



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**  
FACULTAD DE QUIMICA

---

---

**Correlación Entre la Actividad de la Deshidrogenasa  
alfa-Hidroxiacética y la Electroforesis de las Isoenzimas  
de la Deshidrogenasa Láctica en Pacientes con Infarto  
del Miocardio**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**Químico Farmacéutico Biólogo**

P R E S E N T A :  
**FIDEL VAZQUEZ PARTIDA**



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**

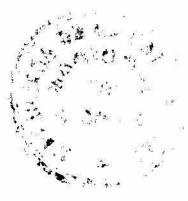
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

Filed  
1974  
M. F.

538

~~341~~ 341



2018/06

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE:

PRESIDENTE PROFR. FERNANDO VELEZ OROZCO

VOCAL PROFR. ENRIQUE VILLARREAL DOMINGUEZ

SECRETARIO PROFRA. DEA CORONADO PERDOMO

1er. SUPLENTE PROFR. MARIO CASTAÑEDA MORALES

2o. SUPLENTE PROFR. JAIME MORA CELIS

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

LABORATORIO DE BIOQUIMICA DEL CENTRO MEDICO LA -  
RAZA.

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUSTENTANTE:

FIDEL VAZQUEZ PARTIDA

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL ASESOR DEL TEMA:

Q.F.B. DEA CORONADO PERDOMO

NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUPERVISOR TECNICO:

DR. PABLO R. RIVERA HIDALGO.

- II -

A MIS PADRES CON  
CARIÑO Y GRATITUD

A MIS HERMANOS.



AL PERSONAL DEL  
LABORATORIO DE BIOQUIMICA  
DEL CENTRO MEDICO LA RAZA

A MIS MAESTROS  
AMIGOS Y COMPAÑEROS

EL PRESENTE TRABAJO FUE REALIZADO EN LOS LABORATORIOS DE BIOQUIMICA DEL CENTRO MEDICO LA - RAZA BAJO LA DIRECCION DE LA Q.F.B. DEA CORONADO PERDOMO Y SUPERVISADO POR EL DR. PABLO R. RIVERA HIDALGO. A QUIENES EXPRESO MI MAS SINCERO AGRADECIMIENTO.



INDICE DE CAPITULOS

	PAGINA
I.- INTRODUCCION .....	2
II.- GENERALIDADES.....	5
III.- MATERIAL Y METODOS.....	24
IV.- DISCUSION .....	43
V.- CONCLUSIONES.....	51
VI.- RESUMEN.....	56
VII.- BIBLIOGRAFIA.....	59

CAPITULO I  
INTRODUCCION .

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

En la actualidad hay la tendencia a identificar la deshidrogenasa alfa-hidroxi-butírica con la izoenzima deshidrogenasa láctica, fracción 1.

En el infarto al miocardio se ha observado experimentalmente que una elevación en suero de la deshidrogenasa láctica junto con las fracciones rápidas, trae consecuentemente una elevación de la deshidrogenasa alfa-hidroxi-butírica.

En Hipótesis a esta situación y con el fin de corroborar lo anterior se eligió este tema de trabajo, el cual lo hemos titulado:

"CORRELACION ENTRE LA ACTIVIDAD DE LA DESHIDROGENASA ALFA-HIDROXIBUTIRICA Y LA ELECTROFORESIS DE LAS ISOENZIMAS DE LA DESHIDROGENASA LACTICA EN PACIENTES CON INFARTO DEL MIOCARDIO".

Con el proyecto de trabajo en la siguiente forma:

- 1.- Estudio de 25 pacientes con infarto del miocardio diagnosticado clínicamente. Trece con otras afecciones. Efectuándose las determi-

naciones simultáneas de la deshidrogenasa alfa-hidroxibutírica e isoenzimas de la deshidrogenasa láctica.

- 2.- Selección de pacientes con diagnóstico de infarto del miocardio u otras afecciones cuya actividad de deshidrogenasa láctica está arriba de las 500 unidades.
- 3.- Los estudios de deshidrogenasa alfa-hidroxibutírica y deshidrogenasa láctica fueron efectuadas durante las 24 horas de su obtención para evitar alteraciones en la enzima con los consecuentes errores debido a ello.
- 4.- Establecer la relación entre la deshidrogenasa alfa-hidroxibutírica con la relación porcentual de las isoenzimas DHL-1 y DHL-2.

CAPITULO II  
GENERALIDADES

## GENERALIDADES .

## ENZIMAS EN EL DIAGNOSTICO CLINICO.

Las enzimas son catalizadores orgánicos solubles, de naturaleza coloidal producidas por un organismo vivo, son producidas intracelularmente - y liberadas hacia el plasma y líquidos orgánicos,- en los cuales podemos medir su actividad.

Las enzimas que se encuentran en la sangre son derivadas de la destrucción normal de los tejidos, y la concentración de estas suelen ser mucho menor en la sangre que dentro de la célula.

La distribución de las enzimas varia - de un tejido a otro, se encuentran dentro de una - misma célula diferentes enzimas en las diversas estructuras u organelos subcelulares, tales como el núcleo, las mitocondrias, los lisosomas, los microsomas y el citoplasma. Aunque no se conoce con -- exactitud el proceso por el cual son eliminadas -- las enzimas del suero, si se sabe que las distin - tas enzimas desaparecen a diferentes velocidades - que afectan indiscutiblemente los valores de las - concentraciones enzimáticas que se miden en suero.

Cuando se lesionan o destruyen células, la membrana celular se torna porosa y permite el -

paso de las enzimas hacia el líquido intracelular, y de éste, al compartimiento vascular. Cambios — en las concentraciones de enzimas en el suero reflejarán estados de salud o de enfermedad.

En los tejidos se encuentran diversas — enzimas, las cuales son específicas de ellas, encontrándose una elevación de su concentración sanguínea cuando existe una lesión de ese tejido en particular, y nos ayudan al diagnóstico. Así como la medición seriada de concentraciones enzimáticas nos da una información sobre el progreso o remisión tisular; datos útiles para vigilar la evolución del padecimiento.

La actividad enzimática es la suma de — influencia catalizadora de una apoenzima, sus coenzimas, activadores, inhibidores y antienzimas. — Los factores que influyen la actividad sérica enzimática son:

#### DAÑO TISULAR ESPECIFICO.

DAÑO TISULAR \_\_\_\_\_ LIBERACION ENZIMATICA \_\_\_\_\_ SINTESIS-  
ENZIMATICA  
ALTERADA.  
EXCRECION \_\_\_\_\_ CONC. ENZIMATICA SERICA \_\_\_\_\_ CATABOLIS  
MO.  
INHIBIDORES \_\_\_\_\_ ACTIVIDAD ENZIMATICA SE \_\_\_\_\_ TECNICA  
COFACTORES \_\_\_\_\_ RICA MEDIBLE O CUANTIFI \_\_\_\_\_ DE LOS  
Y ACTIVADO \_\_\_\_\_ CABLE. \_\_\_\_\_ ENSAYOS.  
RES.

### CLASIFICACION.

Según Hess distingue las enzimas del plasma en dos clases:

- a).- Las enzimas específicas del plasma.
- b).- Las enzimas específicas no del plasma.

El primer grupo comprende las enzimas con una función muy definida y específica en el plasma . En el están presentes en niveles más altos que los correspondientes a la mayoría de las células tisulares.

Las enzimas del segundo grupo no se sabe tengan función fisiológica de el plasma. Su presencia en el es en concentraciones mucho más bajas que en ciertos tejidos. En muchos casos el plasma carece, o no tiene, los suficientes activadores y coenzimas necesarios para la actividad de estas enzimas. Este grupo puede dividirse en dos subclases:

- 1).- Las enzimas de secreción.
- 2).- Enzimas asociadas con metabolismo celular.



Las primeras se secretan a alta velocidad y se dispone rápidamente de ellas y al mismo tiempo son eliminadas por las vías usuales como orina, bilis y tracto intestinal. Sus niveles normales en plasma son relativamente bajos y constantes.

Las enzimas de metabolismo celular están situadas en el interior de células tisulares — estando presentes en concentraciones muy altas.

Algunas existen libres en el tejido celular otras contenidas en estructuras celulares como mitocondrias, y lisosomas. Cuando la membrana celular está intacta estas enzimas están contenidas dentro de las paredes celulares y su nivel en el líquido extracelular y en el plasma es muy bajo en caso de encontrarse presente. Las membranas celulares son impermeables siempre que las células metabolizan normalmente, Si la actividad celular baja o se destruye como resultado de deficiencias de oxígeno o de glucosa, o si la célula se daña por otra causa (infección bacteriana o viral) la membrana se vuelve permeable o se rompe. El contenido de la célula con su complemento de enzimas, es liberado al líquido extracelular y finalmente llega al plasma. De esta manera pueden afectarse grandes volúmenes de células y aumentar muy rápido el nivel de las enzimas en el plasma.

La comisión acerca de enzimas, de la Unión Internacional de Bioquímica (1961), clasifi-

ca a las enzimas basándose en las reacciones químicas catalizadas en:

CLASES MAYORES.

- 1).- Oxidorreductasas-catalizan reacciones de oxido-reducción.
- 2).- Transferasas catalizan reacciones de transferencia de grupos.
- 3).- Hidrolasas-catalizan reacciones - hidrolíticas.
- 4).- Liasas-catalizan reacciones en que intervienen la eliminación de un grupo, dejando un doble enlace, o la adición de un grupo a un doble enlace.
- 5).- Isomerasas-catalizan reacciones-- que suponen isomerización.
- 6).- Ligasas o sintetasas-catalizan -- reacciones que consisten en la unión de dos moléculas, acopladas con la ruptura de un enlace pirofosfato de ATP o de un trifosfato similar.

**DESHIDROGENASA LACTICA.** La DHL (deshidrogenasa láctica) fué aislada por Thunberg en 1920 (2). Esta enzima es demostrable en casi todos los tejidos de vertebrados y muchos otros organismos. La enzima es un tetrámero de peso molecular de 123-153.000 esto fué encontrado por Apella y Markert en 1961 (1), quienes observaron que tratando la enzima con clorhidrato de guanidina que destruye puentes de hidrógeno, se disociaba en subunidades enzimáticamente inactivas y con un peso molecular de 34,900 aproximadamente la cuarta parte del peso molecular de la proteína completa. Se encuentra en concentraciones variadas en todos los tejidos del cuerpo (Fig.1), y el incremento de la DHL en el suero, que puede seguirse en la lesión de un tejido, es a menudo inespecífica en el diagnóstico.

La determinación seriada de los niveles de la DHL en la enfermedad puede estar correlacionada temporal y cuantitativamente con el tejido y el proceso patológico involucrado. Una elevación de ella se nota usualmente durante las primeras doce a veinticuatro horas después del infarto cardiaco, en donde se observa un máximo de elevación de los 2 a los 4 días y el retorno gradual a la normalidad se ha visto del octavo al decimocuarto día.

La duración de la elevación de la DHL después del infarto ha sido reportada variablemente, y el rango en diversos estudios es mostrado en la Tabla (Núm. 1).

Las elevaciones máximas en la DHLS — son más o menos proporcionales al grado de lesión del tejido miocárdico. En el infarto del miocardio las elevaciones de la DHLS por arriba de 3,000 unidades sugiere un grave pronóstico.

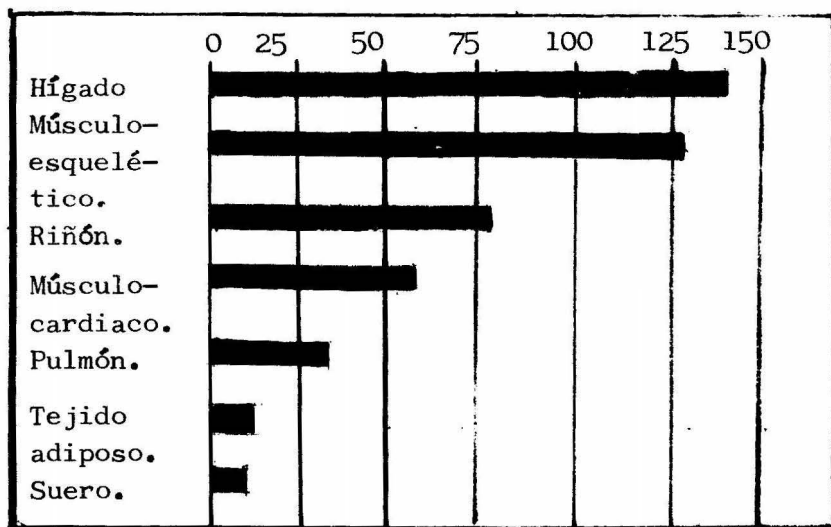


FIG. Núm. 1.— Contenido normal de la DHL en tejido y suero.

TABLA Núm. 1 NIVELES DE ELEVACION DE LA DHLS en POSTINFARTO.

Fuentes de Información.	Elevaciones Máximas.	Retorno a la normalidad.
Walker y Colaboradores.	(Postinfarto) hacia el 5o. y 6o. día	Onceavo Día.
Hsieh y Blumenthal.	hacia el 3er. día.	Sexto día.
Wroblewski y Colaboradores .	hacia el 4o. día.	del cuarto, al sexto día.
Zimmerman y Winstein.		Después del 4o. día.

La desventaja en las determinaciones de la DHLS es que ésta enzima no es específica para el tejido miocárdico. Esto se debe a que también se encuentra presente en las demás células del cuerpo y por consiguiente puede elevarse en procesos patológicos de otros órganos.

Los niveles de la DHLS se encuentran elevados en anemia megaloblástica, carcinomatosis, leucemia aguda, leucemia granulocítica, insuficiencia cardiaca, infarto pulmonar, necrosis renal, enfermedad muscular y anemia por células falciformes. Menos elevados en enfermedades hepáticas inflamatorias.

DESHIDROGENASA ALFA-HIDROXIBUTIRICA. Rosalki y Wilkinson descubrieron que la actividad de la alfa-DBH estaba asociada principalmente con la fracción de movimiento rápido, característico de la DHL de músculo de corazón.

Rosalki (8) hizo notar que la elevación de la actividad de la DHB era un índice diagnóstico más preciso en el infarto del miocardio que la elevación de otras enzimas séricas, y que la prueba de la actividad enzimática realizada varios días después del infarto aumentan la probabilidad de detectar cambios en todas las enzimas. Sugirió que valores mayores de 1000 U.I. para la DHL, 750 para DHB y 150 para la TGOS indican pronóstico reservado.

En el infarto del miocardio la DHB en suero está muy elevada y a veces en la hepatitis, pero se pueden diferenciar ya que el índice DHL/DHB se encuentra elevado en el infarto y bajo en la hepatitis.

La elevación de la DHB se ha comparado con el aumento en la TGOS pero con una duración mayor que la TGOS y la DHL. Los falsos negativos y positivos fueron raramente observados en una serie de 209 casos de infartos al miocardio, en tanto que se encontraron valores normales en caso de infarto pulmonar, fiebre reumática y pericarditis y en un 85% de pacientes con angina de pecho. En enfermedades hepáticas la elevación fué menos marcada y la relación DHL/DHB fué baja (Tabla No. 2).

TABLA No. 2. DESHIDROGENASA HIDROXIBUTIRICA EN SUERO, EN ENFERMEDADES DE CORAZON E HIGADO.

No.	DHBS <sup>±</sup> (uM/min./L)	DHBS/DLD ± DS.
Sujetos Normales.... 42	90 <sup>±</sup> 19	0.71 <sup>±</sup> 0.05
Enfermos no Hospitalizados con enfermedades no especificadas. 29	29 <sup>±</sup> 20	0.71 <sup>±</sup> 0.05
Infarto del Miocardio..... 119	303 <sup>±</sup> 200	0.87 <sup>±</sup> 0.11

TABLA Núm. DESHIDROGENASA ALFA-HIDROXINUTIRICA EN-SUERO, EN ENFERMEDADES DE CORAZON E HIGADO.

	No.	DHBS <sup>±</sup> (uM/min./L)	DHBS/DHLS ± DS.
Hepatitis Infeccio- sa.....	29	175 <sup>±</sup> 136	0.44 <sup>±</sup> 0.09
Ictericia Obstruc- tiva.....	15	98 <sup>±</sup> 33	0.58 <sup>±</sup> 0.06
Cirrosis.....	17	96 <sup>±</sup> 22	0.59 <sup>±</sup> 0.06

Tomado de Wilkinson.

Existen 2 causas más fuera del infarto y la hepatitis, con elevaciones en los niveles de esta enzima que son la anemia megaloblástica en tratamiento y la distrofia muscular progresiva.

En la insuficiencia cardiaca, que sigue al infarto los niveles de la TGOS pueden mostrar un aumento secundario en tanto que los niveles de la DHL y la DHB continúan en descenso. A pesar de esto el índice DHL/DHB continúa aumentado y esta elevación es característica del daño de las célu-



las hepáticas con insuficiencia cardiaca que pueden confirmarse mediante la detección de un aumento de la TGPS. La actividad de la DHB proporciona un medio para saber la concentración de la fracción migratoria de las insoenzimas veloces de la DHL e indica la contribución cardiaca al aumento de los niveles de la DHL en sangre. La relativa especificidad de esta prueba se debe a la mayor concentración de la DHB en el músculo cardiaco comparada con su concentración en otros tejidos.

Kottinen y Halonen (4) compararon la DHB con la TGOS y DHL en 60 pacientes con infarto del miocardio y encontraron una elevación constante de la DHB con un máximo al tercer día. Ellos reportaron elevaciones del 92% de la enzima DHB en comparación con el 77% de la DHL y el 66% de la TGOS.

Muchas enzimas que catalizan una reacción química específica están ampliamente distribuidas por las células de organismos de diferentes especies y poseen actividad idéntica o muy similar. Estas enzimas de diferentes fuentes no son proteínas idénticas pues tienen diferencias demostrables en sus propiedades químicas, físicas, bioquímicas y en especial inmunológicas. Se cree que la estructura del "Centro Activo" es idéntica (o muy similar) en todas las enzimas de una especificidad dada cualquiera que sea su origen, pero que los órganos de sucesión de aminoácidos en muchas seccio-

nes de las cadenas de péptidos pueden variar considerablemente.

Entre 1952 y 1959 Pfléiderer, Wieland, Wieme, Markert y otros investigadores establecieron que incluso una enzima dada obtenido del mismo organismo individual podía existir en múltiples formas designadas como isoenzimas o heteroenzimas.

Wróblewski propuso que proteínas diferentes presentes en el mismo individuo con actividad similar o parecida fueran designadas "Isoenzimas". Las isoenzimas difieren en su velocidad de emigración electroforética, en la estabilidad de desnaturalización hacia el calor, resistencia a algunos agentes inhibidores químicos y afinidad para algunos substratos y coenzimas.

Markert y Moller introdujeron el término "Isoenzima" para describir las diferentes formas moleculares con que las proteínas pueden existir con la misma especificidad enzimática. El subcomité del "Comité" permanente de enzimas" propuso el término de izoenzima como el más aceptable. Como no existe unanimidad en la numeración de las isoenzimas el "Comité permanente de enzimas" recomendó que cuando múltiples formas de una enzima se identifican con la electroforésis, deben llevar números consecutivos y a la fracción que exhiba la movilidad más rápida hacia el ánodo se le asignará el número uno.

ISOENZIMAS DE LA DHL. El descubrimiento de las Isoenzimas nos conduce a mejorar el diagnóstico especificado con más detalle la enzima ensayada, particularmente en el caso de la deshidrogenasa láctica. Willkinson (10) ha señalado que — la DHL en suero y varios tejidos contiene cinco — componentes diferentes separables por electroforosis. Estas fracciones son conocidas como isoenzimas porque catalizan la misma reacción química, osea la reducción de piruvato o lactato. Las actividades de estas fracciones determinadas por técnicca colorimétrica o espectrofotométrica, y por patrones electroforéticos de extractos de diferentes tejidos parecen ser órganoes específicos. Wilkinson — propuso el término "ISOENZIMA" desde que se demostró que las propiedades químicas y catalíticas de las fracciones de acción rápida de la DHL son diferentes de las de acción lenta y además por observar diferencias inmunoquímicas.

Wroblewski y Gregory (13) analizaron — los compoentes individuales de la DHL y demostraron que la medición por separado de cada una de — las isoenzimas componentes de la DHL, pueden ser—vir para diferenciar varios procesos patológicos.

El daño tisular en tejidos tales como — el del miocardio o hígado determina anormalidades— características en las proporciones relativas de — las diferentes isoenzimas, demostrada por electroforosis. El plasma de adulto normal contiene cino

co isoenzimas, DHL-1, DHL-2, DHL-3, DHL-4 y DHL-5, y la nomenclatura dada en la Fig. 2. De estas la-  
 alfa 2 constituye del 25 al 50% de la DHL total, -  
 junto con la alfa-1 que le sigue en importancia y-  
 comprende del 6 al 36%. Estas isoenzimas se pueden  
 diferenciar por sus características físicas (esta-  
 bilidad térmica), química (novilidad sobre el gel-  
 de almidón) o inmunológicas (inhibición por substra-  
 to anti-DHL).

De acuerdo a Cohn y colaboradores las-  
 alteraciones que se notan en las isoenzimas de la.  
 DHL en una variedad de enfermedades pueden clasifi-  
 carse en tres grupos. El primer grupo por tener u-  
 na anomalía alfa-LDH; el segundo una anomalía-  
 dad beta-gamas-LDH y el tercero con isomorfismo --  
 del patrón LDH.

En el suero normal las cinco isoenzi-  
 mas de la LDH están presentes con las concentracio-  
 nes siguientes:

LDH<sub>1</sub> mayor    LDH<sub>2</sub> mayor    LDH<sub>3</sub> mayor    LDH-4 mayor    LDH-5  
           que                    que                    que                    que

El patrón alfa-está asociado con enfer-  
 medades del miocardio; la liberación del LDH-1 y--  
 LDH-2 por corazón durante el infarto causa altera-  
 ciones en la distribución de las isoenzimas con --  
 LDH-1 mayor LDH<sub>2</sub>.  
           que

FIG. 2 CLASIFICACION DE TELS NOMENCLATURAS PARA ISOENZIMAS BASADAS EN LA MOVILIDAD ELECTROFORÉTICA.

	Anofo (+)	Punto de aplicación de muestra.			Cátodo (-)
Nomenclatura Europea	DHL-1	DHL-2	DHL-3	DHL-4	DHL-5
Nomenclatura Americana	DHL-5	DHL-4	DHL-3	DHL-2	DHL-1
Electroforética	Alfa-1	Alfa-2	Beta	Gamma-1	Gamma-2
Fuente tisular típica	Miocardio				Hígado

CUADRO # 3 IMAGEN DE ISOENZIMAS EN ALGUNOS TEJIDOS ESCOJIDOS, EN PORCENTAJE DE LA ACTIVIDAD TOTAL DE DHL.

Organo ó tejido.	Isoenzimas de deshidrogenasa de lactato.					Referencia
	1	2	3	4	5	
Corazón	21-70	23-45	2-16	0-6	0-5	69
Riñón	21	34	21	11	6	69
Hígado	0-3	2-10	3-33	6-27	20-85	69
Músculo estriado	1-10	4-18	8-38	9-36	40-97	69
Cerebro	21-25	21-26	36-54	15-20	2-8	69
Eritrocitos	32-46	36-56	11-15	4-5	2	69
Pulmón	10	20	30	25	15	69
Bazo	6-10	11-15	24-40	20-28	5-20	69
Suero normal	25-31	38-45	17-22	5-8	3-6	68
Suero normal	31-54	37-54	3-15	0-5	0-3	95
Suero normal	26-40	40-54	10-18	3-9	0	
Suero normal	31-32	40-42	21-22	5-6	0	60

Estudios en pacientes con infarto han demostrado un incremento de las isoenzimas plásmáticas con predominio de la alfa-1. Este aumento de las isoenzimas ocurre primero durante el curso de un infarto y persiste por más tiempo que la DHL total. La determinación anormal de alfa- ó beta-gamma de la DHL en suero ha sido de gran ayuda no sólo en la localización sino también en la inclusión de algún órgano sospechoso de lesión, por el esquema de las características propias se facilitará el diagnóstico preciso de lesión orgánica por medio de métodos indirectos.

### PLAN DE TRABAJO.

El objeto de realizar este trabajo fué el de demostrar que las fracciones I y II de la deshidrogenasa láctica realmente aumentan en forma gradual al incrementarse la actividad total de la deshidrogenasa alfa-hidroxi-butírica y para esto un buen campo de experimentación está representado por pacientes con infarto del miocardio, puesto que tanto la deshidrogenasa láctica como la deshidrogenasa alfa-hidroxi-butírica se incrementan en éste trastorno. Especialmente son las fracciones I y II de la deshidrogenasa láctica las que aumentan, de ahí el interés de determinar ambas diastatas así como dichas fracciones en suero de estos pacientes.

Por otro lado existen otros padecimientos tales como: Insuficiencia cardiaca, colecistitis crónica, tromboembolia, infarto pulmonar, en los cuales también se encuentran alteraciones de las diastatas que interesan, pero la variación de las diferentes fracciones pueden esquematizarse como sigue:

	Deshidrogenasa Láctica	LDH <sub>1</sub>	LDH <sub>2</sub>	LDH <sub>3</sub>	LDH <sub>4</sub>	LDH <sub>5</sub>	Deshidrogenasa alfa- Hidroxiútrica.
I.W.	Aumentada	Moderada Elevación	Liger Elevación	Muy poca	Muy poca	Muy poca	Aumentada.
Cardiopatía	Aumentada	Ligera Elevación	Moderada Elevación	Ligera baja	Ligera baja	Ligera Elevación	Aumentada
Cor. Pulme- nale	Aumentada	Ligera Elevación	Normal	Ligera Elevación	Ligera Baja	Normal	Aumentada.
D.C.C. y Dia- betes	Aumentada	Baja	Normal	Moderada Elevación	Baja	Ligera Elevación	Aumentada.
E.P.	Aumentada	Baja	Baja	Ligera Elevación	Baja	Moderada Elevación	Aumentada.
I.C.	Aumentada	Moderada Elevación	Baja	Baja	Baja	Ligera Elevación	Aumentada.
I.C.C.V.	Aumentada	Baja	Baja	Baja	Baja	Moderada Elevación.	Aumentada.
I.C.C.V. y E.P.	Aumentada	Ligera Elevación	Baja	Ligera Elevación	Baja	Ligera Elevación	Aumentada.
I. Mitral	Aumentada	Ligera Elevación	Baja	Baja	Normal	Ligera Elevación	Aumentada.
Post Pró- tesis	Aumentada	Moderada Elevación	Ligera Elevación	Baja	Muy poca	Muy poca	Aumentada.
Trombo- Embolia.	Aumentada	Moderada Elevación	Baja	Ligera Elevación	Muy poca	Ligera Elevación	Aumentada

Según lo anterior el plan de trabajo con-  
sistió en efectuar determinaciones de ambas dias-  
tasas así como de las fracciones de la deshidrogena-  
sa láctica separables por electroforesis según los  
métodos que a continuación se describen.

Debido a las dificultades de contar con  
el material humano suficiente, este trabajo se li-  
mitó a 38 casos, y cuyos resultados se describen -  
más adelante.



## MATERIAL Y METODOS.

El material biológico utilizado en este trabajo fueron 38 sueros de pacientes internados en la Unidad de Cardiología del Centro Médico-la Raza, con diferentes diagnósticos; 25 de los cuales fueron de infarto al Miocardio, 2 de post-prótesis, 3 con insuficiencia cardiaca (I.C.), 1 con tromboembolia, 1 con embolia pulmonar, 1 con insuficiencia mitral, 1 con cardiopatía y 4 con insuficiencia cardiaca congestiva vascular (I.C.C.V.).

Las investigaciones fueron hechas de acuerdo con las condiciones previas para toda determinación enzimática como son: obtención del suero no hemolizado evitando así un aumento no específico de las enzimas, las muestras fueron obtenidas de pacientes con el cuadro de infarto reciente de 24 horas, 4 días, 6 días y 8 días de producida la lesión con el objeto de ver los cambios de los niveles de estas enzimas en sangre. El infarto fué confirmado por medio de electrocardiograma y clínicamente.

Las muestras fueron procesadas haciendo primero la determinación de la deshidrogenasa láctica (DHL), deshidrogenasa alfa-hidroxi**butírica** (HBD) y por último una determinación de las "Isoenzimas" de la DHL.

Básicamente la actividad de una enzima se puede determinar en tres formas:

A).- Midiendo la disminución del sustrato en un tiempo determinado.

B).- Siguiendo la utilización de producto formado por la enzima en un tiempo determinado.

C).- Siguiendo la utilización del sustrato o formación del producto de reacción en el - curso de la reacción enzimática.

Esto se realiza bajo condiciones controladas de temperatura pH, concentración de sales, de enzimas y sustrato. Estos factores afectan la actividad de las enzimas, puesto que, debido a su naturaleza proteíca, son termolábiles ya que se desnaturalizan a diferentes temperaturas inhibiéndose así su actividad.

Como las proteínas son electrolitos, - el estado de ionización, que presenta la enzima, - depende de la concentración de iones hidrógeno - (pH) por lo tanto de este pH depende la actividad de una enzima.

## DESHIDROGENASA LACTICA.

(CABALUD Y WROBLOWSKI.)

## FUNDAMENTO.

La deshidrogenasa láctica (Oxidoreductosa), es una enzima de transferencia de hidrógenos, que cataliza la conversión de ácido pirúvico y difosfopiridin nucleótido reducido, a ácido láctico y difosfopiridin nucleótido respectivamente. Si—guoendo esta reducción el ácido pirúvico restante reacciona con la dinitrofenilhidrazina también deteniendo la actividad de la deshidrogenasa lácti—ca. Cuando el piruvato dinitrofonilhidrazina es tratado 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 la DHL, habrá menor cantidad de piruvato en la solución.

## REACTIVOS:

- 1.— Sustrato de ácido pirúvico (pH 7.8 a 8.0) pesar en una balanza analítica 0.2 g. de ácido —pirúvico y diluir a 1 litro en un matraz volumétrico (200 ug. por ml.). Agregar al ácido —pirúvico diluido 10 g. de fosfato de potasio —dibásico ( $K_2HPO_4 \cdot 3 H_2O$ ). Este Sustrato es —estable por dos semanas en refrigeración.

- 2.- Preparar una solución de DPNH en solución de—  
 sustrato de ácido pirúvico (reactivo # 1) y —  
 que contenga 1 mg. de DPNH por ml. Se usó —  
 reactivo DADE con las indicaciones correspon—  
 dientes a la dilución que debía hacerse.
- 3.- Solución de 2, 4- dinitrofenilhidrazina. En —  
 un matrás volumétrico de 1 litro, disolver 200  
 mg. de 2.4- dinitrofenilhidrazina, con 85 ml.—  
 de HCL concentrado, diluír a 1 litro con agua—  
 destilada. Esta solución es estable por un pe—  
 ríodo de varias semanas en refriferación.
- 4.- Hidróxido de sodio aproximadamente 0.4 N. En—  
 una matrás volumétrico de 1 litro disolver 16—  
 g. de NaOH con agua destilada a 1 litro. Fil—  
 trar si es necesario para eliminar cualquier —  
 traza de turbiedad.
- 5.- Enza-trol<sup>R</sup> : Suero control normal (DADE):  
 Contiene 890 unidades/ ml. de DHL.

PROCEDIMIENTOS PARA LA DETERMINACION DE LA DHL.

	<u>TESTIGO</u>	<u>PATRON.</u>	<u>PROBLEMA</u>
DPNH (recontituído)..	1.0 ml.	1.0 ml.	1.0 .1. (Cinco minutos a 37 grados C.)
Agua destilada.....	0.02 ml.	_____	_____

	<u>TESTIGO</u>	<u>PATRON</u>	<u>PROBLEMA.</u>
Suero Control Normal.			
Enza-trol <sup>R</sup> ...	_____	0.02 ml	_____
Suero (problema)	_____	_____	0.02 ml.

(Incubar a 37 grados C. por 30 min).

Desarrollador de color.....	1.0 ml.	1.0 ml.	1.0 ml.
--------------------------------	---------	---------	---------

(20 min. a temperatura ambiente).

NaOH 0.4 N.....	10 ml.	10 ml.	10 ml.
-----------------	--------	--------	--------

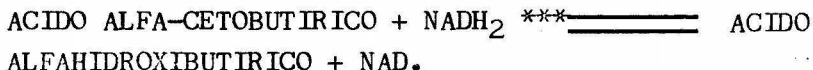
(30 Min. Temperatura ambiente).

Leer a 520 nm., se usó el espectrofotómetro Coleman  
Jr. II

"DETERMINACION COLORIMETRICA DE LA DESHIDROGENASA-ALFA-HIDROXIBUTRICA. BASADA EN EL METODO DE ROSALKI".

FUNDAMENTO DEL METODO:

La deshidrogenasa alfa-hidroxi-butírica (oxidoreductasa) es una enzima de transferencia de hidrogenos que cataliza la reducción del ácido alfa-cetobutírico por incubación con suero y en presencia de dinucleótido, dehidrònicotinàmida-adenina (NADH). La reacción se detiene por la adición de 2, -dinitrofenil-hidrazina, la cual reacciona con el ácido-cetobutírico restante para formar la hidrazona. Esta hidrazona toma un color café mediante la adición de álcali, la intensidad del cual es una medición del ácido alfa-cetobutírico-restante y nos da inversamente el nivel de la actividad de la DHB en suero.



REACTIVOS:

- 1.- Amortiguadro de fosfato de Sorensen, 0.067 M., pH 7.4.

- a).- Disolver 9.4 g. de fosfato disódico en 1 litro de agua destilada.
- b).- Disolver 9.08 g. de fosfato -monopotásico en 1 litro de -- agua destilada.
- c).- Mezclar 80.2 ml. de (a) con - 19.8 ml. de (b)
- d).- Se guarda en el refrigerador- y se renueva en casos de que- aparezcan signos de contaminación.

2.- Solución concentrada de ácido alfa-cetoburítico 0.1 M.

- a).- Pesar 1.02 g, de ácido alfa-cetoburítico en un vaso, el - contenido se pasa a un matrás volumétrico de 100 ml. con 30 ml. de amortiguador de fosfato. Ajustar a pH 7.4 por la adición gota a gota de una -- solución de KOH a saturación, diluir a la marca con amor -- tiguador de fosfato.

- b).- Distribuir en cantidades de 4 ml. en botellas de vidrio con rosca.
- c).- Guardar en el congelador a  $-18$  grados centígrados, estable por varios meses.
- 3.- Solución de dinucleótido de hidronicotinamida adenina.
- a).- Se prepara una solución reciente de NADH reducida, que contiene 10 mg. por mililitro de amortiguador de fosfato. La cantidad preparada dependerá del número de determinaciones que se hagan. Para cada determinación se requiere 0.1 ml.
- 4.- REACTIVO DE COLOR:
- a).- Disolver 400 mg. de 2,4-dinitrofenil hidrazina en 85 ml. de HCL. conc. Diluir a 1 litro con agua destilada.
- 5.- NaOH 0.4 N.
- a).- Disolver 16 g de NaOH en agua destilada y diluir a 1, litro.



6.- Monitrol RT. Se usó control (DADE) conteniendo 268 unidades/ml. de — deshidrogenasa alfa-hidroxibutírica.

PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DE LA DBH.

	<u>PROBLEMA.</u>	<u>TESTIGO.</u>	<u>PATRON.</u>
Suero (problema)..	0.025 ml.	0.025 ml.	0.025 ml.
Suero control normal (Monitrol RT)..	—————	—————	0.025 ml.
NADH- Subst. ác. al fa-centobutírico...	0.25 ml.	—————	0.25 ml.

(Incubar un hora a 37 grados C.)

	<u>PROBLEMA</u>	<u>TESTIGO</u>	<u>PATRON.</u>
Desarrollador de color.....	0.25 ml.	0.25 ml.	0.25 ml.

(20 min. a temperatura ambiente.)

NaOH 0.4 N....	2.5 ml .	2.5 ml.	2.5 ml.
----------------	----------	---------	---------

(5 min. a temperatura ambiente.)

Leer a 520 nm., (se usó el espectrofotometro Coleman Jr. II.)

CALCULOS.

$$1.- \text{FACTOR} = \frac{\text{CONCENTRACION DEL PATRON.}}{\text{D.O. TESTIGO} - \text{D.O. DEL PATRON.}}$$

$$2.- \text{CONCENTRACION PROBLEMA} = \text{D.O. TESTIGO} - \text{D.O. PROBLEMA}) \times \text{FACTOR.}$$

= UNIDADES DE LA DHB.

VALORES NORMALES:

Las cifras normales de DHB oscilan de 100 a 300 unidades DHB/ml. de suero. Las concentraciones superiores a 300 unidades sugieren lesión de músculos cardíaco.

UNIDAD ENZIMATICA:

La unidad de la DHB se define como aquella cantidad de enzima que en un mililitro de suero produce un descenso en la absorbencia de 0.001 de D.O. por minuto bajo las condiciones de la prueba.

ISOENZIMAS DE LA DESHIDROGENASA LACTICA.  
(ISO-FORM DHL (DADE)).

A. FUNDAMENTO:

Las isoenzimas de la deshidrogenasa — láctica son separadas por electroforé<sup>sis</sup> en membranas de acetato de celulosa. Su actividad se determina incubando con una mezcla de lactato la coenzima NAD, NITRO AZUL DE TETRAZOLIO Y METOSULFATO DE FENACINA. La isoenzima transforma simultáneamente en su forma reducida NADH<sub>2</sub>. El metosulfato de fenacina transfiere los átomos de hidrógeno del NADH<sub>2</sub>, en Nitro azul de tetrazolio que se reduce así a un colorante violeta insoluble llamado violeta de formazán. Las distintas fracciones de isoenzimas se presentan como bandas violeta en el medio de soporte lo que permite su cuantificación densitométrica.

NOTA: Pueden utilizarse otros medios de soporte como el agar, gel de almidón y gel de acrilamida.

B. MATERIAL Y EQUIPO:

- a).- Amortiguador (B-2 Beckman), pH 8.6  
fuerza iónica 0.075.

Ac. dietil barbitúrico..... 2.76 g.  
 Dietil-barbiturato de sodio..15.40 g.  
 Agua destilada c.b.p..... 1000.0 ml.

Disolver las sales en un matr az aforado de 1000 ml. en 800 ml. de agua destilada agitar hasta completa disolución, aforar a 1000 ml. con agua destilada.

- b).- Reactivo de color: Colocando en un frasco ambar 24 mg. de nitro azul de tetrazolio, 1 ml. de solución de metosulfato de fenacina (2 mg. de metosulfato de fenacina en 10 ml. de agua destilada) y 100 mg. de difosfo-piridin nucleótido (NAD) liofizados. (Se usó el reactivo, DADE convenientemente diluido).
- c).- Sustrato-amortiguado: 1).- Solución reguladora de tris HCL 0.1 M, pH 9 (12.1g. de tris y se ajusta el pH con HCL. Se afora a 1 litro):
- 2).- Lactato de sodio 40%, pH 8.5 (47-ml. de solución de ácido láctico al 85% se ajusta el pH con NaOH y se afora a 100 ml.):
- 3).- Substrato 3.6 ml. de (2) y 46.4 - ml. de (1).

d).- Agar-noble especial 2% (difco).

2. MATERIAL:

a).- Cajas de plástico desechables; Cajas - de plástico para utilizarlas con los-- reactivos antes mencionados.

b).- Membranas de acetato de celulosa, mi-- crozona Beckman.

c).- Material habitual en un laboratorio de química clínica.

3.- EQUIPO: Aparato de electroforésis - (Beckman.) Consiste en:

a).- Fuentes alimentadora DUOSTAT (voltaje: 250 volts, voltaje constante).

b).- Celdilla electroforética de microzona- Beckman.

c).- Analytrol Beckman modelo RB.

## c).- METODO:

Muestra: Un microlitro de suero -  
(4 aplicaciones utilizando el ---  
aplicador de microzona).

TECNICA:

- 1.- Desarrollador de color: Reactivo -  
de color reconstituído con 5.5 ml.  
de substrato-amortiguado. Dejar -  
en reposo hasta que se disuelva el  
contenido.
- 2.- En la electroforesis, se sumergen-  
las membranas de acetato de celuloo  
sa por lo menos durante quince minuto  
s en solución amortiguadora B-2-  
Beckman.

Se llena la cámara de electroforesis  
con 750 ml. de solución de barbital  
barbiturato pH 8.6, esta solución-  
deberá estar a 5 grados centígrado  
s.

Antes de colocar la muestra sobre-  
las membranas, estas se secan ligera

ramente presionando con un papel — filtro para posterior aplicación — de un microlitro de suero utilizando el aplicador de microzona. Se aplica un voltaje de 250 volts., — durante 30 min. Durante la separación electroforética calentar el — frasco con 10 ml. (Agar noble especial 2% Difco) en un baño de maría-hirviente hasta licuar. Enfriar — aproximadamente a 70 grados centígrados y mezclar con el frasco de reactivo de color reconstituido. — Vaciar a una caja de plástico, cubrir la superficie de la caja con el agar y dejar el gel a la temperatura ambiente, protegido de la — luz.

- 3.- Cuando la separación electroforética es completa. Quitar la membrana de la cámara de electroforesis. — Cortar los extremos de la misma e invertir sobre la superficie del — gel, teniendo cuidado de evitar — que queden atrapadas burbujas de — aire.

Cubrir la caja con agar y la membrana e incubar en la obscuridad a 37 grados centígrados por 30 minutos.

4.- Una vez que se desarrolló por completo la separación y el revelado de las isoenzimas, quitar la membrana y lavar con agua corriente. En seguida lavar en varios cambios de ácido acético al 10% con intervalos de 30 segundos durante 3 minutos. Quitar el exceso de ácido acético presionando la membrana entre 2 papeles secantes, dejando secar a la temperatura ambiente por 90 min. o hasta que seque completamente.

#### D. CUANTIFICACION:

a).- Valoración por densitometría:

La palabra densitometría se refiere a la técnica de medir la concentración de una sustancia por su grosor o densidad óptica. Esto se hace usualmente por el procedimiento indirecto de medir la densidad total del colorante que se combina con la proteína, una vez que se ha eliminado cuidadosamente toda la coloración del fondo.



b).- El densitómetro empleado más comunmente en la electroforésis es el - Analytrol Beckman RB. Las áreas - bajo la curva se calculan igual que la electroforésis de proteínas, excepto que el ajuste de velocidad - debe ser 100 y el peso de luz debe estar completamente abierto.

#### VALORES NORMALES:

#### ISOENZIMAS DE LA DHL.

Nomenclatura Internacional		Rango	% del Total. Media.
Corazón:	DHL-1	20.0-34.0	26.5
	DHL-2	28.5-41.0	34.5
	DHL-3	15.5-25.0	20.5
Hígado:	DHL-4	3.5-12.0	7.5
	DHL-5	6.5-15.0	11.0

Valores promedio para suero normal utilizando gel agar. (Cawley)

Valores promedio para suero normal utilizando acetato de celulosa. (Opher ycolaboradores.)

Corazón:	DHL-1	30.0%	5	Corazón:	DHL-1	25.1%
	DHL-2	34.0%	4		DHL-2	32.8%
	DHL-3	27.0%	5		DHL-3	20.8%
	DHL-4	4.5%	2		DHL-4	12.2%

Hígado:	DHL-5	3.6%	2	Hígado	DHL-5	8.5%
---------	-------	------	---	--------	-------	------

C A P I T U L O I V .

R E S U L T A D O S .

## R E S U L T A D O S .

Los resultados están expuestos en dos cuadros, el primero de los cuales se refiere a infarto del miocardio y en el cual los casos se han agrupado en orden creciente de la actividad de la Deshidrogenasa Láctica (25 casos). En el mismo — se incluyen al final dos casos (el número 26 que es el infarto del miocardio complicado con colecistitis crónica y el caso número 27 complicado con insuficiencia cardiaca congestiva ventricular.)

En el segundo cuadro se incluyen los otros trastornos estudiados (13 casos).

También se exponen copias de las bandas obtenidas después de la electroforesis e incubación de las isoenzimas de la Deshidrogenasa Láctica en suero normal y en algunos casos patológicos así como las curvas densitométricas y las actividades en por ciento y en unidades derivadas de la integración de las mismas.

TAULA # 4 RESULTADOS OBTENIDOS EN CASOS DE INFARTO DEL MIOCARDIO.

A.	B.	C.	D.	E.	F.	G.	H.	I.	J.	K.	L.	M.	N.	O.	P.	Q.
Casos	Diagnóstico	Act. Total (DHL)	Act. Total (DHB)	% P (1)	% Act. F (1)	% P (2)	% Act. F (2)	% P (3)	% Act. F (3)	% P (4)	% Act. F (4)	% P (5)	% Act. F (5)	DHL-1 DHL-2	DHL DHB	DHL100 DHL
1.-	Suero Normal	300 us.	233 us.	22.5	67.5	27.9	83.7	22.5	67.5	14.9	41.7	13.2	39.6	0.806	1.260	79.33 %
2.-	Suero Normal	400 us	233 us	23.7	94.8	30.5	122.0	20.3	81.2	15.3	61.2	10.2	40.8	0.777	1.680	59.53 %
3.-	I.M.	500 us	320 us	46.0	230.0	33.5	167.5	10.8	54.0	33.8	19.0	5.9	29.5	1.373	1.562	64.0 %
4.-	I.M.	500 us	400 us	34.9	174.5	24.7	123.5	16.4	82.0	10.3	51.5	13.7	63.5	1.412	1.250	80.0 %
5.-	I.M.	504 us	310 us	32.5	163.8	32.5	163.8	21.2	106.8	10.0	50.4	3.8	19.2	1.000	1.625	61.5 %
6.-	I.M.	510 us	330 us	45.2	230.52	25.6	130.56	5.4	27.54	10.7	54.57	13.1	66.81	1.765	1.545	64.7 %
7.-	I.M.	640 us	377 us	40.5	259.2	26.4	170.96	14.1	90.24	9.8	62.0	9.2	58.88	1.534	1.653	60.47 %
8.-	I.M.	672 us	531 us	33.0	222.0	23.0	189.0	22.0	110.0	7.0	48.0	10.0	67.0	1.108	1.265	79.02 %
9.-	I.M.	670 us	564 us	36.2	621.2	29.3	502.8	17.7	303.7	5.8	99.5	11.0	138.8	1.235	1.223	81.74 %
10.-	I.M.	700 us	520 us	35.4	247.8	26.0	182.0	15.6	109.2	11.5	80.5	11.5	80.5	1.361	1.346	74.28 %
11.-	I.M.	728 us	592 us	33.3	242.4	30.4	221.3	24.0	174.7	12.3	89.6	0.0	0.0	1.095	1.450	68.95 %
12.-	I.M.	816 us	523 us	27.3	233.1	28.4	231.7	26.0	212.2	4.1	33.5	12.2	92.5	1.031	1.560	64.09 %
13.-	I.M.	836 us	533 us	31.7	265.0	23.8	199.0	10.3	153.0	11.8	95.5	14.3	119.5	1.331	1.568	63.75 %
14.-	I.M.	840 us	604 us	40.0	336.0	33.6	282.2	16.4	137.8	2.1	17.6	7.9	66.4	1.190	1.390	71.90 %
15.-	I.M.	896 us	594 us	50.0	443.4	24.2	216.36	6.4	57.34	8.1	72.58	11.3	101.25	2.066	1.508	66.29 %
16.-	I.M.	1008 us	817 us	43.0	433.4	37.2	695.1	12.3	124.0	2.7	27.2	3.8	38.3	1.125	1.233	81.05 %
17.-	I.M.	1020 us	304 us	36.0	308.8	14.0	151.2	12.0	129.6	20.0	216.0	18.0	194.4	2.57	1.343	74.44 %
18.-	I.M.	1120 us	710 us	47.2	556.96	30.0	354.0	7.0	92.04	5.0	59.0	10.0	118.0	1.573	1.661	60.17 %
19.-	I.M.	1201 us	990 us	21.0	252.21	32.0	374.32	25.0	300.25	15.0	180.15	7.0	84.07	0.656	1.203	82.43 %
20.-	I.M.	1320 us	761 us	32.9	433.0	30.6	403.9	15.7	207.2	3.9	55.5	17.0	224.4	1.072	1.734	57.65 %
21.-	I.M.	1440 us	621 us	29.8	429.2	27.5	296.9	17.0	244.80	11.7	168.48	14.0	201.6	1.242	2.318	43.12 %
22.-	I.M.	1514 us	1216 us	38.0	551.38	34.0	493.34	15.0	217.65	3.0	43.53	10.0	145.10	1.117	1.193	83.80 %
23.-	I.M.	1672 us	960 us	32.1	536.7	33.1	469.8	16.7	279.3	7.8	130.4	15.3	255.8	1.142	1.741	57.42 %
24.-	I.M.	1802 us	1297 us	38.5	693.8	33.3	600.1	15.2	273.9	7.3	131.5	5.7	102.7	1.156	1.400	71.42 %
25.-	I.M.	2099 us	1344 us	35.40	742.0	25.00	603.0	15.5	326.0	8.6	178.0	11.7	245.0	1.194	1.561	64.03 %
26.-	I.M. y C.C.C.	990 us	630 us	42.6	421.7	30.8	305.0	14.4	139.6	0.0	0.0	12.6	124.7	1.382	1.571	63.63 %
27.-	I.C.C.V.	1216 us	570 us	28.6	347.8	27.1	329.5	22.4	272.4	8.6	104.6	13.3	161.7	1.055	2.133	46.87 %

Columna A. Casos estudiados.

Columna B. Diagnóstico  
 1,2. Suero normal.  
 3-25. Infarto del miocardio (I.M.)  
 26. Infarto del miocardio y colecistitis crónica.  
 27. Infarto del miocardio e insuficiencia cardíaca congestiva ventricular.

Columna C. Actividad total de la deshidrogenasa láctica.

Columna D. Actividad total de la deshidrogenasa alfa-hidroxi-bútrica.

Columna E, F, I, J y N. Porcentajes correspondientes de las cinco fracciones de la deshidrogenasa láctica en función de la actividad total de la DHL.

Columna P, R, J, L y M. Porcentajes de actividad en unidades de cada fracción con respecto a la actividad total de la deshidrogenasa.

Columna O. Relación entre la fracción DHL-1 y DHL-2

Columna P. Relación entre la actividad total de la DHL y la actividad total de la deshidrogenasa alfa-hidroxi-bútrica.

Columna Q. Porcentaje de la actividad de la deshidrogenasa alfa-hidroxi-bútrica como parte integrante de la DHL total.

TABLA #5. RESULTADOS OBTENIDOS EN OTROS PADECIMIENTOS.

A. Casos.	B. Diagnóstico.	C. Act. total	D. Act. total.	E. F(1).	F. Act. F(1)	G. F(2)	H. Act. F(2)	I. F(3).	J. Act. F(3)	K. F(4).	L. Act. F(4)	M. F(5).	N. Act. F(5)	O. DHL-1 DHL-2	P. DEL DBB	Q. DHEX100 DEL
1.	Cardiopatía.	1022 us.	923 us.	27.6	282.2	29.5	301.6	17.4	159.2	11.4	117.5	13.0	132.5	0.935	1.437	69.57
2.	Cor pulmonale.	750 us.	481 us.	25.5	192.0	32.2	241.5	24.6	164.5	9.5	71.25	5.1	60.75	0.795	1.636	61.56
3.	D.C.C. y Diabetes	502 us.	471 us.	17.2	137.0	31.5	252.6	28.0	242.6	11.2	89.8	12.1	97.0	0.546	1.951	51.24
4.	E. F.	23 us.	431 us.	23.9	145.3	25.6	155.7	21.4	130.1	9.8	59.6	19.3	117.3	0.933	1.410	69.24
5.	I. C.	910 us.	693 us.	25.0	227.5	26.4	240.2	20.0	182.0	13.2	120.1	15.4	140.2	0.947	1.509	66.35
6.	I. L.	1100 us.	550 us.	26.1	134.4	20.9	139.9	15.6	124.6	5.9	64.9	14.2	156.2	0.953	1.950	51.27
7.	I. C.	1100 us.	423 us.	26.9	124.0	27.3	133.4	7.0	75.4	7.0	176.4	11.4	127.7	1.683	1.785	55.98
8.	I.C.C.V.	1026 us.	125 us.	20.7	112.33	13.1	135.70	5.5	67.21	9.5	95.50	42.1	112.21	1.143	1.945	51.66
9.	I.C.C.V. y H. F.	1039 us.	924 us.	28.2	230.4	11.2	542.6	22.7	394.7	5.6	97.4	12.3	213.9	0.903	1.582	53.13
10.	I. Mitral.	1022 us.	537 us.	27.5	235.57	11.54	317.03	17.72	177.55	12.0	120.45	19.12	101.4	0.9	1.699	59.52
11.	Post protesis.	1173 us.	565 us.	25.6	124.0	19.1	175.6	19.1	251.2	2.7	39.7	1.5	51.5	0.910	1.791	58.76
12.	Post protesis.	1532 us.	1007 us.	25.4	150.2	26.0	173.9	21.0	193.9	3.0	56.2	5.0	93.8	0.972	1.872	53.42
13.	Tromboembolia	1159 us.	370 us.	34.0	131.9	30.0	356.4	21.0	242.5	5.9	54.4	10.0	115.8	1.133	1.697	53.22

Columna A. Casos estudiados.

Columna B. Diagnóstico.

- 1). Cardiopatía.
- 2). Cor pulmonale.
- 3). Dolor Cardíaco Inestable (D.C.C.) y Diabetes
- 4). Embolia pulmonar (E.P.).
- 5). I. Insuficiencia cardíaca (I.C.).
- 6). Insuficiencia cardíaca congestiva ventricular (I.C.C.V.).
- 7). Insuficiencia cardíaca congestiva ventricular (I.C.C.V.).
- 8). Insuficiencia mitral (I. Mitral).
- 9). I.C.C.V. y Embolia pulmonar (E.P.).
- 10). Insuficiencia mitral (I. Mitral).
- 11). Post protesis.
- 12). Tromboembolia

Columna C. Actividad total de la deshidrogenasa láctica.

Columna D. Actividad total de la deshidrogenasa alfa-hidroxiútrifrica.

Columnas E, G, I, K, y M. Porcentajes correspondientes de las cinco fracciones de la deshidrogenasa láctica en función de la actividad total de la DHL.

Columnas F, H, J, L y N. Porcentajes de actividad en unidades de cada fracción con respecto a la actividad total de la deshidrogenasa láctica.

Columna O. Relación entre la fracción DHL-1 y DHL-2.

Columna P. Relación entre la actividad total de la DHL y la actividad total de la alfa-DHB.

Columna Q. Porcentaje de actividad de la deshidrogenasa alfa-hidroxiútrifrica como parte integrante de la DHL total.

FIG. # 4. Fococopia de las bandas de formazan en -  
membranas de acetato de celulosa después  
de la electroforésis e incubación de las  
isoenzimas de la DHL en suero normal con  
nitro azul de tetrazolio.

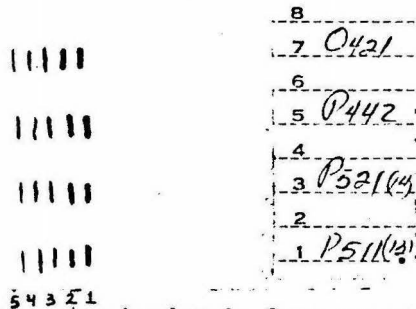
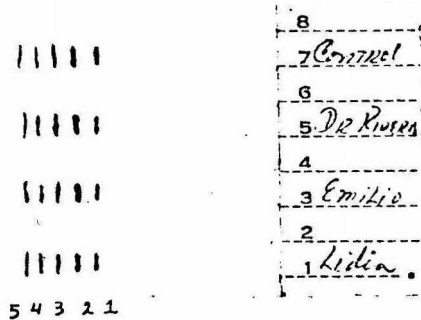


FIG. # 5. Fococopia de las bandas de formazan en -  
membranas de acetato de celulosa después  
de la electroforésis e incubación de las  
isoenzimas de la DHL en suero de pacien-  
tes con infarto del miocardio con nitro  
azul de tetrazolio.

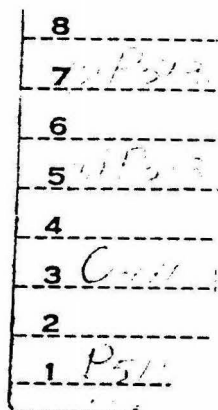
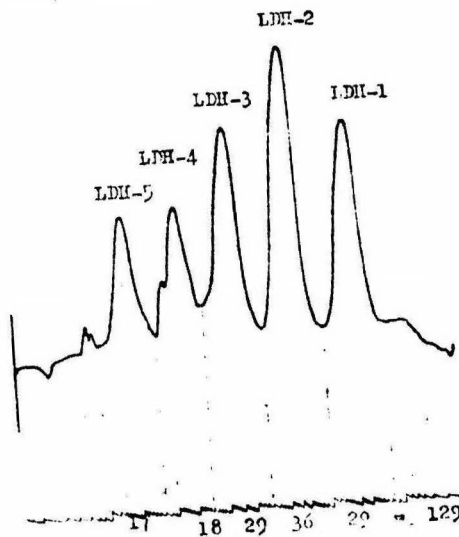


Fig No. 6. Fotografía de las bandas de formazan en membranas de acetato de celulosa después de la electroforesis e incubación de las isoenzimas de la DHIL en suero de pacientes con infarto del miocardio con nitroazúl de tetrazolio.



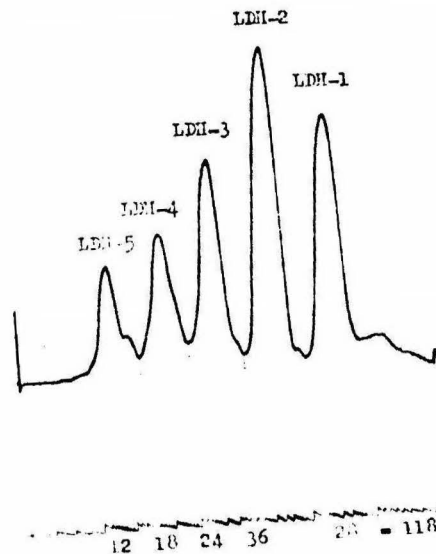
CASO # 1

	% ACTIVIDAD	UNIDADES
LDH-5	= 13.2 %	39.6
LDH-4	= 13.9 %	41.7
LDH-3	= 20.5 %	67.5
LDH-2	= 27.9 %	83.7
LDH-1	= 22.5 %	<u>67.5</u>
		300.0



CASO # 2

	% ACTIVIDAD	UNIDADES.
LDH-5	= 10.2 %	40.8
LDH-4	= 15.3 %	61.2
LDH-3	= 20.3 %	81.2
LDH-2	= 30.5 %	122.0
LDH-1	= 23.7 %	<u>94.8</u>
		300.0



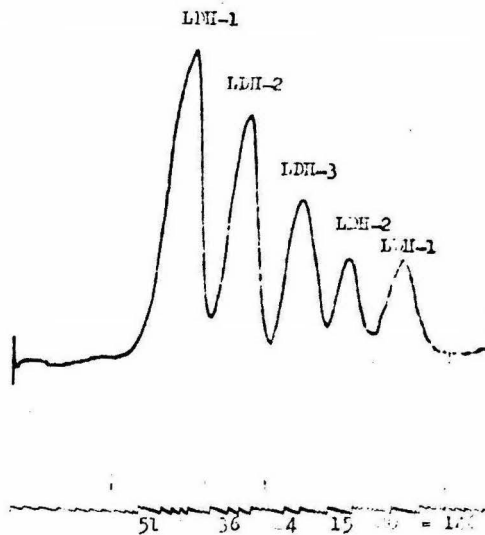
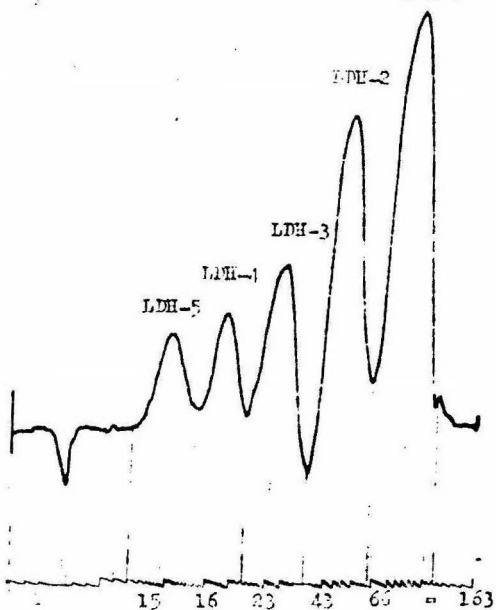
GRAFICAS 1-A y 1-B.  
 Cuantificación densitométrica, y porcentaje de actividad en relación a la actividad total de la NAL en suero por ml.

P442

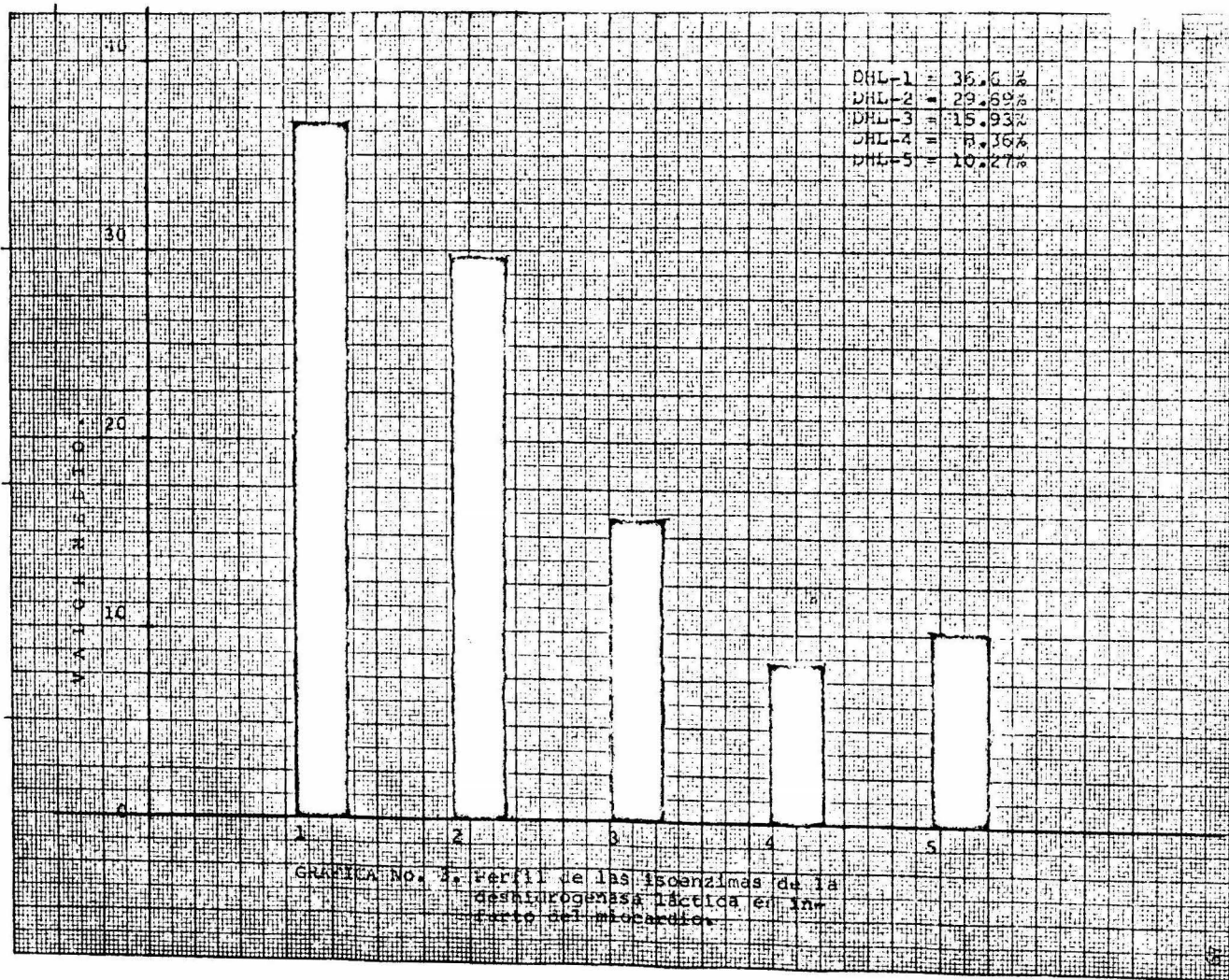
(1421)  
(1-5)

	% ACTIVIDAD	UNIDADES
LDH-5	= 9.2 %	58.80
LDH-4	= 9.8 %	62.72
LDH-3	= 14.1 %	90.84
LDH-2	= 20.4 %	130.96
LDH-1	= 40.5 %	259.20

	% ACTIVIDAD	UNIDADES
LDH-1	= 34.9 %	174.5
LDH-2	= 34.7 %	173.5
LDH-3	= 10.4 %	54.0
LDH-4	= 10.3 %	51.9
LDH-5	= 13.7 %	68.5



FIGS 2-A y 2-B  
Cuantificación de la actividad de las isoenzimas LDH-1, LDH-2, LDH-3, LDH-4 y LDH-5 por el método de la actividad de la enzima en relación a la actividad total de la LDH en infarto del miocardio.



GRÁFICA No. 3. Perfil de las isoenzimas de la deshidrogenasa láctica en infarto del miocardio.

C A P I T U L O V .

DISCUSION.

RESUMEN.

CONCLUSIONES.

C A P I T U L O V .D I S C U S I O N .

Al estudiar cada una de las columnas - de la Tabla Núm. 4 y 5 encontramos que la actividad total de la deshidrogenasa láctica se encuentra con fuerte tendencia a elevarse tanto en los - pacientes con infarto al miocardio como en los - otros trastornos estudiados. Si bien es cierto - que hay tres casos dentro del límite de la normalidad, todos los demás si muestran fuertes incrementos de esta diastasa.

Cosa muy similar podemos decir de la actividad total de la desdrogenasa alfa-hidroxi-bútrica, aunque no hay relación, es estricta en los - incrementos de cada una de ellas, si se observa - que en general el aumento de una concuerda con el de la otra.

Los porcentos correspondientes a las cinco fracciones de la deshidrogenasa láctica muestran variaciones interesantes, por ejemplo: la fracción I se eleva en forma bastante notable en - todos los casos y sólo en el número 19 nos muestra una cifra normal en lo que se refiere al porcentaje en función de la actividad total de la deshidrogenasa láctica aunque en cambio el porcentaje de actividad en unidades si está elevado.

Una cosa similar podemos hacer notar— respecto a la Fracción II, en cambio el porcientoen función de la actividad total de la Fracción — III, IV y V muestran cifras normales o muy cercan— a la normalidad. Aunque las fracciones con — respecto a la actividad total de la deshidrogenasa láctica si se observan elevadas en casi todos los— casos.

Puesto que por lo que se refiere a la— Fracción III, IV y V los valores encontrados tanto en función de la actividad de la deshidrogenasa — láctica como los porcientos de actividad en unida— des están muy similares. Solo las Fracciones I y— II pueden tener significado diferencial del infar— to del miocardio con los otros trastornos estuda— dos y la relación de los porcientos de actividades de las Fracciones I y II con respecto a la activi— dad total de la deshidrogenasa láctica muestran — una relación relativamente aproximada con las acti— vidades totales de la deshidrogenasa láctica y — deshidrogenasa alfa-hidroxibutírica.

La relación entre las isoenzimas, des— hidrogenasa láctica-1 y deshidrogenasa láctica-2 — expresada en la columna "0" muestran cifras dentro de lo que parecen normales a pesar del caso bajo — como el número 19 y otros más altos como son los — números 15 y 17, lo cual nos hace pensar que la re—

lación expresada en esta columna no tiene ningún --  
valor diferencial.

La relación deshidrogenasa láctica-des-  
hidrogenasa alfa-hidroxi-butírica (DHL) está en un-  
DHB

caso semejante por lo cual pensamos que no podemos  
emplerar estos, hallazgos, como de aplicación clí-  
nica por lo menos mientras no haya una casuística-  
mayor.

De todo lo anterior concluimos que los  
casos estudiados por nosotros compureban incremen-  
tos de las actividades totales de la deshidrogena-  
sa láctica y la deshidrogenasa alfa-hidroxi-butíri-  
ca en los trastornos cardíacos estudiados y que, -  
cosa muy significativa las Fracciones I y II se ele-  
varon específicamente en los casos de infarto del-  
miocardio cuando se determinaron los porcentos de  
actividad en unidades con respecto a la actividad-  
total de la deshidrogenasa láctica.

Consideramos que estos resultados pue-  
den ser la iniciación de estudios posteriores para  
tratar de encontrar una relación más estrecha en-  
tre las variaciones porcentuales de las Fracciones  
I y II y el trastorno conocido como infarto del --  
miocardio, pero también estamos convencidos que --  
los esfuerzos y los medios con que contamos, nos ha

hecho establecer los puntales para investigaciones futuras en este aspecto, con posibilidades no puramente bioquímicas y fisiológicas sino también de aplicación clínica.

Si lo anterior es cierto nos consideraremos ampliamente satisfechos.



C O N C L U S I O N E S .

1.- Se comprobó en los trastornos cardíacos estudiados la elevación de las cifras de actividades totales tanto de la deshidrogenasa láctica como de la deshidrogenasa alfa-hidroxibutírica.

2.- Estas elevaciones se discreparon en forma notable en los casos de infarto del miocardio de los encontrados en los otros trastornos cardíacos.

3.- La Fracción I y II de la deshidrogenasa láctica mostraron incrementos más constantes en casos de infarto del miocardio, cuando los resultados fueron expresado en porcentos de actividad en unidades con respecto a la actividad total de la deshidrogenasa láctica.

4.- Los incrementos a que se refiere la conclusión anterior no fueron lo suficientemente diferentes de los encontrados en otros trastornos como para que pudiera servir de base diagnóstico.

## R E S U M E N .

1.- Se hace una revisión en generalidades sobre enzimas, específicamente deshidrogenasa láctica, deshidrogenasa alfa-hidroxibutírica e isoenzimas de deshidrogenasa láctica.

2.- Se mencionan con detalle las técnicas empleadas en el trabajo.

3.- Se obtienen los porcentos correspondientes de las cinco fracciones de la deshidrogenasa láctica en función de la actividad total de la deshidrogenasa láctica.

4.- Se obtiene el porcentaje de actividad de la deshidrogenasa alfa-hidroxibutírica — (alfa-DHB) como parte integrante de la deshidrogenasa láctica total, ya que en la actualidad hay la tendencia a identificar la deshidrogenasa alfa-hidroxibutírica con la isoenzima DHL-1 donde encontramos una actividad de 63-80%.

Se obtuvo la actividad en unidades de cada fracción con respecto a la actividad de la — deshidrogenasa láctica.

C A P I T U L O   V I .

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

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

- 1.- Apella, E. and C. L. Markert, 1961. Dissotiation of lactate deshydrogenase into subunite-with guanidine hydrochloride. Biochem. Biophys. Res. Commun. 6: 171.
- 2.- Bohn, L., Bendixen, G., and Hermind, P.: Inhibition of lactate dehydrogenase activity in -serui with urea in cases of myocardial infarction. Nord. Med, 76:1467, 1966.
- 3.- Cohen, L., Djordjevich, J. and Ormiste, V.: -Serum lactic deshydrogenase isozyme patterms-in cardiovascular and otherdiseases, with particular reference to acute myocardial infarction. J. Lab. Clin. Med. 64:355, 1964.
- 4.- Kottinen, A., and Halonen, P.I.: Serum creatine phosphokinase and hydroxibutyrate dehydrogenase activites compared with glutamic oxaloacetic transaminase and lactic dehydrogenase in myocardial infarction. Cardiologia -- (Basel), 43:56: 1965.
- 5.- Latner, A. L., Skillen, A. W.: Isoenzymes in-biology and medicine. Academic Press, 1968.

- 6.- Markert, C.L., and Miller, F.: Multiple forms of enzymetissue, ontogenetic, and species -- specific patterns, Proc. Nat. Acad. Sci. 45:-753, 1959.
- 7.- Rosalki, S.B., Wilkinson, J. H.: Serum alpha-hydroxibutyric dehydrogenase in diagnosis. J. Amer. Med. Assn. 189:61, 1964.
- 8.- Rosalki, S.B.: Serum hydroxibutyrate: Anew -- test for myocardial infarction. Brit Heart.- J. 25:765, 1963.
- 9.- Webb, E.C.: Nomenclature of multiple enzyme - forms, Nature. 203:821, 1964.
- 10.- Wilkinson, J. H.: Clinical application of enzyme activity measurements in body fluids. Clin. Chem. 11:239, 1965.
- 11.- Wilson, A.C., R.D. Cahn and Kaplan, 1963, Functions of the two forms of lactic dehydrogenase in the breast muscle of birds. Nature New-Biology. 197: 331.
- 12.- Wróblewski, F., Ross, C., and Gregory, K.: Isoenzymes and myocardial infarction. New Eng. J. Med. 263:531, 1960

- 13.- Wróblewski, F., and Gregory, K. F.: Lactic - dehydrogenase isoenzymes and their distribution in normal tissues and plasma. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 94:212, 1961.
- 15.- Wróblewski, F.: The clinical significance of alterations of lactic dehydrogenase activity of body fluids. *Amer. J. Med. Sci.* 234: 301, 1957.