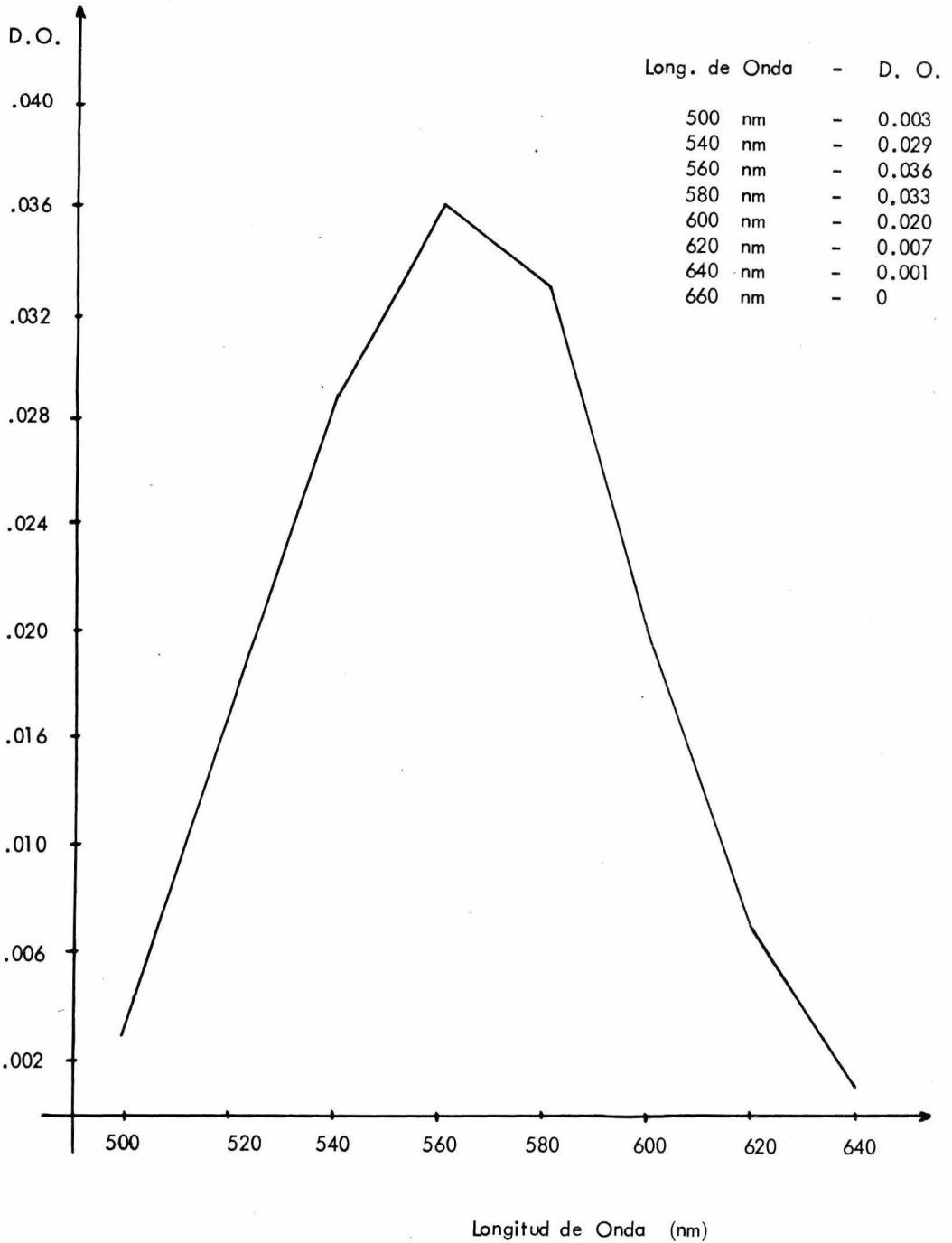
# GRAFICA No. 5

Efecto del tiempo sobre la actividad de Tripsina



GRAFICA No. 6

Espectro de Absorción de Tripsina



## T A B L A No.1

RESULTADOS DE LA DOSIFICACION DE AMILASA Y TRIPSINA  
EN PERSONAS CLINICAMENTE SANAS

Persona No.	Tripsina micro moles/ml/hr TAME	Amilasa U.S.
1	21.07	75
2	19.32	80
3	12.29	88
4	27.42	68
5	35.66	67
6	22.75	82
7	34.26	76
8	27.34	84
9	14.14	93
10	19.53	89
11	32.53	71
12	7.50	96
12	28.76	84
14	37.50	77
15	28.68	88
16	31.26	75
17	34.62	83
18	16.19	92
19	32.70	96



Persona No.	Tripsina micro moles/ml/hr TAME	Amilasa U.S.
20	16.90	110
21	25.73	87
22	26.93	94
23	18.85	79
24	35.70	70
25	33.60	97
26	9.42	115
27	18.85	99
28	36.36	110
29	16.16	94
30	35.03	88
31	33.14	96
32	32.70	78
33	10.29	99
34	7.71	102
35	18.01	95

U.S. = Unidades Somogyi

Los valores Normales de Tripsina son:

15 a 34 micro moles/ml/hr.TAME

Cálculos:

$$\sum X = 858$$

$$\bar{X} = \frac{858}{35} = 24.54$$

$$s = \sqrt{\frac{(X - \bar{X})^2}{n-1}} = \sqrt{88.05} = 9.38$$

$$\bar{X} - s = 24.54 - 9.38 = 15.16$$

$$\bar{X} + s = 24.54 + 9.38 = 33.92$$

## T A B L A No. 2

RESULTADOS DE LA DOSIFICACION DE AMILASA Y TRIPSINA  
EN ENFERMOS CON PANCREATITIS

Paciente No.	Tripsina micro moles/ml/hr TAME	Amilasa U.S.
1	22.03	346
2	15.90	305
3	22.03	711
4	24.48	322
5	13.46	496
6	42.84	281
7	33.18	314
8	40.40	448
9	14.42	669
10	7.21	249
11	53.61	556
12	7.60	271
13	15.30	337
14	13.40	229
15	28.70	243
16	14.60	224
17	25.30	321
18	20.10	250
19	16.80	536

Paciente No.	Tripsina micro moles/ml/hr. TAME	Amilasa U.S.
20	10.00	247
21	10.00	214
22	35.20	240
23	8.20	490
24	20.70	218
25	18.60	337
26	13.80	229
27	26.90	299
28	18.50	496
29	11.54	660
30	16.40	222
31	37.90	358
32	19.50	440
33	26.06	244
34	28.03	510
35	35.25	218
36	17.00	310
37	8.50	402
38	9.92	288
39	34.20	324
40	28.40	662
41	24.24	576
42	18.10	217

Paciente No.	Tripsina micro moles/ml/hr. TAME	Amilasa U.S.
43	22.20	448
44	8.08	239
45	14.04	520
46	12.20	698
47	26.30	431
48	10.70	389
49	12.10	426
50	6.73	348

## DISCUSION

Los resultados que se presentan en la tabla No. 1 corresponden a los obtenidos de personas "clínicamente sanas" con el fin de determinar los valores normales de Tripsina sérica en ellas, tomando como base para ello, la determinación de Amilasa sérica, los rangos que se tomaron fueron del orden de 60 a 180 unidades de Somogyi.

Esto fué hecho con el fin de comprobar los valores obtenidos en México, con los reportados en Estados Unidos por los investigadores Arthur M. Siegelman, Arthur S. Carlson y Theodore Robertson (1) del departamento de Patología del Community Hospital de Glen Cove, New York.

Ellos obtuvieron valores normales de 10 a 30 micro moles/ml/hr.TAME

En nuestro estudio los valores encontrados fueron de 15 a 34 micro moles/ml/hr.TAME; con una media aritmética de 24.54 y una desviación estandar de 9.38.

En la tabla No. 2 se reportan los valores obtenidos de Tripsina sérica en 50 pacientes que ingresaron al hospital con diagnóstico de Pancreatitis, a los cuales, primero se les determinó, amilasa sérica y los valores que tomamos como base fueron de 200 unidades Somogyi en adelante.

Conforme a estos valores podemos observar que únicamente el 40% podrían considerarse como presuntivos de Pancreatitis.

Sin embargo la cantidad de tripsina encontrada no lleva un paralelismo de elevación de las dos enzimas, ya que solamente en dos casos 4% (8 y 11) se observa una ligera elevación de la enzima tripsina, probablemente esto fuera debido

CAPITULO IV

DISCUSION

como mencionamos anteriormente, a que la liberación de la amilasa se produce por diferentes causas, ajenas a las enfermedades del páncreas o también en cuanto a la tripsina que existen inhibidores de ella en suero.

El estudio de la cinética de la tripsina fué realizado como se muestra en las gráficas (1, 2, 3, 4, 5, y 6); variamos la concentración del sustrato, la concentración de la enzima, donde también presentamos el cambio que produce con el efecto del pH, temperatura y el tiempo.

En la gráfica No. 6 hicimos el espectro de absorción del complejo - que se forma, con el objeto de determinar la absorbancia máxima, en donde encontramos que las lecturas del complejo pueden hacerse entre 560 y 580 nm. Para nuestro estudio hicimos las lecturas a una longitud de onda de 580 nm.



CAPITULO V

RESUMEN Y CONCLUSION

## R E S U M E N

- 1.- Se presenta una breve introducción sobre funciones y fisiología del páncreas, así como de las enzimas en estudio, amilasa y tripsina.
- 2.- Se describen con todo detalle las técnicas para la determinación de tripsina por el método de Arthur M. Siegelman, Arthur S. Carlson y Theodore Robertson (1) y la de amilasa sérica por el método de Street Close.
- 3.- Se estudió la cinética de la reacción de tripsina sérica.
- 4.- Se reportan los resultados obtenidos para tripsina en 35 personas "clínicamente sanas" y cuyos valores normales obtenidos fueron de 15 a 34 micromoles/ml/hr. TAME, así como los valores para amilasa sérica que son de 50 a 150 unidades Somogyi por 100 ml.
- 5.- Se reportan los valores obtenidos para tripsina en 50 pacientes con diagnóstico de Pancreatitis, así como los valores para amilasa sérica, en el mismo caso.
- 6.- Se presenta una breve discusión sobre los resultados obtenidos.

## CONCLUSION

De acuerdo a nuestro estudio y a la revisión de los resultados, podemos observar que a la fecha, la determinación de amilasa sérica aún con sus limitaciones sigue siendo la prueba de elección enzimática en las enfermedades Pancreáticas.

Si la tripsina no reveló alteraciones paralelas a la amilasa, que pudieran deberse a los pocos casos estudiados, o que las alteraciones observadas en la amilasa sérica, hayan sido debidas a otros trastornos no pancreáticos, dejamos un camino abierto para futuras investigaciones de la actividad de esta enzima.

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Siegelman M. Arthur, Carlson S. Arthur y Robertson Tehodore; Archives of Biochemistry and Biophysics; 97, 159-163 (1962).
- 2.- Nardi, G.L.; Gastroenterología; 38, 50 (1960).
- 3.- Schwert, G.W., Neurath, H., Kaufman, S., and Snoke J.E.; J. Biol. Chem.; 172, 221 (1948)
- 4.- Schwert, G.W., and Eisenberg, M.A.; J. Biol. Chem; 179, 665 (1949).
- 5.- Croston, C.B.; Archives of Biochemistry and Biophysics; 89, 202 (1960)
- 6.- Milstone, J.H.; Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.; 103, 361 (1960).
- 7.- Troll, W. Sherry, S., and Wachman, J.; J. Biol. Chem.; 208, 85 (1954).
- 8.- Nardi, G. L., y Lees, C. W.; Serum trypsin: A new diagnostic test for pancreatic disease.; New Eng. J. Med.; 258; 797, (1958)
- 9.- Bernard F. Erlanger, Nicholas Kokowsky and William Cohen.; Archives of Biochemistry and Biophysics; 95, 271-278 (1961).
- 10.- Cohen, W., and Erlanger, B.F.; J. Am. Chem. Soc.; 82, 3928 (1960)
- 11.- Keller, P.J., y Cohen E.; J. Biol. Chem.; 236, 1407 (1961).
- 12.- Huang, H.T. and Nieman, C.; J. Am. Chem. Soc.; 73, 3223 (1951).
- 13.- Laguna José; Bioquímica; pág. 38-64 (1947); Segunda Edición; Edit. La prensa Médica Mexicana.
- 14.- W. Tietz Norbert; Química Clínica Moderna; pág. 183-213 (1972); Edit. Interamericana.
- 15.- Stanley L. Robbins; Tratado de Patología; pág. 875-893; Tercera Edición; Edit. Interamericana.