

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

187

VALORACION DE LAS PRUEBAS DESHIDROGENASA
ISOCITRICA Y ALDOLASA EN PADECIMIENTOS
HEPATICOS

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a
LEOPOLDO JAIMES RAMOS

México, D.F.

1973



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Química

"VALORACION DE LAS PRUEBAS DESHIDROGENAS
ISOCITRICA Y ALDOLASA EN PADECIMIENTOS-
HEPATICOS"

LEOPOLDO JAIMES RAMOS
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

1 9 7 3

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE

<i>Presidente Prof.</i>	FERNANDO VELEZ OROZCO
<i>Vocal Prof.</i>	RAMÓN GUEVARA ESTRADA
<i>Secretario Prof.</i>	DEA CORONADO PERDOMO
<i>1er. Suplente Prof.</i>	ALFREDO GARZON SERRA
<i>2o. Suplente Prof.</i>	MARIO MIRANDA CASTRO

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

Centro Médico La Raza

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUSTENTANTE:

Leopoldo Jaimes Ramos

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL ASESOR DEL TEMA:

Prof. Dea Coronado Perdomo

A MIS PADRES

A MIS HERMANOS

A MARIA LUISA

A LA MEMORIA DE MI ABUELO

LEOPOLDO JAIMES SANCHES

A M I S T I O S

EDELMIRA JAIMES DE MONDRAGON

ANTONIO JAIMES ANTUNEZ

LEONARDO MONDRAGON TORRES

*Esta tesis fue llevada a cabo con la ayuda y
dirección de la Profa. Dea Coronado Perdomo,
quien supo encauzarme y animarme durante su
elaboración*

A ella con profundo agradecimiento.

Agradezco al Hospital General del Centro Médico La Raza, todas las facilidades que me brindó a través de su servicio de laboratorio, así como al Dr. Pablo Rivera y a todo el personal del Hospital que contribuyó a la realización de este trabajo.

A los Profesores:

Fernando Vélez Orozco y

Ramón Guevara Estrada

Por su valiosa colaboración

A mi mejor amigo

I N D I C E

	<i>Pág.</i>
INTRODUCCION	1
GENERALIDADES	3
MATERIAL Y METODOS	8
RESULTADOS	42
RESUMEN Y CONCLUSIONES	63
BIBLIOGRAFIA	69

I N T R O D U C C I O N

El estudio de los padecimientos hepáticos, se ha venido -- realizando mediante el empleo de un grupo de pruebas funcionales en el la boratorio; esto es debido a que ninguna de las pruebas hasta ahora conoci das puede catalogarse de específica y definir los distintos estados pato- lógicos. Tal dificultad para poner de manifiesto cambios en la estructu- ra y función del hígado, obedece fundamentalmente a que es un órgano que posee enormes reservas de carácter funcional, que se regenera tan rapida- mente que la actividad de las células jóvenes y sanas oculta la disfun- ción del tejido lesionado (6).

Con el descubrimiento de las transaminasas como una prueba de la lesión celular hepática, realizado por Wroblewsky y La Due, la enzi mología se reveló como una ciencia de gran interés para el Bioquímico, -- desde entonces se vienen produciendo una multiplicación de ellas. En la actualidad, el empleo de este tipo de pruebas, ha tomado creciente impor- tancia como resultado del desarrollo de técnicas más precisas y específi- cas, para una mejor comprensión de su significado (6).

En atención a los trabajos publicados por Sterkel, Spencer, Wolfson, Williams-Ashman (19), se ha señalado que la enzima DESHIDROGENASA

ISOCITRICA SERICA, se eleva sensiblemente y en forma específica en los padecimientos hepáticos, ya que prácticamente, solo en estos y en casos de hemólisis sufre modificaciones.

Por otra parte, comunicaciones iniciales de Sibley, Lehninger y Fleisher (16) (17) y posteriores de Bruns, Puls y otros (5), refieren - que la ALDOLASA SERICA se eleva marcadamente y en forma temprana en hepatitis, encontrándose en cambio valores normales en ictericia obstructiva y en cirrosis.

Tomando en cuenta que ninguna de ambas determinaciones enzimáticas había sido motivo de estudio en nuestro país, en los padecimientos hepáticos, se consideró de interés el diseñar un estudio de ellas, con objeto de conocer el grado en que se elevan en cada uno de los padecimientos analizados y observar su comportamiento en relación a otras enzimas conocidas.

G E N E R A L I D A D E S

Las enzimas son sustancias de naturaleza proteica que catalizan las reacciones químicas que se llevan a cabo en los sistemas biológicos, sin cuya acción ocurrirían muy lentamente o no se presentarían. Una característica enzimática importante es la especificidad de sustrato, -- esto se debe a la compleja constitución de la molécula proteínica, a la estructura particular del sitio activo y a la configuración estructural de la molécula de sustrato. Por estas razones, una enzima selecciona solamente una serie determinada de compuestos a los que ataca (8).

Estos fermentos son producidos intracelularmente y son liberados al plasma y otros fluidos corporales, donde su actividad puede ser medida por su habilidad para acelerar la reacción química que cataliza (3).

La elevación en suero de la actividad enzimática puede ser el resultado de un aumento en su producción, como ocurre en el desarrollo de tejido neoplásico; de un aumento en su liberación hacia el plasma posterior a necrosis tisular, como en la hepatitis; o bien, de la disminución en su eliminación del organismo como resultado de obstáculo en las vías excretoras, como en la obstrucción del sistema biliar.

Como se dijo anteriormente, el estudio enzimático adquiere en

el curso de los años, un lugar destacado entre los métodos para comprobar el estado del funcionamiento hepático, conduciendo a progresos diagnósticos muy importantes; y es así, por que el hígado ocupa una posición central en el metabolismo de los fermentos.

Entre otras enzimas estudiadas que presentan alteraciones en los padecimientos hepáticos se encuentran: La DESHIDROGENASA ISOCITRICA y La ALDOLASA.

DESHIDROGENASA ISOCITRICA. (D.I.C.)

El primero que se ocupó de la Deshidrogenasa Isocítrica, fue Bodansky en 1956. Aunque se había demostrado en el suero sanguíneo y fluido cerebro espinal de mamíferos un número de deshidrogenasa que utilizaban NAD^+ como un aceptor de hidrógeno, no existía información concierne de enzimas ligadas a $NADP^+$. Faulkner encontró que la sangre del gusano de seda contenía una enzima málica y una deshidrogenasa alcohol polihídrico fosfato, las cuales eran específicas para $NADP^+$. Wolfson y Williams-Ashman encontraron que el suero y los eritrocitos humanos y la sangre de rata contenían deshidrogenasa isocítrica que requerían $NADP^+$ como aceptor específico de hidrógeno (20).

Esta enzima cataliza en el ciclo del ácido tricarboxílico, la descarboxilación oxidativa en forma reversible del ácido isocítrico a ácido alfa cetoglutarico y bioxido de carbono, en presencia de un catión divalente (Mg^{++} o Mn^{++}), actuando como oxidante un piridín nucleótido, que interviene como aceptor de hidrógeno.

Esta enzima está clasificada dentro del grupo de las oxido-reductasas (deshidrogenasas), las cuales catalizan la transferencia de hidrógeno en los procesos de oxidación celular.

Se le encuentra presente en los eritrocitos y en algunos otros órganos, pero donde alcanza una mayor proporción es en el hígado, fundamentalmente en el protoplasma de las células parenquimatosas. Como la mayoría de las enzimas de localización intracelular, su elevación en el plasma tiene lugar cuando hay una necrosis de las células o una alteración en la permeabilidad de sus membranas, que ocasiona su salida del interior de la célula al espacio intersticial y de éste al plasma.

Se han reportado en casos de hepatitis aguda elevaciones muy importantes y de menor grado en casos de metástasis hepática, de igual manera que en ictericia obstructiva debida a pancreatitis o carcinoma del páncreas; siendo normal, en cambio, en la coledocolitiasis. Respecto a la cirrosis hepática se ha encontrado normal, o solo discretamente elevada. Tanto Bodansky y Cols (4), como Cohen y Cols (7), le describen sensibilidad y especificidad comparativamente igual a las transaminasas, pero no encuentran en cambio una ventaja significativa en su uso, en comparación con tales enzimas.

ALDOLASA.

El interés en esta enzima se originó con las observaciones de Warburg y Christian, en que cinco de las once enzimas que intervienen en la glucólisis estaban en el suero sanguíneo de ratas y que los niveles de

dos de ellas, la aldolasa y la triosa isomerasa, estaban constantemente incrementados en el suero de ratas que presentaban grandes tumores (14).- Empleando métodos analíticos independientes Sibley y Lehninger, algunos años más tarde confirmaron los datos anteriores y demostraron que en estos animales, el alto contenido de la enzima en el suero se relacionaba con la presencia del neoplasma y no con los efectos malignos secundarios.

Subsecuentemente se demostró que el nivel elevado de aldolasa sérica, era el resultado de una liberación excesiva de la enzima por la masa del tumor (15).

Bruns y Puls (5), notaron un nivel aumentado de aldolasa sérica en pacientes con ictericias hepatocelulares y reportaron una elevación extrema en los valores enzimáticos séricos en ratas, inyectándoles intravenosamente tetracloruro de carbono.

Esta enzima juega un papel crucial en la cadena de reacciones que comprenden la glucólisis, catalizando la división reversible de la fructosa-1, 6-difosfato en gliceraldehído-3-fosfato y fosfato de dihidroxiacetona. Se encuentra clasificada dentro del grupo de las liasas, las cuales efectúan el rompimiento de uniones carbon-carbon sin transferencia de grupos.

Se encuentra ampliamente distribuida en todas las células del cuerpo, especialmente en músculo esquelético, músculo cardíaco, hígado y en los eritrocitos.

Sibley y Lehninger (16) iniciaron el estudio de la aldolasa -

en el suero humano de pacientes con enfermedades hepáticas. En este tipo de padecimientos, Sibley y Fleisher (14), encontraron aumento hasta diez veces sobre el valor normal como promedio, en la fase temprana de la hepatitis aguda, siendo normal o solo discretamente elevado en casos de cirrosis o ictericias obstructivas.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL BIOLÓGICO

Se estudiaron sueros frescos y libres de hemólisis de 50 enfermos hospitalizados, de los cuales 40 correspondieron al Hospital General y 10 al Hospital de Infectología del Centro Médico La Raza.

Con el fin de conocer el comportamiento de las enzimas en diferentes circunstancias clínicas, se consideró conveniente el estudio de un grupo de enfermedades hepáticas y un grupo de control de enfermedades de órganos en relación anatómica y funcional con el hígado, cada uno de los grupos se dividió en padecimientos agudos y crónicos, a su vez, los padecimientos hepáticos se clasificaron en difusos y focales.

Se seleccionó como representativa de la patología hepática aguda con localización difusa a la hepatitis de naturaleza viral (se estudiaron 10 casos) y de la focal al absceso hepático (10 casos). De los padecimientos hepáticos crónicos se escogió como representante de los difusos a la cirrosis hepática (10 casos) y de los focales al carcinoma primario y secundario de hígado (5 casos).

De los padecimientos extrahepáticos se eligió a la pancreatitis aguda (10 casos) como modelo de los agudos y a la ictericia obstructiva maligna de los crónicos (5 casos).

En todos los casos se practicó la determinación de las enzimas deshidrogenasa isocítrica y aldolasa al ingreso, a los 7 y 14 días de estancia hospitalaria. Como pruebas enzimáticas ya establecidas y para comprobar el comportamiento de las dos enzimas en estudio se eligieron: - la transaminasa glutámico-oxalacética, transaminasa glutámico pirúvica, - deshidrogenasa láctica y fosfatasa alcalina.

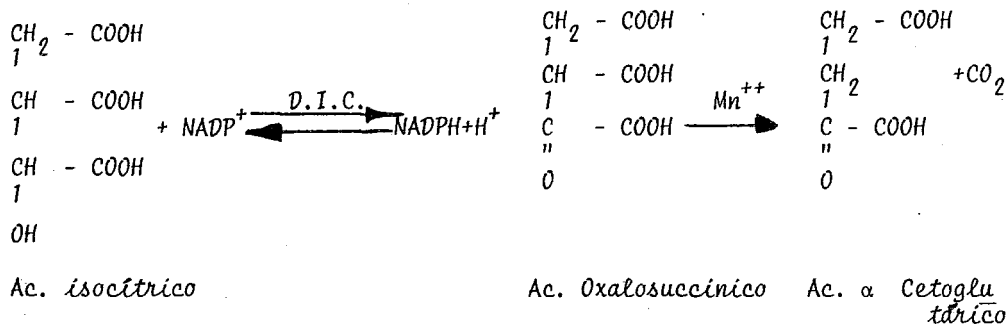
A) DESHIDROGENASA ISOCITRICA

Método:

(Wolfson y Williams-Ashman (ultravioleta a 25°C)

Fundamento:

Este procedimiento se basa en la medida de la absorción de la luz por la coenzima (NADP⁺) que participa en esta reacción. La determinación del aumento de extinción producido por la coenzima reducida, dihidrofosfato de nicotinamida-adeninucleótido (NADPH), se utiliza como base en esta prueba; con un coeficiente de extinción molar de 3.3×10^6 (cm, - ml.) a 366 nanómetros, el coeficiente de extinción micromolar es por lo tanto, 3.3.



Material de laboratorio:

Tubos de ensaye

Pipetas y micropipetas

Baño de agua a 25°C.

Espectrofotómetro (El utilizado en este trabajo fue el CARL-ZEISS modelo PMQ II, 30437)

Cubetas de cuarzo de 1 cm. de espesor

Reloj de intervalos

Material químico:

Los reactivos utilizados en este método fueron de los laboratorios BOEHRINGER.

Reactivo 1. Sustrato amortiguado a pH de 7.5

<i>Trietanolamina</i>	<i>0.1 M</i>
<i>DL-isocitrato</i>	<i>4.6 mM.</i>
<i>Cloruro de sodio</i>	<i>52 mM.</i>
<i>Agua bidestilada</i>	<i>75 ml.</i>

Estable aproximadamente por tres meses a + 4°C.

Reactivo 2. Coenzima

NADP ⁺	9.1 mM
Sulfato de manganeso	0.12 M
Agua bidestilada	75 ml.

Estabilidad aproximada de cuatro semanas a + 4°C.

Procedimiento:

- Pipetear en un tubo 2.5 ml. de sustrato (reactivo 1)
- Adicionar 0.5 ml. de suero problema
- Mezclar e incubar en baño de agua a 25°C, cinco minutos.
- Agregar 0.1 ml. de coenzima (reactivo 2)
- Mezclar y vaciar a una cubeta de 1 cm. de espesor
- Leer la extinción a 366 nm., contra blanco de aire, - tomar exactamente el tiempo en que se hace la lectura, repetir esta a 1, 2 y 3 minutos cronometrados.
- Calcular el promedio de las diferencias en las lecturas obtenidas por minuto ($\Delta E/\text{min}$) y usar este valor - en los cálculos de la siguiente manera.

$$\frac{A \times B}{C \times D \times E} = \text{Unidades Internacionales /ml. de muestra}$$

1 miliunidad = 1/1000 de la unidad internacional.

$$\frac{A \times B}{C \times D \times E} \times 1000 = \text{miliunidades internacionales/ml. de muestra}$$

Donde:

A = al promedio de las diferencias en las extinciones -- por minuto ($\Delta E/\text{min}$)

B = al volumen total de la determinación (3.1 ml.)

C = coeficiente de extinción micromolar del NADPH a 366 nm (3.3)

D = espesor de capa en cm. (1 cm.)

E = volumen de la muestra (0.5 ml)

De acuerdo con la fórmula se observa que: a excepción de $\Delta E/\text{min}$, todos los demás valores son constantes, obteniéndose un factor si las lecturas se hacen a 366 nm.

$$F = \frac{3.1}{3.3 \times 1 \times 0.5} \times 1000 = 1879$$

Simplificándose de esta forma los cálculos, ya que basta con multiplicar el promedio de las diferencias de extinción ($\Delta E/\text{min}$) por el factor, para obtener directamente las miliunidades por ml. de muestra.

Con diferencia en las extinciones excediendo de 0.050/min a 366 nm, hacer una dilución del problema mezclando 0.1 ml. de suero con 0.9 ml. de solución salina fisiológica y repetir la prueba con 0.5 ml de esta dilución, el resultado se multiplica por 10.

Este es un método que no necesita calibración con patrones establecidos, ya que se conocen los valores exactos de los coeficientes de extinción para el NADPH y el NADH.

Definición de unidad:

Es la actividad enzimática que bajo las condiciones del método, transforma 1 micromol de sustrato en un minuto.

Valores normales:

La actividad enzimática considerada normal para la des--hidrogenasa isicétrica en este estudio, es hasta de 7 ml/ml. valores establecidos por estudio de 10 personas clínicamente sanas.

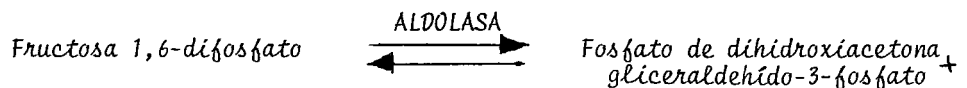
B) ALDOLASA

Método:

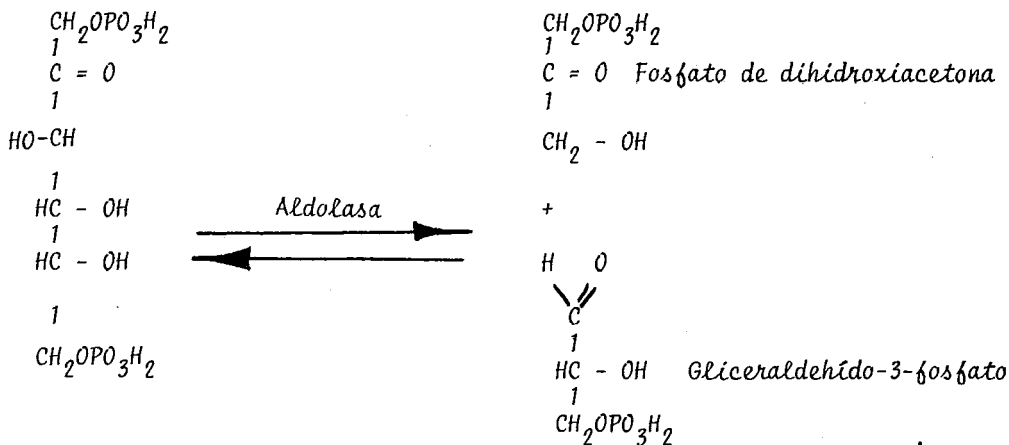
J.A. Sibley and A.L. Lehninger (modificado)

Fundamento:

Este método está basado en la reacción directa



Se adiciona hidrazina a la mezcla de reacción para formar hidrazonas de el aldehído y cetona producidos, previniéndose así la acción de una isomerasa, la cual está también presente, manteniéndose de esta forma cantidades iguales de los dos productos. Después de la reacción enzimática las proteínas son precipitadas con ácido tricloroacético y las triosas fosfato son hidrolizadas con álcali a las correspondientes triosas, las cuales son convertidas a osazonas con 2,4-dinitrofenilhidrazina que en solución alcalina producen un color característico, siendo proporcional la intensidad del color a la cantidad de triosa presente, la cantidad de triosa producida es referida a la cantidad de aldolasa adicionada originalmente.



Fructosa-1.6-difosfato

Material de laboratorio:

Tubos de ensaye

Pipetas

Baño de agua a 37°C

Centrífuga

Espectrofotómetro (El utilizado en este trabajo fue el-Coleman Junior II, 6/20)

Cubetas de vidrio de 19 x 105

Reloj.

Material químico:

Los reactivos utilizados en este método fueron de los -- laboratorios SIGMA.

1. Sustrato. Fructosa-1,6-difosfato 0.05 M:

214 mg. de fructosa-1,6-difosfato en 10 ml. de agua destilada. Estabilidad aproximada de dos semanas - almacenado en el refrigerador y probablemente varias semanas si se conserva congelado.

6. Se adiciona a cada tubo:

1.0 ml. de NaOH 0.75 N.

Se mezcla suavemente y se deja reposar a temperatura ambiente por un mínimo de 10 minutos, pero no más de 20.

7. A cada tubo se agrega:

1.0 ml. de solución de 2,4-dinitrofenilhidrazina.

Se mezcla suavemente y se coloca en un baño de agua a 37°C., marcando el tiempo.

8. Después de 20 minutos los tubos se retirán del baño y se les adiciona:

7.0 ml de NaOH 0.75 N.

Se mezcla por inversión varias veces y se deja reposar a temperatura ambiente por un mínimo de 5 minutos.

9. El contenido de los tubos se transfiere a cubetas de 19 x 105 y usando el tubo blanco como referencia, se determina la densidad óptica o el % de transmitancia a longitud de onda de 535 nm. Las lecturas deben de ser hechas dentro de los 10 minutos posteriores a la adición de NaOH, debido a que el color disminuye con el tiempo.

10. Se determina la actividad de aldolasa de la muestra problema, interpolando en la gráfica de calibración los valores de la densidad óptica o % de transmitancia obtenidos.

Si los valores son mayores de 125 unidades S-L/ml., se repite la prueba con suero diluido 1:5, el resultado se multiplica por cinco.

Gráfica de calibración:

1. Se marcan 2 matraces Erlenmeyer de 50 ml. patrón y blanco, respectivamente.

- 1
- a) Pipetear 1.0 ml. de agua al matraz marcado como blanco.
 - b) Pipetear 1.0 ml. de solución de calibración para aldolasa al matraz marcado como patrón.
2. Adicionar a ambos matraces en el orden indicado:
- a) mezclar por rotación después de cada adición.
 - 0.1 ml. de solución de hidrazina
 - 1.0 ml. de ácido tricloroacético al 10%
 - 2.0 ml. de NaOH 0.75 N.
 - 2.0 ml. de solución de 2,4-dinitrofenlhidrazina.
 - b) Colocar ambos matraces en un baño de agua a 37°C.
3. 20 minutos después agregar a ambos matraces: 14.0 ml. de NaOH 0.75 N.
- Mezclar bien por rotación y dejar reposar a temperatura ambiente.
4. Con el contenido de estos matraces se preparan las siguientes diluciones.

tubo	Blanco (ml)	Patrón (ml)	D.O.	% T	Unidades S-L/ml.
1	5	0	0	100	0
2	4	1	0.134	71	25
3	3	2	0.276	50	50
4	2	3	0.415	36	75
5	1	4	0.555	27	100
6	0	5	0.695	20	125

5. Se determina la densidad óptica o el % de transmitancia de los tubos 2 al 6 usando el tubo número 1 como blanco de referencia a 535 nm.

Terminar las lecturas dentro de los 15 minutos que siguen a la adición de NaOH (paso 3)

6. Dibujar la gráfica de calibración de la densidad óptica o % de transmitancia contra las correspondientes unidades S-L/ml.

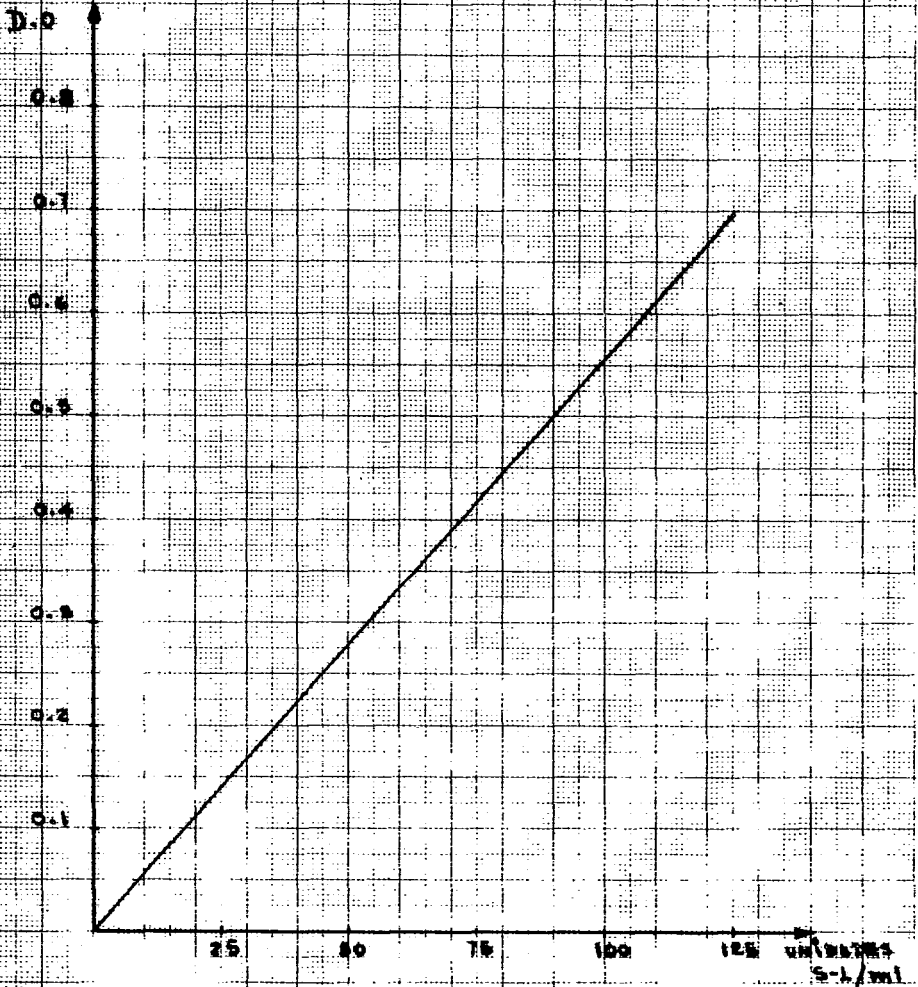
Definición de unidad:

La unidad Sibley-Lehninger (S-L) de actividad de aldolasa, se define como la cantidad de enzima que desdoblará un milímetro cúbico de fructosa-1,6-difosfato por hora a 37°C., bajo las condiciones del método.

Valores normales:

La actividad enzimática normal para la aldolasa es de hasta 8 unidades Sibley-Lehninger/ml. Valores establecidos por estudio de 10 personas clínicamente sanas.

GRÁFICA DE CALIBRACION PARA ALDOLASA



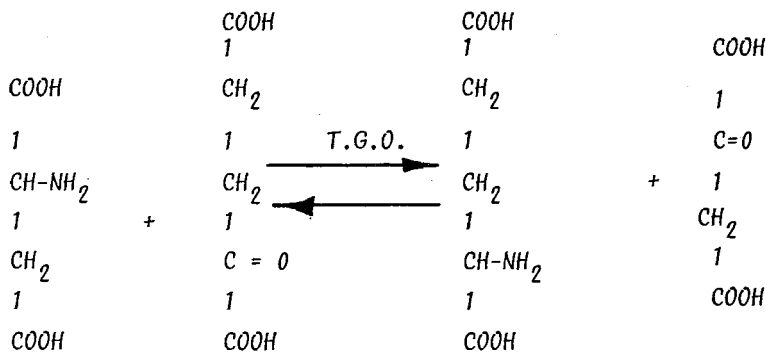
C) TRANSAMINASA GLUTAMICO-OXALACETICA

Método:

Reitman-Frankel (modificado)

Fundamento:

La enzima transaminasa glutámico oxalacética (T.G.O.) cataliza la conversión del ácido aspártico y alfa cetoglutárico en ácido -- glutámico y ácido oxalacético. A medida que se forma el ácido oxalacético se descompone parcialmente en ácido pirúvico. Al añadir 2,4-dinitrofenil hidrazina se forman hidrazonas del ácido alfa cetoglutárico, del ácido -- oxalacético y del ácido pirúvico. En una solución alcalina, estas hidrazonas desarrollan un color café; pero los ácidos oxalacético y pirúvico producen más color que el sustrato, ácido alfa cetoglutárico. Así, la actividad T.G.O. en el suero se puede relacionar con el aumento de color producido.



Ac. Aspártico

Ac. α cetoglutárico

Ac. glutámico

Ac. Oxalacético

Material de laboratorio:

Tubos de ensaye

Pipetas

Baño de agua a 37°C.

Espectrofotómetro (El utilizado en este trabajo fue el Coleman Junior II, 6/20)

Cubetas de vidrio de 19 x 105

Reloj.

Material químico:

Los reactivos utilizados en este método fueron de los laboratorios HYLAND.

1. Sustrato amortiguado de T.G.O

Transferir 0.146 g de ácido alfa cetoglutarico y 13.3 g de ácido DL-aspartico a un matraz aforado de 500 ml. agregar NaOH 1 N, hasta una disolución completa, ajustar el pH a 7.4 y llevar al aforo con amortiguador de fosfatos. Esta solución es estable cuando se conserva refrigerada.

2. Suero humano liofilizado que se usa como patrón ya -- que al ser reconstituido con agua destilada, proporciona 200 unidades de T.G.O.

3. Amortiguador de fosfatos 0.1 M, a un pH de 7.4 Disolver 23.86 g de Na_2HPO_4 y 4.36 g de K_2HPO_4 en agua destilada y llevar a dos litros.

4. Solución de 2,4-dinitrofenilhidrazina (Revelador de color).

Disolver 0.198 g de 2,4-dinitrofenilhidrazina en un litro de HCl 1 N. Se conserva en frasco obscuro en el refrigerador.

5. Hidróxido de sodio 0.4 N.

Disolver 16 g de NaOH en agua destilada y completar a un litro.

Procedimiento:

1. En un tubo de ensaye pipetear 1.0 ml de sustrato amortiguado y colocarlo en un baño de agua a 37°C. durante 5 minutos.
2. Añadir 0.2 ml. de suero problema al tubo, cronometrando el tiempo exacto. Mezclar bien e incubar en un baño de agua a 37°C.
3. Transcurrida exactamente una hora de incubación, para el tubo, añadir 1.0 ml de revelador de color y dejarlo en reposo 20 minutos exactamente a temperatura ambiente.
4. Añadir al tubo 10.0 ml de hidróxido de sodio 0.4 N. - Se mezcla y se deja en reposo a temperatura ambientepor un mínimo de 5 minutos. El color se mantiene estable durante 30 minutos.
5. Se lleva a cero el espectrofotómetro con agua en unalongitud de onda de 505 nm y se determina la absor---ción de la muestra problema.
6. Emplenado la absorción del problema, se recurre a lagráfica de calibración para obtener la concentración de T.G.O. Si la concentración es mayor de 200 unida--

des, se repite el procedimiento de la prueba, empleando una dilución de 1 a 10 con agua; el resultado se multiplica por 10.

Gráfica de calibración:

1. Reconstituir el suero patrón con 5 ml. de agua destilada y preparar las siguientes diluciones.

1: 2 la cual proporciona 100 unidades

1: 4 la cual proporciona 50 unidades

1: 8 la cual proporciona 25 unidades

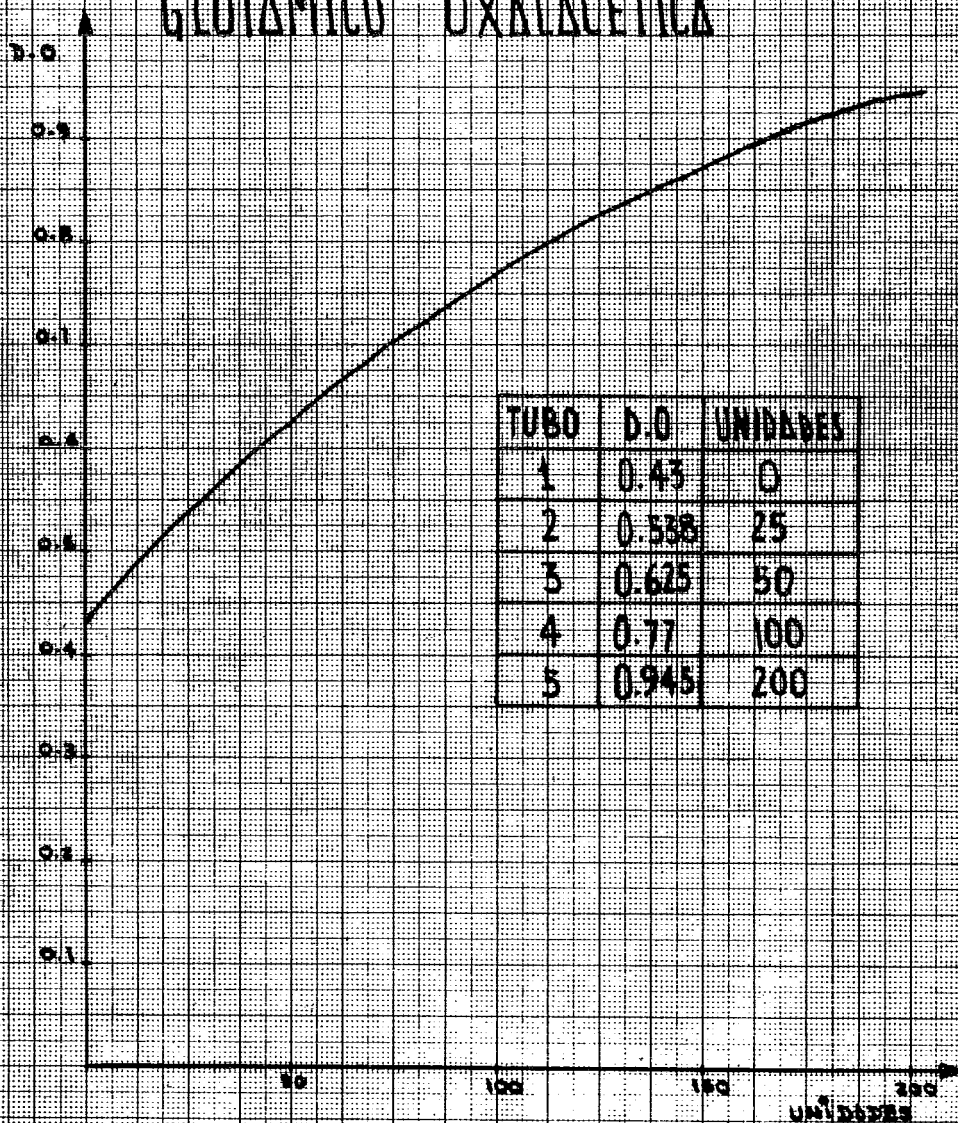
Se pueden utilizar otras diluciones si así se desea.

2. Con las diluciones anteriores, con el patrón sin diluir y con un blanco de agua destilada se sigue el procedimiento descrito anteriormente.
3. Trazar la gráfica de calibración, utilizando la absorción de cada dilución patrón contra las unidades de -- T.G.O. respectivas.

Definición de unidad:

La unidad de T.G.O. se define, como aquella cantidad de enzima en 1 ml., de suero que produce una baja de 0.001 de la densidad -- óptica (absorción), por minuto bajo las condiciones de la prueba. Esta unidad equivale a la unidad espectrofotométrica de Karmen. Para convertir la unidad de Reitman-Frankel en unidades internacionales (expresadas en micromoles/minuto/litro) se multiplica por 0.48.

GRAFICA DE CALIBRACION PARA TRANSAMINASA GLUTAMICO OXALACETICA



Valores normales:

Los valores considerados normales, de acuerdo a la experiencia de los laboratorios del Centro Médico La Raza, para la actividad de la transaminasa glutámico oxalacética, son de menos de 50 unidades.

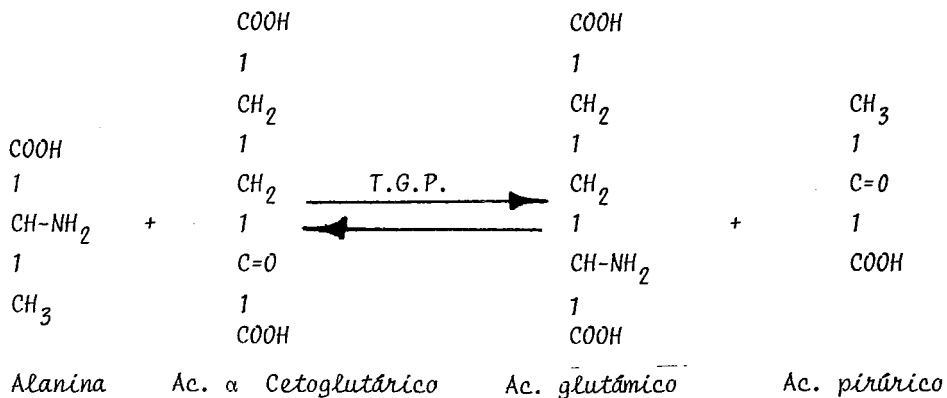
D) TRANSAMINASA GLUTAMICO PIRUVICA

Método:

Reitman-Frankel (modificado)

Fundamento:

La enzima transaminasa glutámico pirúvica (T.G.P.) cataliza la conversión de alanina y ácido alfa cetoglutarico en ácido glutámico y ácido pirúvico. Al añadir dinitrofenilhidrazina, se forman hidrazonas de ambos ácidos, alfa cetoglutarico y pirúvico. En una solución alcalina estas hidrazonas desarrollan un color café; pero el ácido pirúvico produce más color que el sustrato ácido alfa cetoglutarico. La actividad T.G.P. en el suero, se relaciona con el aumento de color producido.



Material de laboratorio:

Tubos de ensaye

Pipetas

Baño de agua a 37°C.

Espectrofotómetro (El utilizado en este trabajo fue el Coleman Junior II, 6/20)

Cubetas de vidrio de 19 x 105

Reloj

Material químico:

Los reactivos utilizados en este método fueron de los laboratorios HYLAND.

1. Sustrato amortiguado de T.G.P.

Transferir 0.146 g de ácido alfa cetoglutarico y 8.90 g de DL-alanina a un matraz aforado de 500 ml., agregar NaOH 1 N. hasta una disolución completa, ajustar el pH a 7.4 y llevar al aforo con amortiguador de fosfatos. Esta solución es estable cuando se conserva refrigerada.

2. Suero humano liofilizado que se usa como patrón ya que al ser reconstituido con agua destilada, proporciona 200 unidades de T.G.P.

3. Amortiguador de fosfatos 0.1 M, a un pH de 7.4. Disolver 23.86 g de Na_2HPO_4 y 4.36 g de K_2HPO_4 en agua destilada y llevar a dos litros.

4. Solución de 2,4-dinitrofenilhidrazina (Revelador de color).

Disolver 0.198 g de 2,4-dinitrofenilhidrazina en un litro de HCl 1 N. Se conserva en refrigerador en un frasco oscuro.

5. Hidróxido de sodio 0.4 N.

Disolver 16 g de NaOH en agua destilada y completar a -

un litro.

Procedimiento:

1. En un tubo de ensaye pipetear 1.0 ml. de sustrato amoru tiguado y colocarlo en un baño de agua a 37°C. durante 5 minutos.
2. Añadir 0.2 ml. de suero problema al tubo, cronometrando el tiempo exacto. Mezclar bien e incubar en un baño de agua a 37°C.
3. Transcurridos exactamente 30 minutos de incubación seañade al tubo 1.0 ml. de revelador de color. Mezclar y dejar en reposo durante 20 minutos exactamente a temperatura ambiente.
4. Añadir al tubo 10.0 ml. de hidróxido de sodio 0.4 N. - Se mezcla y se deja en reposo a temperatura ambiente - por un mínimo de 5 minutos. El color se mantiene estable durante 30 minutos.
5. Se lleva a cero el espectrofotómetro con agua en una - longitud de onda de 505 nm. y se determina la absor---ción de la muestra problema.
6. Empleando la absorción de la muestra problema, se recurre a la gráfica de calibración para obtener la concentración de T.G.P. Si la concentración de T.G.P. es mayor de 200 unidades, se repite el procedimiento de laprueba, empleando una dilución de 1 a 10 con agua, el resultado se multiplica por 10.

Gráfica de Calibración:

1. Reconstituir el suero patrón con 5 ml. de agua destilada y preparar las siguientes diluciones.

1 : 2 la cual proporciona 100 unidades

1 : 4 la cual proporciona 50 unidades

1 : 8 la cual proporciona 25 unidades

Se pueden utilizar otras diluciones si así se desea.

2. Con las diluciones anteriores, con el patrón sin diluir y con un blanco de agua destilada se sigue el procedimiento descrito anteriormente.

3. Trazar la gráfica de calibración, utilizando la absorción de cada dilución patrón contra las unidades de -- T.G.P. respectivas.

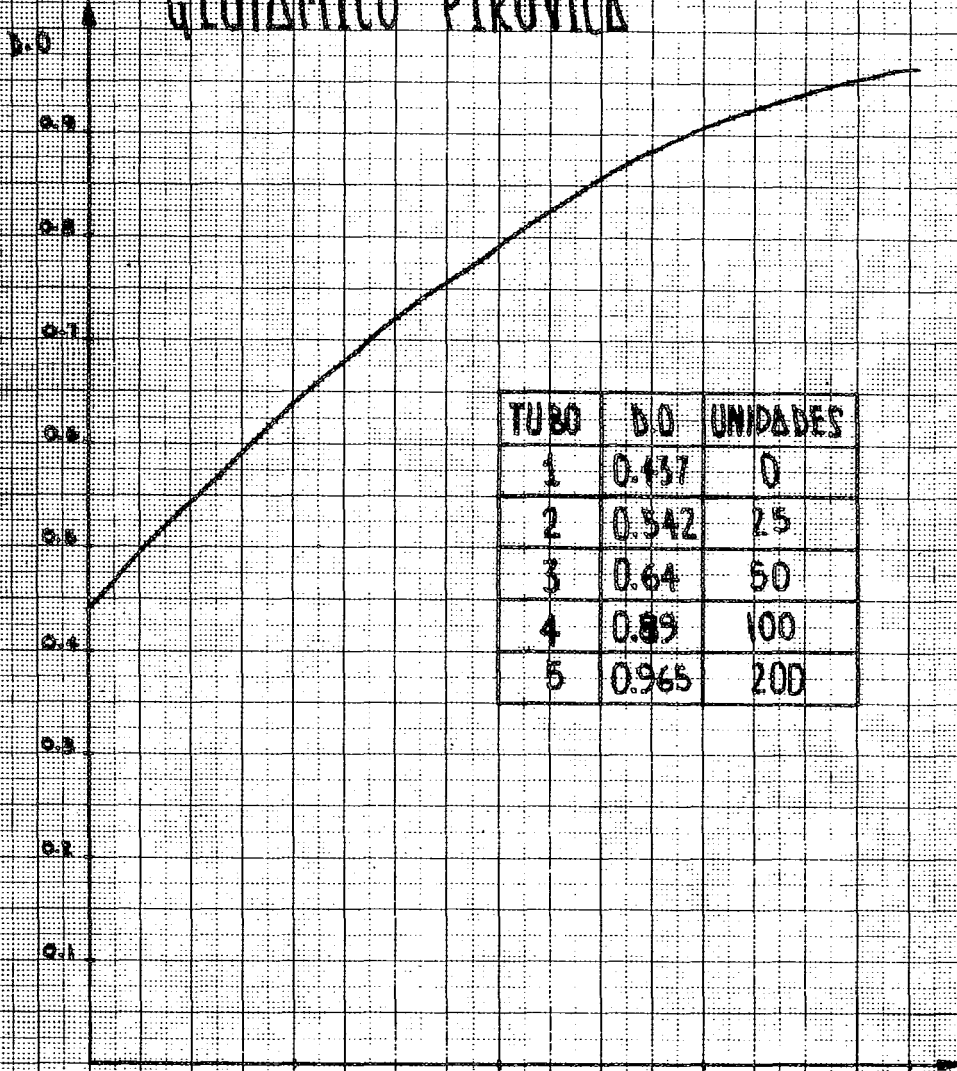
Definición de unidad:

La unidad de T.G.P., se define, como aquella cantidad de enzima en 1 ml., de suero que produce una baja de 0.001 de la densidad -- óptica (absorción), por minuto bajo las condiciones de la prueba. Esta -- unidad equivale a la unidad espectrofotométrica de Karmen. Para convertir la unidad de Reitman-Frankel en unidades internacionales (expresadas en micromoles/minuto/litro) se multiplica por 0.48.

Valores normales:

Los valores considerados normales, de acuerdo a la experiencia de los laboratorios del Centro Médico La Raza, para la actividad de la transaminasa glutámico oxalacética, son de menos de 50 unidades.

GRÁFICA DE CALIBRACION PARA TRANSAMINASA GLUTAMICO PIRUVICA



TUBO	D.O.	UNIDADES
1	0.437	0
2	0.542	25
3	0.64	50
4	0.89	100
5	0.965	200

UNIDADES

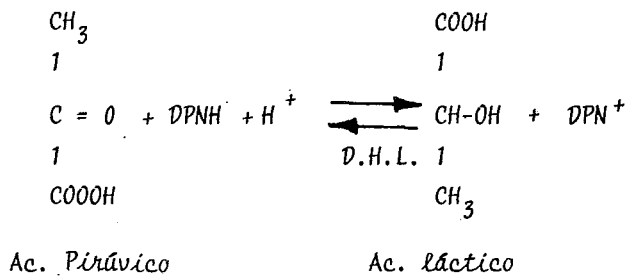
E) DESHIDROGENASA LACTICA (D.H.L.)

Método:

Cabaud-Wroblewsky

Fundamento:

La deshidrogenasa láctica, es una enzima de transferencia de hidrógenos, que cataliza la conversión de ácido pirúvico y difosfopiridín nucleótico reducido, a ácido láctico y difosfopiridín nucleótido respectivamente. Siguiendo esta reducción el ácido pirúvico restante reacciona con la 2,4-dinitrofenilhidrazina que también detiene la actividad de la enzima. Cuando la hidrazona del ácido pirúvico es tratada con un álcali forma un compuesto colorido, la intensidad del cual refleja la cantidad de piruvato restante. Esto nos da inversamente el nivel de actividad de la deshidrogenasa láctica, a mayor actividad de DHL, habrá menor cantidad de piruvato en la solución.



Material de laboratorio:

Tubos de ensayo

Pipetas

Baño de agua a 37°C

Espectrofotómetro (En este trabajo se utilizó

El Coleman Junior II, 6/20)

Cubetas de vidrio de 19 x 105

Reloj.

Material químico:

Los reactivos utilizados en este método fueron de los laboratorios HVLAND.

1. Sustrato amortiguado de ácido pirúvico a pH de 7.8 Pesar 0.2 g de ácido pirúvico y diluir a un litro con -- agua destilada en un matraz volumétrico. Agregar 10 g de fosfato de potasio dibásico. Estable por dos semanas en refrigerador.
2. Preparar una solución que tenga 1 mg de DPNH por ml. - de sustrato amortiguado (DPNH reconstituido).
3. Solución de 2,4-dinitrofenilhidrazina (revelador de color).

En un matraz volumétrico de un litro, disolver 200 mg. de 2,4-dinitrofenilhidrazina con 85 ml. de HCl concentrado. Llevar al aforo con agua destilada.

Esta solución es estable por un período de varias semanas en refrigeración.

4. Hidróxido de sodio 0.4 N.

Disolver 16 g de NaOH con agua y llevar a un litro.

5. Patrón

Este patrón es preparado a partir de suero humano y -- viene liofilizado para reconstituírse con agua destilada.

Procedimiento:

	Testigo	Patrón	Problema
DPNH (reconstituído)	1.0 ml.	1.0 ml.	1.0 ml.
	(incubar 5 minutos a 37°C)		
Agua destilada	0.02 ml.		
Patrón		0.02 ml.	
Suero (problema)			0.02 ml.
	(incubar a 37°C. por 30 minutos)		
Desarrollador de color	1.0 ml.	1.0 ml.	1.0 ml.
	(reposar 20 minutos a temperatura ambiente)		
NaOH 0.4 N	10 ml.	10 ml.	10 ml.
	(reposar 30 minutos a temperatura ambiente)		

Leer a una longitud de onda de 520 nm. en el espectrofotómetro.

Cálculos:

1. Lect. testigo - Lect. patrón = Lect. real del patrón
2.
$$\frac{\text{Conc. del Patrón}}{\text{Lect. real del patrón}} = \text{FACTOR}$$

3. (Lect. patrón - Lect. problema) \times FACTOR = Unidades de DHL.

Definición de unidad:

La unidad de D.H.L. se define como aquella cantidad de enzima en 1 ml., de suero que produce una baja de 0.001 de la densidad óptica (absorción), por minuto bajo las condiciones de la prueba.

Valores normales:

Los valores normales, de acuerdo a la experiencia de los laboratorios del Centro Médico La Raza, para la actividad de la deshidrogenasa láctica, son de 200 a 500 unidades D.H.L./ml.

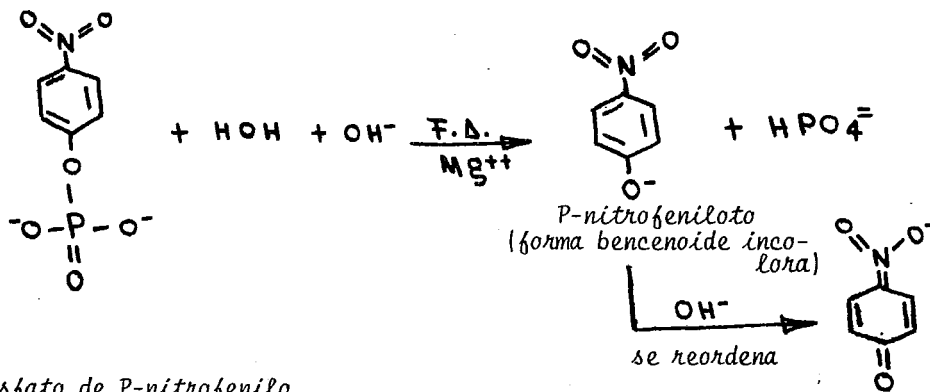
F) FOSFATASA ALCALINA.

Método:

Bessey, Lowry y Brock.

Fundamento:

El fosfato de paranitrofenilo es incoloro. La enzima escinde del compuesto el grupo fosfato y de este modo, forma paranitrofenol libre que en medio ácido es también incoloro. En medio alcalino, se convierte en el ion p-nitrofenilato, el cual asume una estructura quinoide -- con color amarillo muy intenso. Al pH de la reacción enzimática, la mayor parte del p-nitrofenol libre está en la forma quinoide de color amarillo. Así, puede seguirse el curso de la reacción por observación del aumento en el color amarillo. Se deja que la reacción prosiga durante 30 minutos exactamente y entonces se interrumpe por adición de NaOH, el cual inactiva la enzima y al mismo tiempo diluye el color de nitrofenilato, -- que se mide por absorvancia a 410 nm.



Fosfato de P-nitrofenilo

Ion P-nitrofenilato
(forma quinoide amarilla)

Material de laboratorio:

Tubos de ensaye

Pipetas

Baño de agua a 37°C.

Fotocolorímetro (El utilizado en este trabajo fue el -
Leitz, Modelo M).

Reloj.

Material químico:

1. Amortiguador de glicina, 0.1 M. con un contenido de -
Mg ⁺⁺ 0.001 M. a pH de 10.3 a 10.4

Se disuelven 7.5 g de glicina de máxima pureza y 0.203 g de MgCl₂ · 6H₂O en 750 ml. de agua. A esta solución se agregan 85 ml. de NaOH 1 N. Se ajusta el pH por adición de NaOH o HCl 1 N. y se diluye hasta un litro. El reactivo es estable de 4 a 6 meses guardado en refrigerador.

2. Depósito de sustrato.

Una solución recién preparada de la sal disódica de --
fosfato de paranitrofenilo. Concentración = 4.0 mg/ml
= 15.2 micromoles/ml.

3. Sustrato amortiguado.

Se prepara por mezcla de porciones iguales de amortiguador glicina y depósito de sustrato. Se comprueba el -

pH y se ajusta si es necesario. Concentraciones: amortiguador = 0.050 M; $Mg^{++} = 5 \times 10^{-4}$ M., y fosfato de paranitrofenilo = 7.6 micromoles/ml.

4. Hidróxido de sodio 0.02 N.

Se prepara por dilución de cualquier solución de depósito de NaOH titulada.

5. Depósito de patrón.

Se usa p-nitrofenol 0.010 M., en agua. Se disuelven 0.3479 g., de cristales puros en 250 ml. de agua destilada. Este patrón es estable por 6 meses si se guarda congelado y en la obscuridad.

6. Acido clorhídrico concentrado (12 N.)

Procedimiento:

1. Se coloca con una pipeta:

1.0 ml del sustrato amortiguado recién preparado en tubos de ensaye y se equilibra la temperatura a 37°C. Se necesita un tubo por cada suero que se analice y dos más como testigos.

2. Se introduce con pipeta exactamente 1.0 ml. de suero que va a analizarse en los tubos respectivos. En los tubos testigos se introduce 1.0 ml. de agua en vez de suero.

3. Se dejan en incubación a 37°C durante 30 minutos exactos. Se agrega a cada tubo 10.0 ml de NaOH 0.02 N, para interrumpir la reacción enzimática. En el curso de la incubación, se examinan periódicamente los tubos y si en uno de ellos aparece fuerte color amarillo, se agrega NaOH en cierto momento conveniente, antes de transcurrir los 30 minutos. Se mezcla bien el contenido y se transfiere a cubetas.
4. Se lee la absorbancia de los dos testigos frente a agua como testigo de referencia, utilizando el filtro 415. Ambos han de dar la misma absorbancia, que es una medida de p-nitrofenol libre presente como resultado de hidrólisis no enzimática del sustrato. La hidrólisis puede haber ocurrido en diferente grado en los tubos. Si las lecturas difieren en más de 0.020, es sospechosa la calidad del sustrato. Como referencia para las muestras desconocidas se elige el testigo con mínimas absorbancia.
5. Se lee la absorbancia de las soluciones de las cubetas problema frente al testigo, a la misma longitud de onda y se registran como R_1 . Se dejan las soluciones en las cubetas.
6. Se agrega una gota de HCl a cada tubo y se mezcla bien su contenido, golpeándolas suavemente o invirtiéndolas. El ácido convierte la forma quinóide del nitrofenol en

la forma ácida incolora. Cualquier color amarillo remanente procede de pigmentos del suero.

7. Se vuelve a leer la absorbancia de las cubetas y se registran estas lecturas como R_2 .
8. Si la densidad óptica es más alta que 0.60 (alta actividad presente), se repite la operación con un tiempo de incubación más corto.
9. Con el uso de la gráfica de calibración se convierten los valores R_1 y R_2 en unidades de enzima E_1 y E_2 , respectivamente. La diferencia entre los dos ($E_1 - E_2$) es igual a ΔE , da la actividad de la enzima en unidades - Bessey-Lowry-Brock.

Si se acortó el tiempo de incubación hay que multiplicar el valor ΔE por el factor de corrección correspondiente. El factor para el tiempo es $(30-t)$ en que t es el tiempo real de reacción en minutos.

Gráfica de calibración:

Se prepara una solución de paranitrofenol patrón diluida, por dilución del depósito de patrón 0.010 M. al 1:200 con agua, para hacer la concentración de paranitrofenol igual a 5.0×10^{-2} milimoles/ml. Se usa la solución dentro de 4 a 6 horas de preparada. Se preparan patrones de trabajo por dilución de 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0 ml., de la solución de depósito de patrón, con agua, hasta un volumen de 10.0 ml. El

testigo del instrumento consiste de 10.0 ml. de agua. Se alcalinizan todos los tubos con 1.1 ml., exactos de NaOH 0.20 N., se mezcla cada solución y se leen las absorbancias de todas ellas utilizando el filtro 415. Los patrones representan 1.0, 2.0, etc., de unidades BLB de actividad de fosfatasa alcalina por litro de muestra.

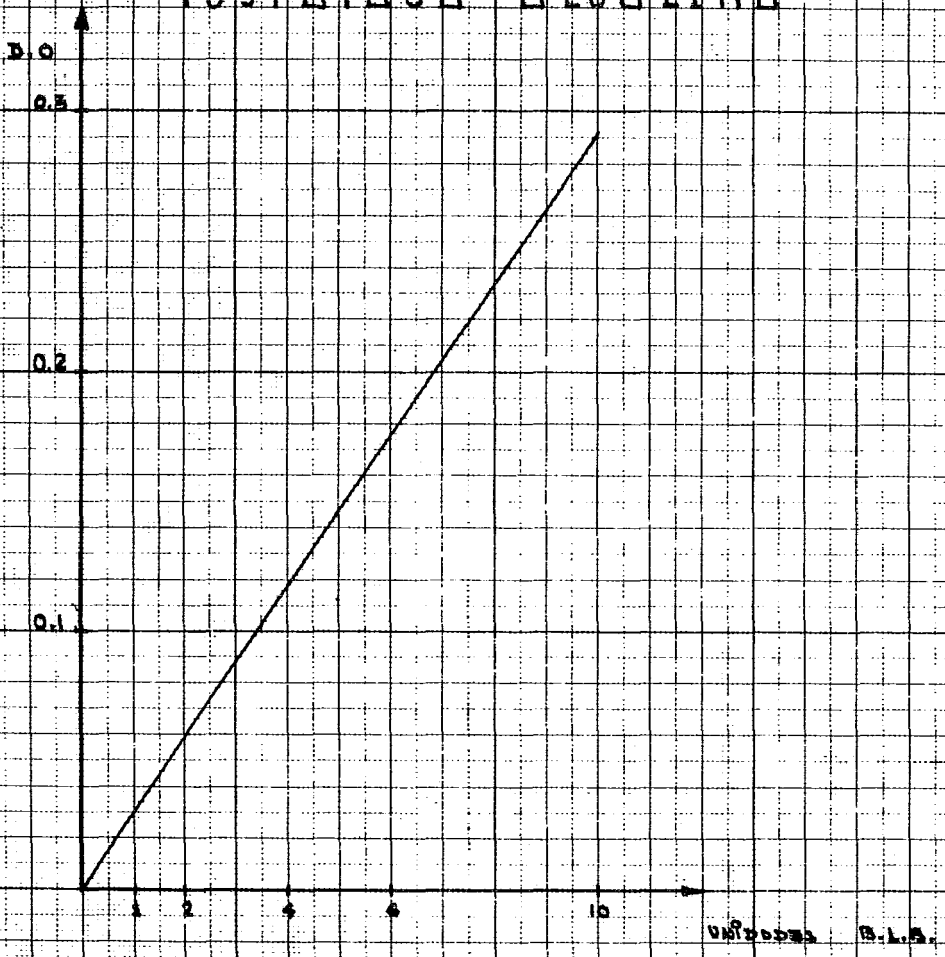
Definición de unidad:

La unidad de actividad de la enzima, se define como el número de milimoles de paranitrofenol formados en 60 minutos por litro de suero.

Valores normales:

De acuerdo a la experiencia de los laboratorios del Centro Médico La Raza, el intervalo de valores hallados en adultos sanos es de 0.8 a 2.3 unidades.

GRAFICA DE CALIBRACION PARA FOSFATASA ALCALINA



R E S U L T A D O S

Se describen a continuación en cada uno de los padecimientos estudiados.

HEPATITIS AGUDA VIRAL.

Los resultados obtenidos en el estudio de este padecimiento se encuentran anotados en el cuadro No. 1, mostrándose el comportamiento en las gráficas del No. 1 al 6.

La actividad de la deshidrogenasa isocítrica en la primera determinación, se encontró elevada en los 10 pacientes, obteniéndose una elevación del 100%. en la población estudiada, la cifra más alta fué de 53.9, la más baja 11.6 y con un valor medio de 30.9 ml/ml. lo que corresponde a 4.4 veces arriba de los valores considerados como normales. La segunda determinación mostró un descenso a 21.9 (valor medio), volviendo a la normalidad en la tercera con un valor de 5.5 ml/ml.

La actividad de adolasa en este padecimiento se encontró elevada en los 10 casos (100%), la cifra más alta fué de 71.5, la más baja 8.5 y una media de 36.5 unidades S-L/ml., el número de veces que se elevó sobre lo normal fué de 4.5. Se observa que aumentó comparativamente en

mayor grado que la D.I.C. en la primera determinación, con un descenso menor que aquella en la segunda a únicamente 32.7 (valor medio) y sin haber vuelto a la normalidad en la tercera ocasión, con un valor de 13.3 unidades S-L/ml.

De las demás enzimas en la primera, tanto ambas transaminasas como la fosfatasa alcalina se elevaron en un 100% mientras la deshidrogenasa láctica únicamente en el 80%, con un valor medio de 823 y 16.4 veces lo normal para la T.G.O., 1627 y 32.5 veces la T.G.P., 724.8 y 1.4 veces la D.H.L. y 7.5 con 3.2 veces la fosfatasa alcalina. En la segunda -- mostraron una disminución en los valores medios a 249.6 la T.G.O., 729 la T.G.P., 532 la D.H.L. y 6.0 la fosfatasa alcalina. Volviendo a la normalidad en la tercera, únicamente la D.H.L. con 359.5, dando valores por arriba de lo normal de 86.6 la T.G.O., 167.4 la T.G.P. y 4.8 la fosfatasa alcalina.

Se hace referencia con mayor abundancia de datos en las enzimas básicas en este estudio y en forma global en las utilizadas como control.

HEPATITIS

	DESHIDROGENASA ISOCITRICA			ALDOLASA			TRANSAMINASA GLUTAMICO - OXALACETICA			TRANSAMINASA GLUTAMICO - PIRUVICO			DESHIDROGENASA LACTICA			FOSFATASA ALCALINA		
	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª
1	43.0	57.2	9.0	25.0	54.2	20.5	950	680	113	1560	890	200	756	928	416	9.1	8.2	4.7
2	53.9	43.0	11.0	41.5	49.5	18.5	880	260	80	670	860	200	735	448	290	11.8	10.8	6.3
3	11.6	8.3	5.2	8.5	7.8	7.8	220	36	39	600	114	34	504	290	306	4.5	3.9	3.5
4	51.0	8.0	3.2	53.5	19.5	7.8	1050	11.2	80	2320	670	130	1,257	855	448	10.2	9.9	8.2
5	12.2	17.6	4.0	17.5	52.5	18.4	260	320	112	860	680	127	448	448	237	5.4	6.3	6.3
6	21.0	17.2	4.0	71.5	53.5	20.3	840	56	32	1640	41	34	555	731	370	7.6	1.3	1.3
7	12.2	11.0	4.0	23.7	16.5	11.4	980	76	45	2280	70	51	756	370	496	9.6	6.2	5.9
8	47.0	36.4	6.8	43.6	46.5	11.4	1560	800	260	2040	>3,000	680	874	237	216	5.3	5.3	3.6
9	43.0	12.2	4.0	69.4	14.5	5.0	540	76	45	2700	820	114	820	500	320	5.6	4.1	3.5
10	15.0	9.0	4.0	11.4	13.3	12.4	950	80	60	1600	150	104	639	480	496	5.9	4.2	4.9
VALOR MAXIMO	53.9	57.2	11.0	71.5	54.2	20.5	1560	800	260	2700	>3,000	680	1257	928	496	11.8	10.8	8.2
VALOR MINIMO	11.6	8.0	3.2	8.5	7.8	5.0	220	36	32	600	41	34	448	237	216	4.5	1.3	1.3
MEDIA	30.9	21.9	5.5	36.5	32.7	13.3	823	249.6	86.6	1627	729.5	167.4	724.8	532	359.5	7.5	6.0	4.8
VALORES NORMALES	HASTA DE 7 mU/ml			HASTA 8 U. S-I/ml			MENOS DE 50 U. KAMEN			MENOS DE 50 U. KAMEN			200-500 UNIDADES			0.8 - 2.3 U. B.L.B		

CUADRO Nº 1

ABCESO HEPATICO

Los resultados obtenidos en el estudio de este padecimiento se encuentran anotados en el cuadro No. 2, mostrándose el comportamiento - en las gráficas del No. 1 al 6.

En la primera determinación fueron 5 de los 10 pacientes en quienes se presentó elevada la actividad de la deshidrogenasa isocítrica - (50%), con una cifra máxima de 26.0, una mínima de 2.0 y una media de - - 10.4 ml/m.; lo que corresponde a 1.5 veces arriba de lo normal. Descendió en la segunda a 8.9 (valor medio), para volver a la normalidad en la tercera con 4.3ml/ml. Como se verá más adelante, mostró una evolución muy pa-ralela con la pancreatitis.

La aldolasa por su parte se elevó en 9 de los 10 pacientes - (90%), con una cifra superior de 41.0, inferior de 8.5 y una media de 20.7 unidades S-L/ml., lo que equivale a 2.5 veces la normalidad. Con un valor medio menor en la segunda de 13.9 y con un descenso en la última, todavía - por arriba de lo normal de 11.6 unidades S-L/ml. En este padecimiento el - comportamiento evolutivo de la aldolasa fue muy similar al del cáncer de - hígado y a la cirrosis.

En relación a las demás enzimas encontramos que su eleva- - ción expresada tanto en valores medios, como en número de veces por arriba de los valores normales, estuvo presente en la transaminasa glutámico oxa-lacética con 72.1 y 1.4 veces; la pirúvica 73.6 y 1.4 veces; la deshidroge - nasa láctica 666.6 y 1.3 veces; la fosfatasa alcalina 5.5 y 2.4 veces res-pectivamente. En la segunda y tercera determinación ambas transaminasas -

dieron valores dentro de lo normal de 39.8 y 34.0 la T.G.O.; 26.8 y 18.4 - la T.G.P.; la D.H.L. mostró disminución aun por arriba de los valores normales con 581.7 y 563.5 y finalmente la fosfatasa alcalina se mantuvo ligeramente igual con 5.4 y 5.7 respectivamente.

ABSSES O HEPATILLO

	DESHIDROGENASO ISOCITRICO			ALDOLASO			TRANSAMINASO GLUTAMICO- OXALACETICO			TRANSAMINASO GLUTAMICO- CO- PIRUVICO			DESHIDROGENASO LACTICO			FOSFATASO DLCAOLICO		
	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª
1	26.0	23.0	9.0	41.0	18.5	12.4	105	30	16	150	34	26	1060	1174	636	4.9	4.2	4.0
2	12.0	4.7	3.2	17.5	15.5	11.4	54	52	34	78	22	13	954	520	262	2.7	2.7	2.8
3	24.0	21.0	8.0	37.0	12.4	13.3	50	45	49	13	6	11	636	587	1080	9.0	8.6	12.8
4	16.0	11.0	4.0	25.0	16.5	10.5	200	68	45	280	68	28	850	760	956	4.0	8.6	6.7
5	4.0	3.1	2.6	11.4	14.5	10.5	30	39	8	13	26	3	542	600	315	4.4	2.8	1.9
6	3.2	8.0	4.0	8.5	4.0	4.2	39	39	30	10	34	26	262	440	284	5.7	5.2	4.2
7	4.0	5.2	4.0	20.5	17.5	10.5	84	39	60	86	11	9	480	448	930	12.1	8.5	9.6
8	4.6	2.6	2.0	18.5	4.2	4.0	60	8	16	12	3	12	850	262	220	5.8	6.0	5.7
9	2.0	6.6	3.2	17.5	18.5	11.4	39	42	22	34	30	24	396	494	476	2.3	2.8	2.9
10	9.0	4.0	3.2	10.5	17.5	28.2	60	36	60	60	34	32	636	532	476	4.8	4.7	7.3
VALOR MAXIMO	26.0	23.0	9.0	41.0	18.5	28.2	200	68	60	280	68	32	1060	1174	1080	12.1	8.6	12.8
VALOR MINIMO	2.0	2.6	2.0	8.5	4.0	4.0	30	8	8	10	3	3	262	262	220	2.3	2.7	1.9
MEDIO	10.4	8.9	4.3	20.7	13.9	11.6	72.1	39.8	34.0	73.6	26.8	18.4	666.6	581.7	563.5	5.5	5.4	5.7
VALORES NORMALES	HASTA DE 7 mU/ml			HASTA 8 U. S-L/ml			MENOS DE 50 U. KDMEN			MENOS DE 50 U. KDMEN			200-500 UNIDADES			0.8-2.3 U. B.L.B		

CUADRO N° 2

CIRROSIS HEPATICA

Los resultados obtenidos se encuentran anotados en el cuadro No. 3 y se muestra el comportamiento en las gráficas del No. 1 a. 6.

De los 10 pacientes cirróticos en quienes se investigó la D.I.C., en la primera determinación solamente en tres casos se encontró elevada, de los cuales en 2 la elevación fue muy discreta de 8 ml/ml. y en el restante de 30.0, la cifra mínima obtenida en este grupo fué de 2.0 y el promedio 7.0 ml/ml. Dando en la segunda y tercera valores medios normales de 6.9 y 5.0 ml/ml.

La aldolasa en estos casos estuvo elevada en todos ellos (100%) en la primera determinación, con una cifra máxima de 32.0, mínima de 12.4 y un valor medio de 18.2 unidades S-L/ml. o sea 2.3 veces el valor normal. Siendo menor en la segunda con 14.3 (valor medio) y con un descenso en la última todavía por arriba de la normalidad con 12.9 unidades S-L/ml.

En estos mismos casos las enzimas de control en la primera determinación se comportaron como sigue: la T.G.O. se elevó en 6 casos (60%), con un valor medio de 123.4 y 2.4 veces lo normal; la T.G.P. en sólo 2 casos (20%), con una media de 67.2 y 1.3 veces; la D.H.L. en 6 casos (60%), valor medio de 699.1 y 1.3 veces y la fosfatasa alcalina en todos ellos (100%), valor medio de 7.3 y 2.3 veces lo normal. En la segunda y tercera la T.G.O. mostró un descenso a 69.5 y 63.0; T.G.P. volvió a la normalidad con 39.3 y 36.7; la D.H.L. dió valores de 591.9 y 436.8 y la fosfatasa alcalina 4.7 y 4.1 respectivamente.

CIRROSIS HEPATICA.

	DESHIDROGENASO ISOCITRICO			ALDOLOSD			TENSOMINASO GLUTAMICO - OXALACETICO			TENSOMINASO GLUTAMICO - PIRUVICO			DESHIDROGENASO LACTICO			FOSFOTASA ALCALINA		
	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª
1	8.0	8.6	4.0	18.5	18.5	16.5	230	159	104	68	30	60	1190	672	640	10.4	7.2	4.8
2	2.0	5.7	2.0	16.5	9.5	7.0	83	16	11	20	6	2	760	536	315	3.1	2.8	1.9
3	30.0	18.0	11.6	20.5	8.5	5.0	560	72	68	430	150	90	1560	536	420	3.8	3.1	2.0
4	2.6	4.0	2.0	32.0	18.5	9.5	44	52	20	46	50	15	544	650	360	29.4	7.4	4.7
5	8.0	4.6	3.2	17.5	34.4	13.3	20	54	23	12	12	9	884	684	279	5.4	5.6	4.0
6	4.0	9.0	2.6	13.3	11.4	10.5	60	95	72	28	24	36	352	442	444	4.5	3.5	3.9
7	3.2	2.6	6.6	16.5	20.5	25.0	26	23	68	12	20	26	465	648	812	3.4	4.7	5.6
8	4.0	4.6	3.2	22.7	16.5	10.5	40	56	39	28	18	43	360	600	284	5.7	4.2	5.3
9	4.6	3.2	6.6	12.4	3.4	9.5	91	88	112	13	15	43	284	315	272	3.3	3.9	5.0
10	4.0	9.0	8.6	12.4	12.0	22.7	80	80	113	15	68	43	592	836	512	4.3	4.7	3.8
VALOR MAXIMO	30.0	18.0	11.6	32.0	34.4	25.0	560	159	113	430	150	90	1560	836	812	29.4	7.4	5.6
VALOR MINIMO	2.0	2.6	2.0	12.4	3.4	5.0	20	16	11	12	6	2	284	315	272	3.1	2.8	1.9
MEDIO	7.0	6.9	5.0	18.2	14.3	12.9	123.4	69.5	63.0	67.2	39.3	36.7	699.1	591.9	436.8	7.3	4.7	4.1
VALORES NORMALES	HASTA DE 7 mU/ml			HASTA 8 U. S-L/ml			MENOS DE 50 U KARMEN			MENOS DE 50 U KARMEN			200 - 500 UNIDADES			0.8 - 2.3 U. B.L.O.		

CUADRO N° 3

CANCER DE HIGADO

Los resultados obtenidos se encuentran anotados en el cuadro No. 4 y se muestra la evolución en las gráficas del No. 1 al 6.

De los 5 pacientes que se estudiaron con cáncer de este órgano, 4 fueron secundarios y uno correspondió a un carcinoma primario de hígado, en la primera determinación sólo 2 casos (40%) mostraron elevación en la actividad de la D.I.C., la cifra más alta de 19.0 ml/ml. correspondió a uno de los casos de invasión metastásica, ocupando el segundo lugar con 14.2 el caso del tumor primario, la cifra más baja fue 2.0 y el promedio de 8.8 ml/ml. el que equivale a 1.2 veces el valor normal. En la segunda hubo un ascenso a 17.6 (valor medio), para descender en la tercera a un valor normal de 3.6 ml/ml.

En estos mismos padecimientos la aldolasa en la primera determinación, fue normal en solo uno de ellos siendo el valor más alto de 37.0, el más bajo 6.7 y la media de 19.7 unidades S-L/ml. correspondiendo esta cifra a 2.4 veces el valor normal. En la segunda mostró una disminución a 15.8, con un descenso en la última, todavía por arriba de la normalidad a 11.4 unidades S-L/ml.

En tales casos los resultados de las demás enzimas fueron respectivamente: la T.G.O. se observó elevada en 2 casos, valor medio de 76.8 y 1.5 veces el valor normal; la T.G.P. también en 2 casos, la media fue 69.8 y 1.3 veces; la D.H.L. se elevó en 2 casos, valor medio de 489.6 y 0.9 veces; y por último la fosfatasa alcalina en la totalidad, con un valor medio de 21.1 y 9.1 veces por encima de la normalidad. En la segunda-

la T.G.O. mostró un aumento a 142.4 (valor medio); la T.G.P. tuvo un ligero descenso a 67.2; la D.H.L. aumentó a 625.8 y la fosfatasa alcalina descendió a 16.3. En la tercera ocasión se obtuvieron los siguientes valores: 55.8 para la T.G.O.; 43.6 la T.G.P.; 640.4 la D.H.L. y 12.9 fosfatasa alcalina.

CANCER HIGADO

	DESHIDROGENASO ISOCITRICO			ALDOLASO			TRANSAMINASO GLUTAMICO - OXALACETICO			TRANSAMINASO GLUTAMICO - PIRUVICO			DESHIDROGENASO LACTICO			FOSFOTASO-DILCOFINO		
	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª
1	19.0	49.0	2.0	27.1	21.6	16.5	150	60	45	134	46	20	420	620	352	31.6	26.8	9.1
2	2.0	11.6	2.0	6.7	9.5	13.3	39	45	39	20	24	12	448	612	510	7.1	7.7	12.7
3	3.2	3.2	2.0	17.5	23.5	15.5	45	68	49	124	90	68	279	725	602	38.1	11.2	6.6
4	6.0	6.6	5.2	37.0	13.3	7.0	30	49	34	20	26	28	576	336	390	25.6	28.0	25.2
5	14.2	17.6	6.8	10.5	11.4	5.0	120	490	112	51	150	90	725	836	448	3.5	7.5	11.2
VALOR MAXIMO	19.0	49.0	6.8	37.0	23.5	16.5	150	490	112	134	150	90	725	836	602	38.1	28.0	25.2
VALOR MINIMO	2.0	3.2	2.0	6.7	9.5	5.0	30	45	34	20	24	12	279	336	352	3.5	7.5	6.6
MEDIA	8.8	17.6	3.6	19.7	15.8	11.4	76.8	142.4	55.8	69.8	67.2	43.6	489.6	625.8	640.4	21.1	16.3	12.9
VALORES NORMALES	HASTA DE 7 mU/ml			HASTA 8 U. S-L/ml			MENOS DE 50 U. KARMEN			MENOS DE 50 U. KARMEN			200-500 UNIDADES			0.8-2.3 U. B.L.B.		

CUADRO N° 4

ICTERICIA OBSTRUCTIVA

Los resultados obtenidos en este estudio se encuentran anotados en el cuadro No. 5 y se muestra la evolución en las gráficas del No. 1 al 6.

Los cinco casos de ictericia obstructiva estudiados, correspondieron a enfermos con neoplasias malignas de la enrocruzada pancreático-duodenal y solo hubo elevación moderada de la D.I.C. en 2 de estos casos, siendo la cifra superior en la primera determinación de 13.0, la mínima de 2.0 y con un valor medio dentro de lo normal de 6.8 ml/ml. En la segunda y tercera ocasión dió valores de 6.2 y 7.3 (valores medios) respectivamente.

La aldolasa se elevó en todos los casos, con una cifra máxima 30.0, una mínima de 12.4 y con un valor medio de 20.2 unidades S-L/ml., lo que equivale a 2.5 veces lo normal. En la segunda mostró un ascenso a 24.7 (valor medio), para descender en la tercera a 17.8 unidades S-L/ml.

Las enzimas de control se comportaron de la siguiente manera en la primera determinación: 105.6 y 2.1 veces el valor normal la T.G.O.; 119.8 y 2.3 veces la T.G.P.; 773.8 y 1.5 veces la D.H.L.; la fosfatasa alcalina con 10.4 y 4.5 veces lo normal. En la segunda y tercera la T.G.O., -- dió valores de 74.6 y 66.6 (valores medios); la T.G.P. 33.8 y 35.6; la --- D.H.L. 605.2 y 641.2 y la fosfatasa alcalina 13.0 y 9.7

ICTERICIA Δ OBSTRUCTIVA

	DESHIDROGENASA ISOCÍTICA			ALDOLASA			TRANSAMINASA GLUTÓNICA - OXALACÉTICA			TRANSAMINASA GLUTÁMICO - PIRUVICO			DESHIDROGENASA LÁCTICA			FOSFATASA ALCALINA		
	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª
1	5.7	4.0	6.7	30.0	29.4	25.0	260	76	80	340	34	68	1749	600	216	14.2	16.5	9.4
2	9.0	12.0	4.6	12.4	21.6	11.4	40	72	26	34	12	7	633	896	600	11.0	6.6	4.7
3	2.0	4.6	20.2	28.2	15.5	10.5	52	56	58	51	24	41	448	544	740	9.0	6.9	6.2
4	13.0	2.0	2.0	13.3	33.3	23.7	104	120	120	140	90	55	720	602	720	16.6	29.4	17.0
5	4.6	8.6	3.0	17.5	23.7	18.5	72	49	49	34	9	7	319	384	930	1.2	11.8	11.6
VALOR MÁXIMO	13.0	12.0	20.2	30.0	33.3	25.0	260	120	120	340	90	68	1749	896	930	16.6	29.4	17.0
VALOR MÍNIMO	2.0	2.0	2.0	12.4	15.5	10.5	40	49	26	34	9	7	319	384	216	1.2	6.6	4.7
MEJIO	6.8	6.2	7.3	20.2	24.7	17.8	105.6	74.6	66.6	109.8	33.8	35.6	773.8	605.2	641.2	10.4	13.0	9.7
VALORES NORMALES	HASTA DE 7 mU/ml			HASTA 8 U S-L/ml			MENOS DE 50 U KEMEN			MENOS DE 50 U. KEMEN			200-500 UNIDADES			0.8-2.3 U. B.L.B		

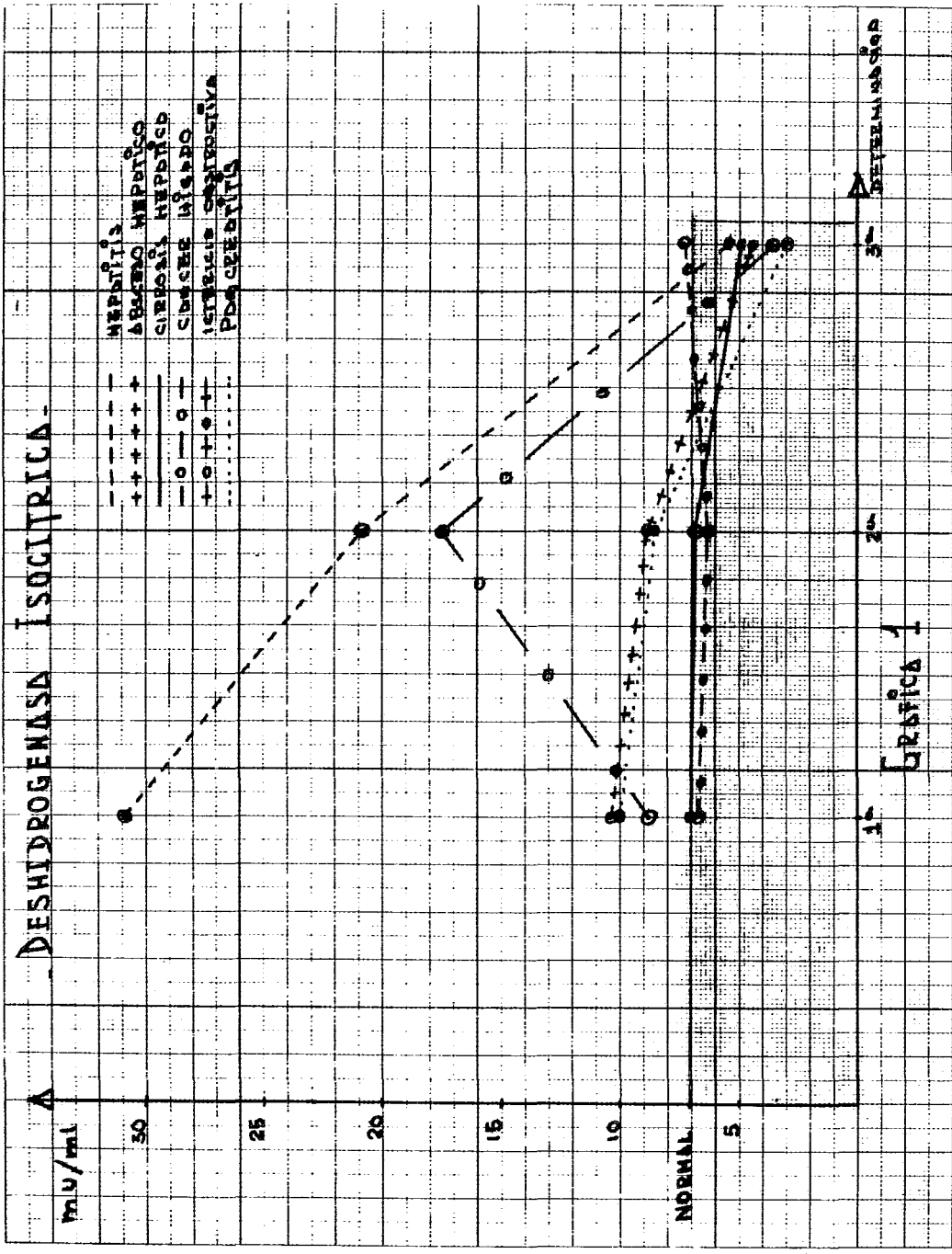
CUADRO Nº 5

PANCREATITIS.

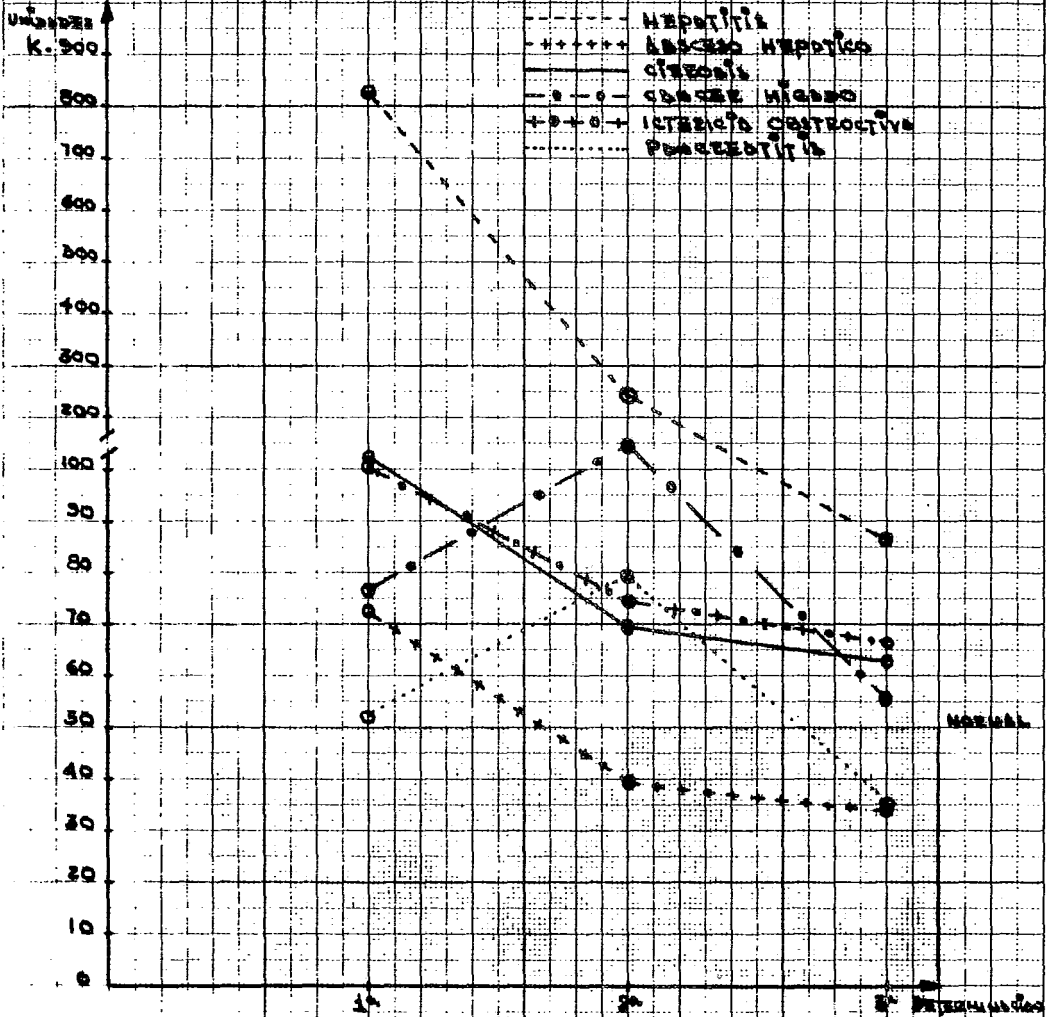
	DESHIDROGENASA ISOCÍTRICA			ALDOLASA			TRANSAMINASA GLUTAMÍCO - OXOACÉTICO			TRANSAMINASA - GLUTAMÍCO - PIRUVICO			DESHIDROGENASA LÁCTICA			FOSFATASA - DICOLINA		
	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª	1ª	2ª	3ª
1	5.1	6.7	6.7	14.5	16.5	7.8	56	26	22	127	15	22	1280	1055	990	4.9	4.7	7.7
2	15.7	4.0	4.0	9.5	11.4	15.5	26	56	39	20	43	34	1280	400	216	4.6	9.8	3.6
3	15.7	4.1	3.2	42.3	26.1	11.4	88	45	26	46	41	18	1080	765	504	3.7	3.8	3.4
4	15.7	12.5	3.1	13.3	36.8	18.5	80	36	13	89	7	7	320	1965	954	3.4	3.0	3.6
5	2.0	15.7	2.0	16.5	5.0	15.5	36	32	11	18	7	5	720	384	280	2.0	1.9	1.9
6	8.6	17.0	9.0	13.3	16.5	8.5	45	420	112	17	240	78	504	476	384	3.8	7.8	7.6
7	4.0	14.2	5.2	20.5	16.5	7.8	45	98	45	32	90	89	455	945	510	3.4	13.4	12.7
8	5.2	3.2	2.0	21.6	22.7	8.5	32	26	11	130	24	17	384	855	555	5.9	4.7	3.7
9	21.0	6.6	2.0	0.7	25.0	8.5	56	13	36	60	10	26	954	765	426	4.1	5.1	4.1
10	8.3	4.6	3.1	18.5	14.5	5.0	60	55	22	135	43	18	481	384	260	3.4	3.0	2.8
VALOR MÁXIMO	21.0	17.0	9.0	42.3	36.8	18.5	88	420	112	135	240	89	1280	1965	990	5.9	13.4	12.7
VALOR MÍNIMO	2.0	3.2	2.0	0.7	5.0	5.0	26	13	11	17	7	5	320	384	216	2.0	1.9	1.9
MEDIO	10.1	8.8	4.0	17.0	19.1	10.7	52.4	79.7	33.7	67.4	52.0	31.4	745.8	799.4	507.9	3.9	5.7	5.1
VALORES NORMALES	HASTA DE 7 mU/ml			HASTA 8 U. S-L/ml			MENOS DE 50 U. KDMEN			MENOS DE 50 U. KDMEN			200-500 UNIDADES			0.8-2.3 U. B.L.B.		

CUADRO N° 6

DESIDROGENASA ISOCITRICA

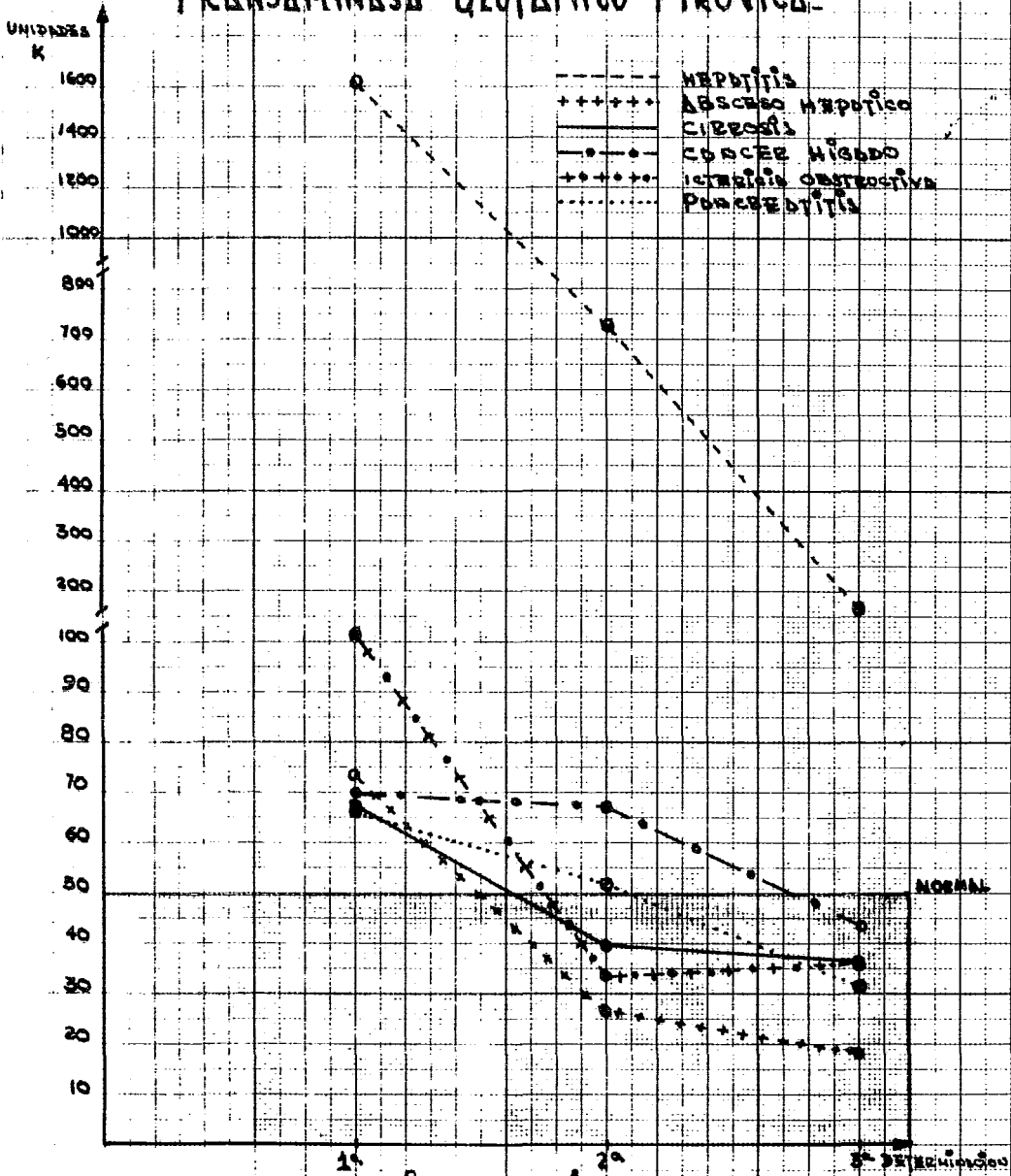


TRANSAMINASA GLUTAMICO OXALACETICA



GRAFICA 3

TRANSAMINASA GLUTAMICO PIRUVICA

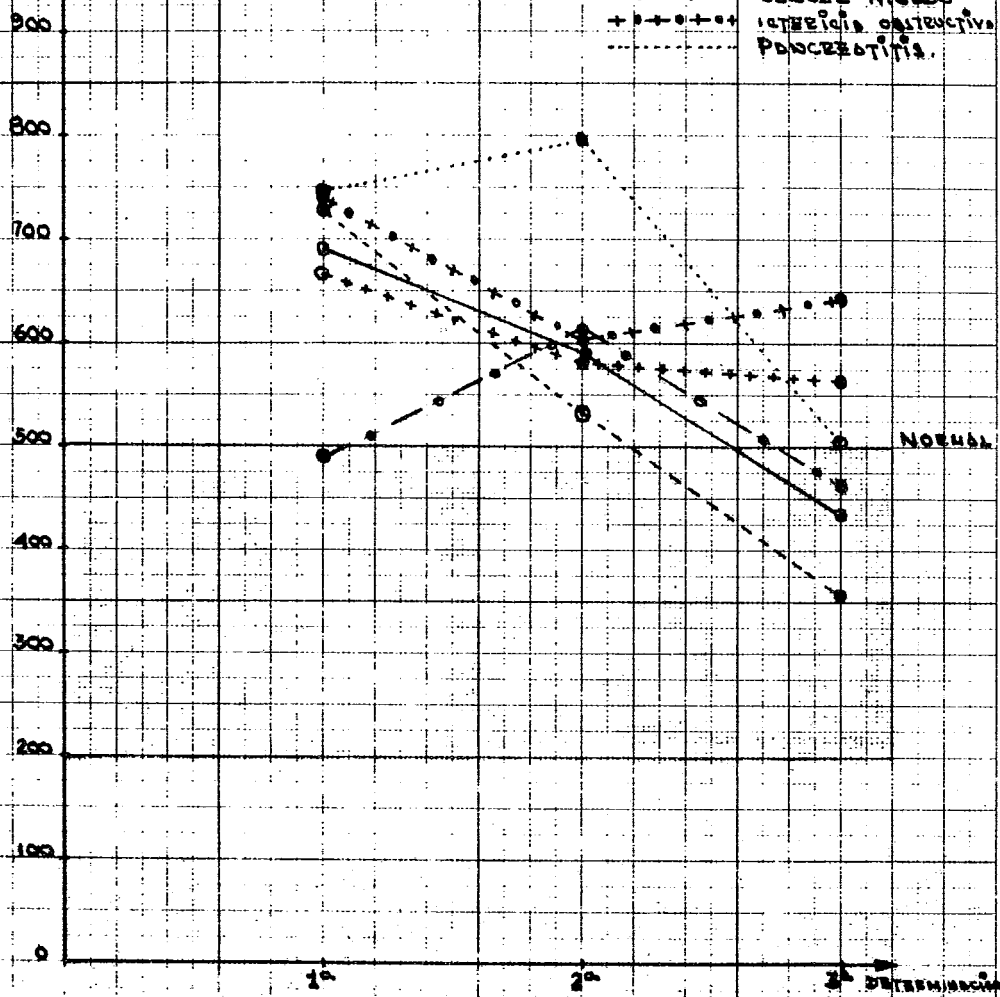


GRAFICA 4

DESHIDROGENASA LACTICA.

UNIDADES
D.H.L.

- HEPATITIS
- +++++++ ABSCESSO HEPATICO
- CIRCOSIS
- CIRCOSIS HIGADO
- +-----+ ISQUEMIA ORGÁNICA
- PANCREATITIS



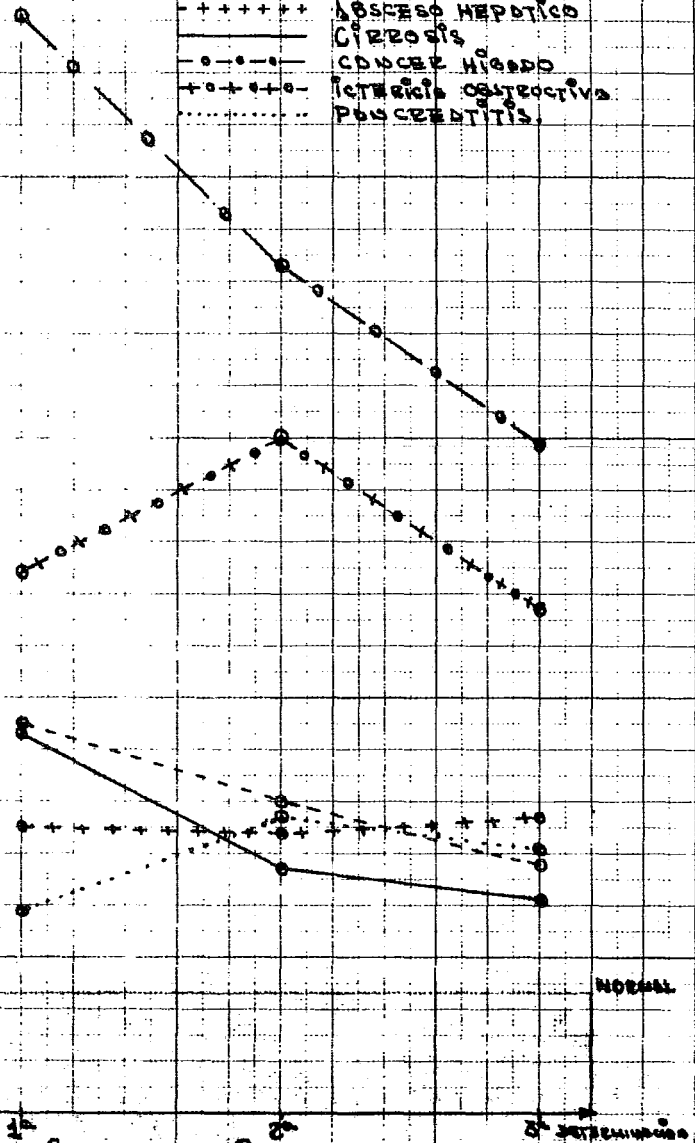
GRAFICA 5

FOSFATASA ALCALINA

UNIDADES
S. L. B.

21
20
19
18
17
16
15
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0

- HEPATITIS
- +++++ ABSCESO HEPATICO
- CIRROSIS
- o-o-o-o- CANCER HIGADO
- + + + + + ICTERICIA OBSTRUCTIVA
- POLICEMITIS



GRAFICA 6

RESUMEN
Y
CONCLUSIONES

1. Se estudiaron 50 enfermos con el fin de conocer el comportamiento de las enzimas séricas deshidrogenasa isocítrica y aldolasa en diferentes circunstancias clínicas; por una parte en algunos padecimientos hepáticos y por otra, un grupo control de enfermedades de órganos en estrecha relación anatómica y funcional con el hígado.

2. Se seleccionaron así, 10 casos de hepatitis aguda, 10 de absceso hepático, 10 de cirrosis, 5 de carcinoma de hígado, 10 de pancreatitis aguda y 5 de ictericia obstructiva maligna.

3. Se practicaron en ellos determinaciones de las enzimas en estudio y de las enzimas conocidas para control, en el momento de su ingreso, a los 7 y 14 días de estancia hospitalaria.

4. Se excluyeron del estudio, aquellos pacientes en quienes se demostró o sospechó alguna condición tal como patología miocárdica-aguda, padecimientos de músculo esquelético activo, hemólisis, leucemia, anemia megaloblástica, con el fin de eliminar la presencia de otros facto-

res que pudieran alterar los resultados.

5. Se observó una elevación importante de la deshidrogenasa isocítrica en los casos de hepatitis aguda con un valor medio de 30.9 - ml/ml que representa 4.4 veces sobre el valor normal en su primera determinación. La elevación fue muy discreta en las neoplasias de hígado, en absceso hepático y en pancreatitis y fue en cambio, prácticamente normal - en casos de cirrosis e ictericia obstructiva.

6. En lo que se refiere al valor pronóstico, como se ve - en la gráfica 1, la D.I.C., volvió a sus valores normales en la tercera de terminación practicada, mientras las transaminasas, aún se encontraban altas con 86.4 unidades en promedio la oxalacética y 167, la pirúvica. Además se puede agregar que en 4 casos que cursaron con coma hepático y consecuentemente con severa insuficiencia del órgano, no se encontraron cifras - especialmente elevadas, siendo 21.0 ml/ml. en el caso de hepatitis que presentó estas complicaciones y en los tres casos de cirrosis hepática en estado de coma, los valores fueron normales.

7. La aldolasa por su parte, tuvo una elevación considerable sobre todo, en la hepatitis aguda con un valor medio de 36.5 unidades - Sibley - Lehninger y 3.6 veces los valores normales en la primera determinación. Mostró esta enzima poca especificidad de órgano ya que en las demás enfermedades tanto hepáticas como extra hepáticas hubo elevaciones menos - notables que en hepatitis, pero de todas formas importantes. En 3 casos - de cirrosis que entraron en coma hepático, se elevó en forma moderada y en 1 caso de hepatitis complicado por coma hepático la elevación fue mayor, - dándose la cifra más alta que se obtuvo en este estudio (71.5 unidades -

8. La evolución de la aldolasa en el curso de la hepatitis, como se ilustra en la gráfica 2, da una cifra importantemente elevada, en su primera determinación, descendió en la segunda 32.7 y en la tercera al igual que las transaminasas, aún se encontraba por arriba de la cifra normal. Por otra parte, esta enzima a diferencia de lo que ocurrió - con la D.I.C. si se elevó de manera moderada en los casos de cirrosis complicados con estado de coma hepático y en forma muy importante en el caso de hepatitis.

En base a lo anterior, se concluye que:

I. La actividad de la enzima deshidrogenasa isocítrica, - se encontró elevada de manera importante, únicamente en la hepatitis aguda.

II. Por otro lado, esta misma actividad se encontró elevada discretamente en neoplasias de hígado, absceso hepático y pancreatitis y - prácticamente normal en la cirrosis e ictericia obstructiva. Por lo que - se le confiere valor en el diagnóstico diferencial entre la hepatitis aguda y otras hepatopatías o bien con padecimientos extrahepáticos.

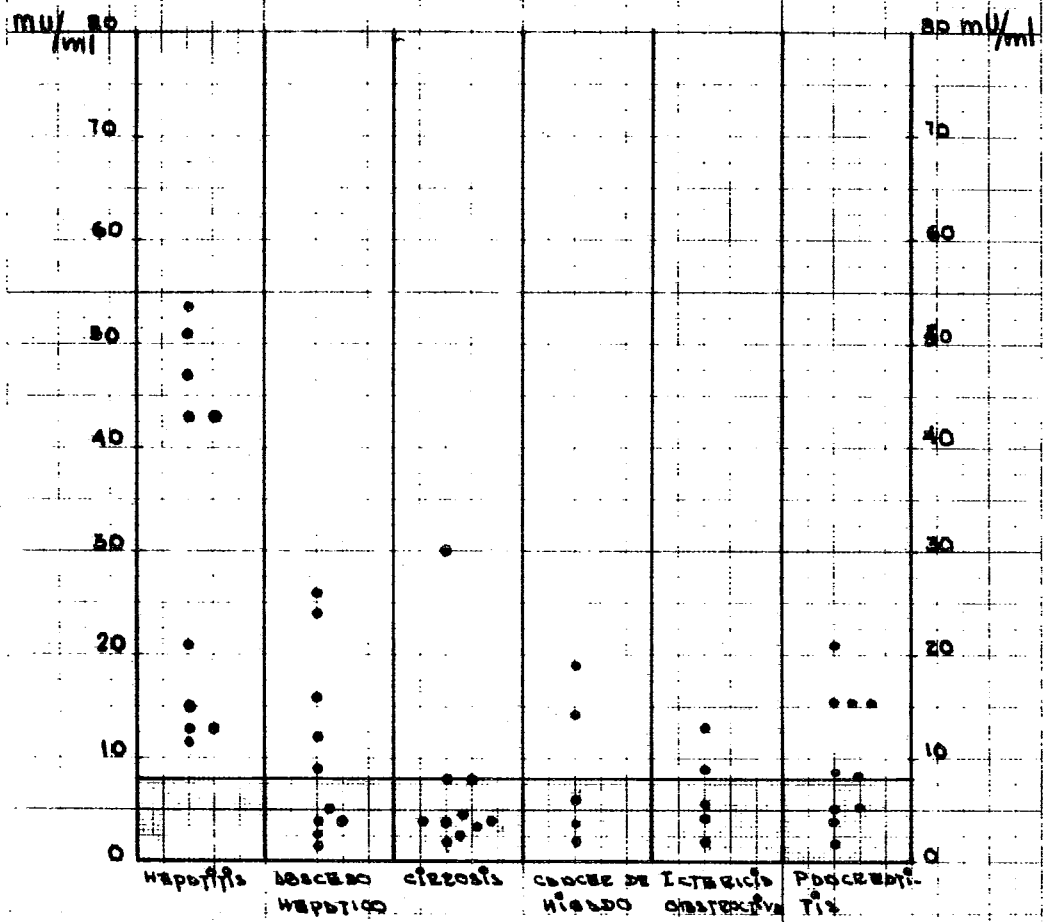
III. No es posible conceder a la D.I.C. valor pronóstico - en cuanto al grado de suficiencia hepática, puesto que no encontramos modificaciones especiales en el curso del coma hepático.

IV. La actividad de aldolasa, al igual que la D.I.C. se - halló elevado importantemente sobre todo en la hepatitis aguda.

V. La aldolasa mostró aparentemente poca especificidad de órgano, ya que se elevó en grado comparable tanto en padecimientos hepáticos (distintos de la hepatitis) como extra hepáticos.

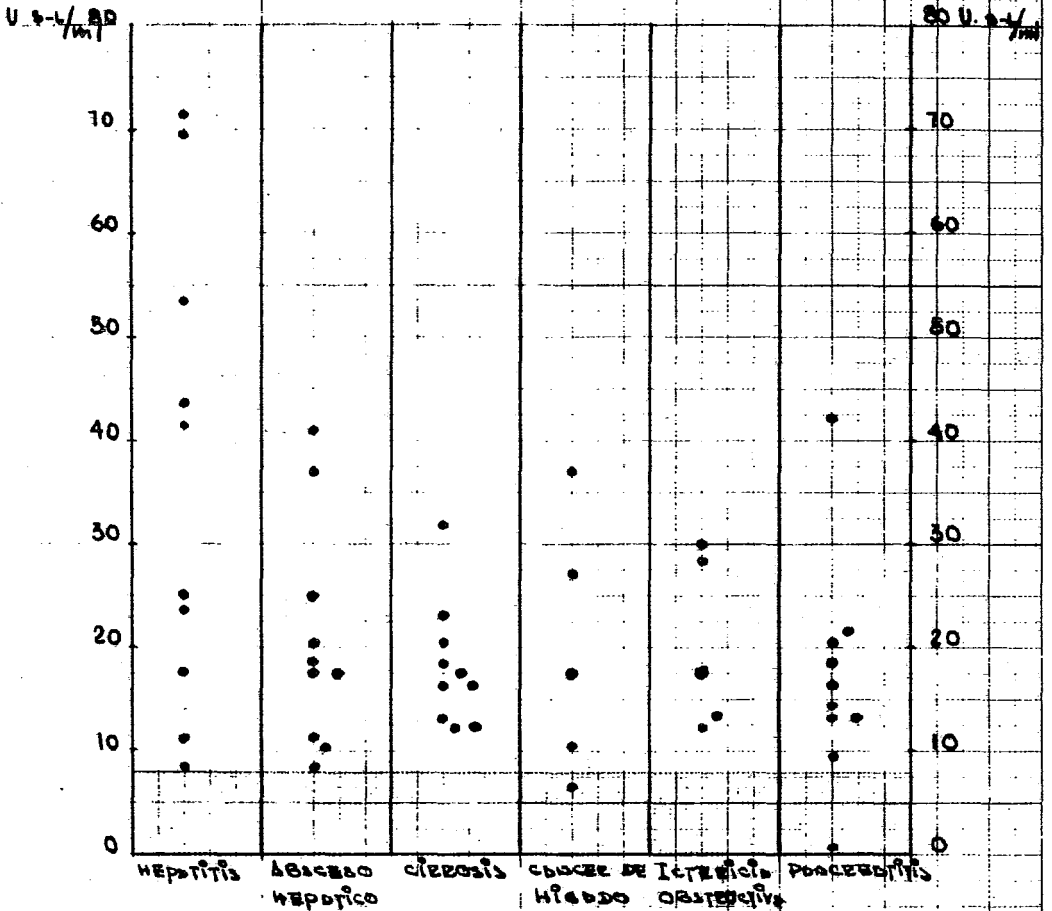
VI. Por los resultados obtenidos en este trabajo, no se cree que la deshidrogenasa isocítrica y la aldolasa puedan substituir a las otras determinaciones enzimáticas ya establecidas.

DESHIDROGENASA ISOCITRICA



PRIMERA DETERMINACION

ALDOLASA



PRIMERA DETERMINACION

B I B L I O G R A F I A

1. Arcila, O.R.: *Comportamiento de las enzimas deshidrogenasa isocítrica y aldolasa en algunos padecimientos hepáticos y extra hepáticos. Tesis de postgrado. Facultad de Medicina, U.N.A.M. 1973.*
2. Balcells, G.A., Pérez-Sandoval, D. y del Arco Vicente, J. A.: -- *Fosfohexosa isomerasa, deshidrogenasa isocítrica y fosfatasa alcalina en enfermos neoplásicos* Rev. Clin. Española. 106 (5): -- 357-63, Sept. 1967.
3. Balcells, G.A., Sandoval, D. y Venavente, H.J.: *Deshidrogenasa isocítrica en las enfermedades hepatobiliares.* Pren. méd. argent. 53.:104-9, 1966.
4. Bodansky, O., Shwartz, M.K., Krugman, S., Giles, J.P. and Jacobs, M.: *Comparison of activities of isocitric dehydrogenase and glutamic-oxalacetic transaminase in serum in infectious hepatitis.* Pediatrics. 25:807-11, 1960.
5. Buns, F. and Puls, W.: *Die aktivitat der serumaldolase bei erksanungen der leber. Ein neuer enzymatsher test.* Test. Klin. -- Wchnschr. 32:656-60. July 15, 1954.
6. Leon Castro, J. y Ledro Molina, D.: *Pruebas seroenzimáticas en las hepatopatías difusas.* Reg. Esp. Enf. Ap. Digest. 34 (1): -- 1-12, 1971.
7. Cohen, N.N., Potter, H.P. and Bowers, G.N.: *An evaluation of Isocitric Dehydrogenase in Liver Disease.* Ann. of Inter. Medic. 55-

(4): 604-9, 1961.

8. Conn, E.E. y Stumpf, P.K.
Bioquímica Fundamental.
Segunda Edición.
Editorial Limusa-Wiley, S.A.
México. 1969.
9. Coodley, E.L.: *Enzyme Diagnosis in Hepatic Disease.* Am. J. Gastroent. 56 (5) 413-19, 1971'
10. Coodley, E.L. *Enzyme Diagnosis in Hepatobiliary Disease.* Amer. J. Gastroent. 52 (3): 189-202, 1969.
11. Guareschi, E., Crouzel, C., Gandara M. y Rubio, H.H.: *Hepatopatías y enzimas en suero.* Pren. méd. argent. 49(27): 1436-39, - - 1962.
12. Okumura, M. and Spellberg, M. A.: *Serum isocitric dehydrogenase-activity in the differential diagnosis of liver disease.* Gastroenterology. 39:305-307, 1960.
13. Rees, K.R. and Sinha, K.P.: *Blood enzymes in liver injury.* J. - - Path 80: 297-307, 1960.
14. Sibley, J.A. and Fleisher, G.A.: *The clinical significance of - serum aldolase.* Proc. Mayo Clinic. 29: 591-603, 1970.
15. Sibley, J.A., Higgins, G.N. and Fleisher, G.A.N. *Serum aldolase - in experimental liver necrosis.* A.M.A. Arch. Phat. 59: 712-26 - - 1955.
16. Sibley, J.A. and Lehninger, A.L.: *Determination of aldolase in - animal tissues.* J. Biol. Chem. 177: 859-72, 1949.
17. Spellberg, M.A.: *Biochemical basis of liver function test.* Biochem. Clinic 3: 25-33. 1964.

18. Sterkel, R.L. Spencer, J.A., Wolfson, S.K. and Williams -Ashman, H. G.: *Serum isocitric dehydrogenase activity with particular reference to liver disease.* J. Lab. & Clin. Med. 52 (2): 176-84, 1958.

19. Tietz. N. W.
Química Clínica Moderna.
Primera Edición en Español.
Editorial Interamericana.
México, 1970.

20. Wolfson, S.K. and Williams-Ashman, H. G.: *Isocitric and 6-Phosphogluconic Dehydrogenase in Human Blood Serum.* Proc. Biol. Med. - 96: 231-34, 1957.