

REVISTA DE LA FACULTAD DE MEDICINA

VOL. XVII

Bogotá, Enero de 1949

Número 7

Director, Prof.

ARTURO APARICIO JARAMILLO, Decano de la Facultad

Secretario de la Dirección, Doctor Rafael Carrizosa Argaez

Comité de Redacción:

Prof. Alfonso Esguerra Gómez. Prof. Manuel José Luque.

Prof. Agr. Gustavo Guerrero I.

Secretario de la Redacción, Luis Enrique Castro

Administrador, Alvaro Roza Sanmiguel

Dirección: Calle 10 N° 13-99 — Bogotá — Apartado Nacional N° 400

Prensas de la Universidad Nacional

LA AMILASA SANGUINEA Y URINARIA

Trabajo presentado por Jesús María Barragán C.,
para el Concurso de Profesores Agregados de la Cátedra de Química Médica de la Facultad Nacional de Medicina.

INTRODUCCION

Con el objeto de presentarnos al Concurso de Profesores Agregados en la Cátedra de Química Médica de la Facultad Nacional de Medicina de la Universidad Nacional, hemos querido iniciar una serie de trabajos que sobre el importante y apasionante tema *Las enzimas y Diastasas*, desarrollaremos en un futuro próximo, con el fin de sentar las bases hasta donde nos sea posible de las medias de esas sustancias entre nosotros (Amilasa, Fosfatasa, Lipasa).

El presente trabajo sólo se relaciona con la Diastasa (Amilasa) urinaria y sanguínea; sus relaciones entre sí, su promedio, importancia, etc., y lleva por título "*La amilasa sanguínea urinaria*" y haremos de una vez por todas un breve resumen de los fermentos, su acción, propiedades, clasificación, dosificación de la diastasa (amilasa), etc.

El material escogido para este trabajo consta de individuos sanos que van al Centro epidemiológico de Tuberculosis número 1, del Ministerio de Higiene, con el fin de hacerse un examen radiológico del

tórax (fotofluorografía) para tomar posesión de diferentes cargos, o para poder seguir trabajando donde lo venían haciendo, etc.; en todo caso todos gozaban de perfecta salud.

Este trabajo fue verificado en el "*Laboratorio Clínico*" de Miguel Barragán.

Enzimas

Meditando un poco acerca de la dificultad con que tropezamos en el Laboratorio para provocar la desintegración energética de las sustancias que entran en la alimentación de los seres vivos y viendo la facilidad que tienen éstos para poder transformar rápidamente las sustancias que le sirven de sustento en su misma materia, en la constitución de sus células, y habiendo sido demostrado por varios autores que esas reacciones o ese catabolismo químico se produce, se acelera a veces con extractos de tejidos en donde no hay células de ninguna especie pues previamente se las ha destruído, es preciso concluir que en ese extracto existen unas sustancias especiales producidas por las células que son las que influyen en las diferentes reacciones químicas. A estas sustancias se les conoce con el nombre de *Fermentos* o *enzimas*.

Fermentos o enzimas

Sus acciones son, pues, muy semejantes a las de los catalizadores, pues es sabido que éstos son cuerpos "que producen por su sola presencia, actividades químicas que no se verifican sin ellos" Berzelius. Ostwald, añade a esto, en que la acción de provocar actividades químicas solamente es de aceleración, pues aquellas se verificarían por sí solas, aunque con una velocidad infinitamente menor. Mittasch define un catalizador de la siguiente manera: "Un catalizador determina con su presencia la dirección y velocidad de las reacciones químicas, o de las consecuencias de ellas, sin aparecer él mismo en el producto final" (1)

Los fermentos también tienen la propiedad de provocar una reacción y de ahí que se les haya denominado con el nombre de *Catalizadores bioquímicos*, y se diferencian de los catalizadores químicos, en que los primeros, no sólo aceleran la reacción química, sino que son capaces de desencadenarla.

Cameron, define el fermento, enzima o catalizador bioquímico así: "Es un catalizador producido por una célula viva, pero cuya acción es independiente de la célula que le engendró" (2).

Esta última parte ha sido objeto de grandes controversias, y de ahí nació la consideración de los *fermentos amorfos* que como los pro-

ducidos por las glándulas del tubo digestivo tienen acción en él y fuera de él, y los fermentos "formes" que se considerarían como integrantes de las células y que por lo tanto no se podrían separar de ellas. Willstätter, ha logrado últimamente separar por diversos procedimientos y con gran trabajo de las células una parte del fermento dándole el nombre de *desmoenzima*, por contraposición a la *lioenzima*, que sería la parte que sería fácil desprender de la célula.

Naturaleza química de los enzimas

Las hay simples, como la ureasa y la pepsina; cristalizan y en su composición centesimal guardan la misma proporción de las proteínas conocidas. Hay otras que para obrar necesitan estar en presencia de otro principio que es indestructible por el calor y es dializable y que ha recibido el nombre de *cozimas* (tratándose de la levadura) en contraposición al principio termolábil o *apozimas*, formando las dos la *holozimas*. Esto es válido no sólo para los fermentos de la levadura sino para todos aquellos de la misma constitución y de ahí:

$$\text{Cofermento} + \text{Apofermento} = \text{Holofermento.}$$

Willstätter demostró que los enzimas se comportan ya sea como proteínas y otros como proteidos. Los primeros o enzimas simples tienen su grupo activo sólidamente incorporado a la molécula de albúmina y es idéntico a una determinada agrupación aminoácida. Los segundos, estarían formados por un grupo activo o proteína y un grupo prostético que variará según el caso, y el que explicará según su constitución la acción fermentativa.

Hay algunos fermentos, que en su constitución contienen la cisteína, que obran esencialmente por el grupo $-\text{SH}-$, el cual por combinación puede perder hidrógeno y convertirse en $-\text{S-S}-$ y viceversa. (Cistina). Hay otros como la pepsina que obran por el grupo aminado primario y por el radical hidroxilo en posición "para, en un anillo bencénico y así tenemos que si por medio de la acetilación del grupo aminado primario no se pierde mucha actividad en la acción del fermento, sí la pierde si se acetila el hidroxilo de la tirosina (radical bencénico).

Propiedades de los fermentos

1) Una pequeña cantidad de fermento es capaz de provocar una gran transformación de sustancia, debido a que como no entra en la reacción no se destruye.

2) La acción del fermento no es indefinida, puesto que a veces es inhibido por las mismas sustancias a que él ha dado lugar a forma-

ción, así a que como es de naturaleza albuminoide, puede sufrir alteraciones fácilmente.

3) La velocidad de transformación depende de la cantidad de sustrato presente, así como del tiempo que dure obrando el fermento. Esto se puede expresar así:

$$V = \frac{1}{t} \log \frac{a}{(a-X)} = K$$

a = cantidad inicial de sustancia

X = cantidad de sustancia transformada en el tiempo "t".

La cantidad de fermento presente y el tiempo, marchan proporcionalmente hasta cierto límite, pues si cuando se esté terminando la acción, el fermento está muy concentrado y la sustancia por transformar sea pequeña, entonces va disminuyendo la acción de la unidad de éste.

4) A medida que aumenta la *temperatura* la aceleración de la acción aumenta en una proporción del doble por cada 10 grados; pero esto tiene sus límites pues más allá de los 40 grados el fermento se altera y a los 60 grados ha perdido por completo su actividad.

5) Todos los fermentos necesitan para obrar una determinada concentración de hidrogeniones, es decir, necesitan un pH determinado. Una vez éste obtenido la acción del fermento depende también de las sustancias tampones que entren en juego para mantener pH indicado así como también la índole del sustrato elegido.

6) Los fermentos son sustancias muy inestables. Son fácilmente transformados no sólo por el calor, o el cambio de la concentración de hidrogeniones, sino por la agitación mecánica y las vibraciones moleculares producidas por la luz ultravioleta.

7) Los enzimas son coloidales y poco difusibles y por lo tanto son sustancias de un tamaño molecular grande.

8) Son solubles en el agua, en la glicerina diluída, en las soluciones de cloruro de sodio y en el alcohol etílico diluído.

9) La reacción fermentativa es reversible, es decir: pueden volver a formarse las sustancias iniciales, y la velocidad con que las sustancias originales aparecen nuevamente, es exactamente igual a la velocidad de la reacción contraria.

Coenzimas

Este nombre ha sido aplicado a sustancias orgánicas cristaloides, termoestables, unidas a iones inorgánicos, que son necesarias para que

la enzima produzca su efecto. El conjunto tiene acciones fermentativas, pero los constituyentes separados no. Un ejemplo importante fue citado anteriormente y es la cozimasa cuya constitución, según Schelenk y Euler (3) es la siguiente:

Amida ácido nicotínico-Ribosa-O-(P: O)-O(P: O)-ribosa-adenina. Es pues, un nucleótido difosfopiridínico, cuya base está constituida por la amida del ácido nicotínico $C_5H_4N \cdot CONH_2$.

Warburg halló que la coenzima que entra en la oxidación del ácido hexosa monofosfórico en el tejido muscular, era muy semejante a la anterior, y sólo se diferencian porque ésta es un nucleótido trifosfopiridínico.

Quinasas

Son sustancias que convierten la forma de Proenzima del fermento en enzima propiamente dicha. Un ejemplo: La enteroquinasa transforma el tripsinógeno o proenzima, en la tripsina. El mecanismo de la acción no está dilucidado todavía.

Actividades

Hay iones metálicos simples o compuestos que hacen que la acción del fermento aumente rápidamente, así: la fosfatasa obra energicamente en presencia del ion magnesio; la amilasa hace lo mismo en presencia de una solución 0.02 M de cloruro de sodio, o de 0.10 M en donde se encuentre el ion nitrato o de 0.15 M del ion tiocianato.

Acción de los venenos, metales, etc., sobre la acción de los fermentos

En general, se puede decir que los metales disminuyen la acción de los enzimas. Depende también de la cantidad en que se encuentren, y como vimos el Magnesio aumenta la acción de la fosfatasa en concentraciones bajas, pero sucede lo contrario si se encuentra en gran cantidad. Las sales de mercurio, plata y oro son las que tienen más acción antifermentativa y las menos son las de aluminio, cromo, manganeso, cobalto y níquel.

La misma acción tienen, el fluor, las aminas, los aldehidos, los alcalis, alcaloides, ácido pícrico, ácido fosfotúngstico; estos dos últimos precipitantes de las proteínas. Todo depende también de la concentración de estas sustancias, como de la naturaleza del fermento.

Las sustancias oxidantes disminuyen el poder catalítico del enzima: tales, el peróxido de hidrógeno, el permanganato de potasio, el oxígeno en presencia de cobre metálico, el yodo, etc.

Autólisis

Hay algunas enzimas como la catepsina, que tienen la propiedad de destruir las proteínas. Esta destrucción se puede apreciar post-

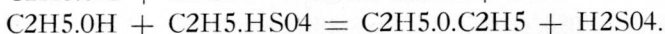
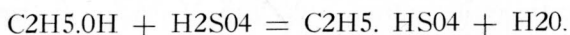
morten en muchos tejidos, como también se puede observar en el tejido vivo y son ejemplos claros la atrofia de la glándula mamaria después de la lactancia, hecho fisiológico, o la atrofia amarilla aguda del hígado; hecho patológico.

Cuando un tejido está en autólisis, los enzimas respiratorios están inactivados, y en cambio los fermentos proteolíticos y los hidrolíticos que atacan los carbohidratos, siguen obrando, a veces redoblando su actividad.

¿Cómo obran los fermentos?

Sabido es que los fermentos obran como si dijéramos, suprimiendo o reduciendo las resistencias que impiden que una reacción iniciada se acelere o que se desencadene, sin que se gaste o desaparezca.

Poniendo un ejemplo químico de la acción de los fermentos lo podemos comparar a las reacciones que se forman si ponemos en determinadas condiciones en contacto el alcohol etílico con el ácido sulfúrico, cuyos resultados finales son: el éter sulfúrico y el agua, pero que han pasado por una etapa intermediaria en que una molécula de alcohol se combina con una de ácido sulfúrico para formar un ester, y luego éste en presencia de más alcohol, pasa a éter, liberándose el ácido sulfúrico inicial, que puede seguir indefinidamente sirviendo para realizar la misma reacción.



El mecanismo de la acción del fermento está pues, en la naturaleza de la combinación fermento-sustrato, que puede ser una combinación química verdadera o por absorción. En favor de la última está que tanto el sustrato como el fermento son sustancias coloidales, pero no es menos cierto que también pueden producirse absorciones por la función de restos de valencias, es decir, por verdaderas funciones químicas. Se puede aceptar que la mayor parte de las veces hay una combinación doble, y así se pueden absorber a fermentos sustancias diversas, sin que aquél sufra variación en su acción; pero esto también indica que lo más probable es que el enzima utilice para su unión con el sustrato, de zonas muy limitadas de su superficie, zonas que deben tener una constitución química precisa, así como la correspondiente del sustrato. Estas respectivas zonas no son bien conocidas, aunque a veces podemos imaginárnoslas con bastante fundamento.

La unión fermento-sustrato nos explica fácilmente la especificidad relativamente grande de los enzimas, así como la posibilidad de disociar y sintetizar combinaciones asimétricas debido a afinidades

especiales, y a la situación que ocupan en el espacio los grupos del fermento y del substrato de los cuales depende la unión. Esa unión explica también el cese de la acción fermentativa que se produce poco a poco, porque como sabemos el complejo enzimático es de naturaleza coloidal y ésta a consecuencia del incesante cambio producido por la combinación del fermento, no deja de ser influida a la larga, provocando su disminución, y variación acarreado luego que la acción diastásica se debilite cada vez más.

Otro factor que influye en el cese de la acción fermentativa se debe a que si bien al principio, el enzimo se combina con el substrato para producir la acción enzimática, se producen una serie de sustancias nuevas que a veces son capaces de combinarse a su vez con el fermento, pero ya en combinación estable que va disminuyendo paulatinamente determinados grupos moleculares, que alteran la constitución del fermento, y que traen como lógica consecuencia la cesación de la reacción.

También hay que tener presente cuando cesa la reacción diastásica y es la presencia del cofermento, pues si éste se altera, la reacción disminuye o cesa, debido esto a que para el fermento obre y se fije al substrato se necesitan siempre ciertos grupos moleculares especiales para cada enzima, que sólo no obran pero que en conjunto sí, y son los que forman el cofermento.

Obtención de los fermentos

Hay algunos que pueden ser aislados fácilmente de la estructura celular por medio de disolventes simples, como el agua, la glicerina, etc., pero hay otros que para ser separados de los tejidos hay que tratarlos primero por procedimientos físicos o químicos. La sustancia así obtenida es muy impura y su poder de acción no se puede apreciar perfectamente pues puede estar acompañada de materias activadoras e inhibidoras. Por esto los diversos investigadores, y entre ellos Wills-tätter y sus discípulos han trabajado con el objeto de obtener los fermentos en forma cristalina, forma que se acepta lógicamente como dotadas de mayor grado de pureza.

Entre los fermentos cristalinos obtenidos hasta la fecha se encuentran la ureasa, la pepsina, la tripsina, la quimiotripsina y la amilasa pancreática, todos como se ven enzimas digestivas. Entre los coenzimas cristalizados se encuentran el tripsinógeno y el quimotripsinógeno.

La purificación de los fermentos por medio de los métodos ideados por los autores arriba mencionados se funda en que los fermentos como son coloides tienen determinada carga eléctrica y por lo tanto pueden fijarse por absorción a otras sustancias coloides cargadas de

electricidad de signo contrario. Luego el fermento se separa del absorbente por medio de disolventes adecuados para cada caso.

Adelante veremos, cuando estudiemos la amilasa en particular el método de obtención de la amilasa cristalizada, método que se funda en lo anteriormente descrito.

Como absorbentes se usan el caolín débilmente ácido y el hidróxido de aluminio, base débil. Para la *elución*, o la separación de la sustancia absorbente del fermento se usan las sales ácidas, o alcalinas débiles.

Especificidad de los fermentos

Se conoce con el nombre de especificidad de los enzimas a la relación que hay entre ellas y la estructura química de las sustancias con las cuales reacciona. El fermento en su acción no se limita a determinadas sustancias sino a los enlaces moleculares y grupos atómicos de los substratos.

La lipasa no obrará sino sobre ciertos esteres; la maltasa no solamente obrará sobre la maltosa sino sobre ciertos alfa-glucósidos; la emulsina hidroliza los betaglucósidos; la pepsina hidroliza muchas proteínas.

Bergmann (3) ha postulado las siguientes condiciones para la acción de la dipeptidasa:

- a) El substrato debe contener un enlace peptídico y un grupo carboxílico y amínico libres.
- b) El grupo carboxílico debe estar unido al átomo de carbono que a su vez está ligado al átomo de nitrógeno peptídico.
- c) El grupo amínico debe estar unido al átomo de carbono vecino al carbonilo peptídico.
- d) Un átomo peptídico de hidrógeno es necesario.
- e) Dos hidrógenos deben de estar colocados en posición alfa y alfa'.

Clasificación de los enzimas o fermentos

Tenemos dos grandes grupos: I) *Hidrolasas*. II) *Desmolasas*.

I) Hidrolasas o fermentos que rompen la ligadura $\dots C-O \dots$

II) Fermentos que rompen la ligadura $\dots C-N \dots$

Entre los primeros tenemos:

- 1) Las esterasas.
- 2) Las carbohidrasas.

Entre las *esterasas* tenemos:

- a) Lipasas: fermentos disolventes de las grasas.
- b) Fosfatasa: fermentos que desdoblan los esteres del ácido fosfórico.

c) Sulfatasas: fermentos que desdoblan los esteres del ácido sulfúrico.

d) Clorofilasa: hidroliza la clorofila en clorofilida y fitol.

e) Colinaesterasa: hidroliza los esteres de la colina y betaína.

Entre las *carbohidrasas* o fermentos carbohidrolíticos tenemos:

a) Hexosidasas: glucosidasas: fermentos que desdoblan los glucósidos y los disacáridos: maltasa, lactasa, sacarasa, emulsina.

b) Poliasa: fermentos que desdoblan los polisacáridos: *Amilasa*.

2) Entre los fermentos que rompen la ligadura ...C-N... tenemos:

a) *Amidasas*: Ureasa; arginasa, asparaginasa, hipurasa, purin-desamidasas, etc.

b) *Proteasas*. Peptidasas (erepsina), dipeptidasas, polipeptidasas, protaminasa. Proteinasa: pepsina, tripsina, catepsina.

II) Entre las *Desmolosas*:

a) Fermentos transportadores de hidrógeno (dehidrasas).

b) Fermentos transportadores de oxígeno (oxidadas). Catalasas, peroxidasa, fermentos respiratorios y fermentos oxidantes amarillos.

c) Carboxilasa.

Amilasa

Entre las carbohidrasas poliasas principales existen las siguientes:

a) La liquenasa, que existe en los extractos de malta, en varias plantas y en el intestino de los caracoles y convierte la liquequina en celobiosa.

b) La celulasa, que se encuentra también en el intestino de los caracoles; en los hongos, mohos, e hidroliza la celulosa.

c) La inulasa del moho que transforma la inulina en fructosa.

d) La *amilasa*, diastasa, que hidroliza el glucógeno y el almidón, pasando por las dextrinas, en maltosa.

La amilasa se encuentra en la saliva y recibe el nombre de ptialina; en el jugo pancreático y se llama amilopsina; en el hígado, en numerosas células y en las plantas.

Kuhn, distingue dos clases de amilasas: la amilasa alfa y la amilasa beta. Esta proviene de las plantas y transforma el almidón en beta maltosa. La primera de origen animal, transforma el almidón en alfa maltosa.

Calentando ligeramente la amilasa de la malta se obtienen dos amilasas distintas: la *sacarogenamilasa* (betamilasa) que sacarifica el almidón, y otra la dextrinogenamilasa (alfaamilasa) que forma dextrinas. El glucógeno sólo es atacado por la alfaamilasa formándose únicamente alfamaltosa.

El pH óptimo de la amilasa animal y vegetal son distintos: para la vegetal es de 5.2 y para los animales oscila entre 6 a 7.

La amilasa salival y pancreática necesitan ser activadas por las sales, pues de lo contrario son inertes, la de la malta no es influida por las sales neutras.

La amilasa detiene su acción cuando ha transformado el 75% de almidón.

Shermann ha cristalizado la amilasa pancreática y ha demostrado que es una proteína.

Obtención de la amilasa pancreática

El páncreas desprovisto de grasa, vasos, etc., es cortado en pedazos pequeños, se deseca con alcohol y éter y el polvo obtenido se trata con glicerina para hacer la extracción. Luego se hace la absorción con albúmina B (hidróxido de aluminio especial) acidificando con ácido acético. Nos quedan entonces dos sustancias: el producto de absorción que está formado por el 90% de lipasa y el 25% de la amilasa y la sustancia restante formado por el 10% de lipasa, el 75% de amilasa y el 100% de tripsina. Seguimos con esta última solución y hacemos otra absorción con albúmina B y volvemos a obtener dos fracciones: la primera es el producto de absorción que contiene la lipasa restante (10%) y la otra es una solución que contiene el 100% de tripsina y del 70 al 80% de amilasa. En esta última practicamos una nueva absorción con caolín a un Ph de 7.0 y obtenemos nuevamente dos fracciones, la una que es el producto de la absorción que luego por la elución nos da la tripsina, y la otra solución que contiene el 75% de la amilasa. El 25% restante está en el producto de absorción primero cuando se acidificó con el ácido acético. Si se sigue trabajando en éste, se obtiene la lipasa.

De las amilasas humanas la que nos interesa por el momento es la pancreática y de las tres diastasas o enzimas la que más ha llamado la atención a los diferentes autores para estudiar los cambios en la secreción externa del páncreas ha sido la amilasa, además de que su dosificación sirve de una gran ayuda en el diagnóstico de las enfermedades que afectan el tejido glandular.

La digestión de los almidones se hace primero por medio de la ptialina, luego en intestino, por la amilasa pancreática y la intestinal, hasta convertirlos en maltosa; el hígado transforma éste en glucosa, deshidrata ésta última y la polimeriza para almacenarla en glucógeno y éste a su vez es transformado en glucosa nuevamente por la amilasa de la misma glándula, la pancreática y en el músculo por la

amilasa de las células para convertirlo en glucosa, e iniciar la primera parte de los fenómenos de la contracción muscular.

Valores normales de la lipasa del suero y de la orina

En el suero sanguíneo Bodansky y Bodansky (4) dan un valor medio que oscila entre 70 y 200 unidades, es decir miligramos de glucosa liberados por 100 cc. de suero.

Anido Fraguío (5) da una media entre 80 y 180 unidades en el suero.

Kolmer (6), entre 70 y 200 grs. por 100 cc. de suero.

Gradwhol (7), entre 80 y 150 mgs. por 100 cc. de suero.

En la orina, según el método de Wohlgemuth oscila entre 3 y 32 unidades.

Según Winslow, entre 8 y 32 unidades (7).

Todos los autores están de acuerdo en afirmar que siempre es mayor la cantidad de amilasa en la orina que en la sangre y que guarda una proporción que oscila entre 2:1 y 6:1.

Semiología de la amilasa

Hay disminución de la diastasa en el suero:

1) En las enfermedades del hígado y de los conductos biliares: En los abscesos múltiples del hígado, en la ictericia catarral, en la obstrucción del colédoco, en las neoformaciones del hígado y de las vías biliares, en las cirrosis, en las hepatomegalias de origen indeterminado siempre hay una tendencia a la disminución de la diastasa, especialmente marcada en casos de tumores malignos y de abscesos. En la colecistitis aguda está mucho más baja que en la crónica.

2) En las infecciones en general, debido a que el hígado obra como un órgano desintoxicante, que puede degenerar casi siempre hay una disminución.

3) En la neumonía.

4) En la diabetes, en donde si ésta es más grave, la diastosa también es menor.

5) En las toxemias del embarazo (vómitos incoercibles, eclampsia, etc.).

6) En la tirotoxicosis, también hay disminución, pero tal vez achacada a la lesión hepática que casi siempre se encuentra en esos casos.

7) En las quemaduras.

8) En las asistolias con edemas.

Hay aumento de la amilasa:

1) En las pancreatitis agudas.

2) En la obstrucción de los conductos salivares. En caso de encontrar más de 1.000 unidades es preciso pensar primero en la pancreatitis aguda, pues aunque con raras excepciones se encuentre un valor bastante elevado en la obstrucción de estos canales, la clínica hará fácilmente el diagnóstico.

3) En la perforación de las úlceras pépticas en, o cerca del páncreas. En este caso el aumento podría explicarse por tres motivos: por coincidencia de una pancreatitis, poco verosímil; por lesiones en la cara posterior del duodeno que provoquen una pancreatitis crónica, cosa que se puede descartar si después del ataque agudo vuelve la amilasa a bajar, y por último porque en el momento de la perforación el jugo pancreático pasara al peritoneo en donde se absorbiera, que es lo más probable (8).

4) Si en la dosificación de la amilasa en el suero se encuentran valores medio entre 200 y 1.000 unidades, hay que hacer también una dosificación en la orina, y si la relación es de 1 o menor, hay que pensar en una deficiente excreción renal de la diastasa.

5) En la gastritis crónica.

6) En cuanto se refiere al páncreas, además de las pancreatitis agudas es necesario saber que también hay aumento, en los quistes, neoplasmas, necrosis agudas de la glándula.

En presencia de una persona con un síndrome agudo abdominal *localizado en el hipocondrio izquierdo y en el epigastrio, en donde habría que pensar, en apendicitis o en afección coronariana aguda*, si es que la clínica no hace el diagnóstico, una determinación rápida de la amilasa descartará una posible lesión del páncreas.

7) En las paperas, casi siempre se encuentra un aumento, debido quizá a que como sabemos una complicación que se presenta con mucha frecuencia en esta enfermedad, es la pancreatitis. Sirve en este caso, pues, para hacer el diagnóstico de la complicación.

Dosificación de la amilasa en la orina y en la sangre

Es preciso tener presente, que siempre, aunque con raras excepciones, cuando hay un aumento de amilasa en el suero, también aumenta en la orina.

La amilasa en la sangre sufre variaciones escasas, pero con oscilaciones que alcanzan su máximo entre las 14 y las 22 horas, y su mínimo a las diez. Las variaciones de la amilasa urinaria son más importantes, observándose las mayores entre las 14 y las 18 horas y las mínimas a las 7 horas. También son notables las variaciones entre uno y otro día (9).

Aunque existe siempre relación entre la amilasa en la sangre y en la orina, es más conveniente siempre determinar la diastasa en el suero, en donde el fermento tiene más estabilidad (10).

Amilasa en la orina: Técnica de Winslow

Reactivos necesarios: 1) Solución de cloruro de sodio químicamente puro al 1% en agua destilada. Para su preparación, se pesa en una balanza de precisión 1 gramo de la sustancia, se echa en un balón aforado a 100 cc. que contiene un poco de agua destilada, se agita para disolver y luego se completa a 100 con agua.

2) Solución al 0.1% de almidón soluble. Pesar la cantidad citada y agregarla a un balón aforado a 100 cc. que contiene unos 60 cc. de agua destilada bien caliente, agitar, disolver así y luego completar 100 c.c.

3) Solución de Lugol. Para prepararla; en un balón aforado a 100 cc. se colocan unos 80 cc. de agua destilada y se agregan 10 gramos de yoduro de potasio, agitar para disolver y luego agregar poco a poco y agitando 5 grms. de yodo metálico. Completar a 100 cc. (11).

Técnica

Colocar 10 tubos en una raqueta y agregar a cada uno 1 c.c. de la solución de cloruro de sodio al 1%. Agregar luego al primer tubo 1 cc. de orina, mezclar, sacar 1 cc. e introducirlo en el segundo tubo, y así sucesivamente hasta el noveno tubo, en donde se saca 1 cc. y se bota. El tubo 10 es testigo. A todos los tubos agregar 2 cc. de la solución de almidón al 0.1%. Agitar. Colocar ya sea en la estufa o al baño maría durante media hora a 37 grados. Luego agregar 1 gota de Lugol a cada tubo. Mezclar. Observar cuál es la dilución mayor que no toma color azul y multiplicar por 2 la dilución para saber las unidades de diastasa que hay en la orina.

Las diluciones serán las siguientes:

Primer tubo, al $\frac{1}{2}$.

Segundo tubo, al $\frac{1}{4}$.

Tercer tubo, al $\frac{1}{8}$.

Cuarto tubo, al $\frac{1}{16}$.

Quinto tubo, al $\frac{1}{32}$.

Sexto tubo, al $\frac{1}{64}$.

Séptimo tubo, al $\frac{1}{128}$.

Octavo tubo, al $\frac{1}{256}$.

Noveno tubo, al $\frac{1}{512}$.

La dilución mayor que no toma color es el tercer tubo, el resultado será igual a $8 \times 2 = 16$ unidades.

Técnica de la amilasa en la sangre

En ésta se puede encontrar la diastasa en el plasma, en el suero, en la sangre total, y *en los glóbulos rojos*. Los valores en los dos primeros son sensiblemente iguales, en la sangre total, son muy bajos y *en los glóbulos rojos no hay diastasa*.

Practicamos en el suero 15 determinaciones con la técnica que vimos para la orina, con los resultados que adelante se expresarán, y en donde el centímetro cúbico de orina se reemplazaba con 1 cc. de suero. Esta técnica tiene valor clínico, pero el resto resolvimos hacerlo, para obtener datos más precisos por medio de la siguiente técnica.

Fundamento: Al incubar 100 cc. de suero humano normal con 5 cc. de una solución de almidón al 1.5% durante 30 minutos a 37 grados, las sustancias reductoras que se producen equivalen a 120 mgs. de glucosa. La amilasa del suero transforma el almidón, y esta transformación es medida por la diferencia de sustancias reductoras que hay entre las que contienen primitivamente el suero y las que tiene después de incubarlo.

Técnica

Reactivos necesarios:

1) Suspensión al 1.5% de almidón.

Preparación: Agregar en un balón aforado a 100 cc. el peso conveniente de almidón (1.5 gms.), que contenga unos 80 cc. de agua destilada bien caliente, agitar y completar a 100 cc.

2) Solución de cloruro de sodio al 1%.

Preparación: disolver 1 gm. de cloruro de sodio Q. P. en agua destilada para completar 100 cc.

3) Solución de sulfato de cobre al 5%.

Preparación: Disolver 5 grms. de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada para completar 100 cc. Calentar.

4) Solución al 7% de tungstato de sodio.

Preparación: Disolver los 7 grms. de la sustancia en agua destilada para completar 100 cc.

Si se va a usar sangre total, es preciso usar entonces una solución al 7% de sulfato de cobre y al 10% de tungstato de sodio.

5) Solución standard de glucosa (2 cc. = 0.2 mg. de glucosa).

Preparación: Disolver 10 mgs. de glucosa de la más alta calidad, anhidra en unos 50 cc. de solución saturada de ácido pícrico en un balón aforado a 100 cc. Agitar para disolver y completar con la solución saturada de ácido pícrico a 100 cc.

6) Acido pícrico seco. Q. P. Especial para sangre. (Baker).

7) Solución saturada de ácido pícrico en agua.

Preparación: Disolver 1.22 gms. de ácido pícrico en 100 cc. de agua destilada, calentar y filtrar cuando está disuelto.

8) Solución saturada de carbonato de sodio.

Preparación: Disolver 220 gms. de carbonato de sodio Q. P. anhidro en 1.000 cc. de agua destilada, calentar y filtrar en frío.

Entramos en la dosificación propiamente dicha:

1) Tomamos dos tubos de ensayo a los que hemos agregado 5 cc. de la solución de almidón al 1.5%, más 2 cc. de la solución de cloruro de sodio al 1% y 1 cc. de suero o plasma. (Siempre en nuestras determinaciones usamos el suero).

2) Rotúlense los tubos así: el uno "P" patrón, y el otro "S" sangre.

3) El tubo "S" sangre, se lleva inmediatamente a la estufa a 37 grados, exactamente por 30 minutos.

4) Al tubo "P" patrón se le agrega 1 cc. de la solución de sulfato de cobre al 5%. Se agita. Se agrega 1 cc. de la solución de tungstato de sodio al 7%. Se agita, se centrifuga y se filtra. El filtrado debe ser claro y transparente.

5) Se saca el tubo "S" de la estufa una vez pasados los treinta minutos, se le agrega 1 cc. de la solución de sulfato de cobre al 5%, se agita y se añade 1 cc. de la solución al 7% de tungstato de sodio, se agita, se centrifuga por 5 minutos y se filtra. El filtrado debe de ser completamente claro.

6) Agregar a ambos tubos, tanto al "S" como al "P" unos 5 centigramos de ácido pícrico en polvo especial para sangre, agita para disolver los cristales, dejar en reposo por 10 minutos y agitando de vez en cuando.

7) Centrifugar por 5 minutos a alta velocidad y filtrar si es necesario. Tomar nuevamente dos tubos y marcarlos, el uno con la marca "S" y el otro con la "P". Al tubo "S" se le colocan dos cc. del centrifugado o del filtrado correspondiente al tubo "S" inicial y en el tubo "P" se colocan también dos centímetros cúbicos del centrifugado o filtrado correspondiente al tubo "P" inicial.

8) En otro tubo marcado con "G" se colocan dos centímetros del patrón de glucosa.

9) Al tubo "S", al tubo "P", y al tubo "G" les agregamos a cada uno 1 cc. de la solución saturada de carbonato de sodio y los llevamos al baño maría hirviendo por 20 minutos. Dejar enfriar.

10) Comparar al colorímetro, colocando el standar "G" de glucosa en 5 y comparando los resultados primero con el tubo "S" y luego con el "P".

Cálculo:

$$1) - \frac{\text{Altura del patrón G}}{\text{Altura de la sangre S}} \times \frac{\text{Dilución de la sangre}}{\text{Dilución del patrón}} \times 100 = \text{mgms}^{\circ}/\circ$$

$$2) - \frac{\text{Altura del patrón G}}{\text{Altura de la sangre P}} \times \frac{\text{Dilución de la sangre}}{\text{Dilución del patrón}} \times 100 = \text{mgs } ^{\circ}/\circ$$

La sangre y el patrón están diluidas al 1/10.

Los miligramos de la primera lectura, menos los miligramos de la segunda, nos dan los mgs. o unidades de amilasa por 100 cc. de suero.

Ejemplo: Altura del patrón "G" de glucosa en 5; Altura de la sangre "S" = 3. Altura de la sangre "P" = 5.8.

$$S = \frac{5}{3} \times \frac{10}{10} \times 100 = 166$$

$$P = \frac{5}{5.8} \times \frac{10}{10} \times 100 = 86$$

$$166 - 86 = 80$$

Esto significa que en ese suero hay una cantidad de amilasa igual a 80 miligramos por 100 cc. de sangre.

Cuando se van a leer los resultados en el colorímetro, tanto el tubo "S" como el tubo "P" hacen el papel de desconocidos pues el otro está formado por el patrón "G" de glucosa.

En los resultados que van a continuación nos abstenemos de poner las restas y sólo anotamos el dato final, es decir, directamente la cantidad de amilasa por 100 cc. de suero sanguíneo.

En los primeros 15 individuos la dosificación de la amilasa en la orina y en la sangre fue hecha por el procedimiento de Winslow; en los restantes, la técnica seguida fue la de Winslow y la de la sangre, la de Somogyi-Benedict.

Nº de orden	Amilasa urinaria unidades	Amilasa sanguínea unidades
1	32	8
2	32	8
3	32	4
4	8	4
5	64	8
6	32	4
7	16	4
8	16	8

Nº de orden	Amilasa urinaria unidades	Amilasa sanguínea unidades
9	32	8
10	32	8
11	32	16
12	32	16
13	32	16
14	32	16
15	32	8
miligramos %		
16	32	142
17	32	183
18	16	140
19	16	180
20	16	170
21	16	147
22	64	84
23	32	41
24	32	100
25	16	56
26	16	125
27	16	79
28	8	65
29	32	70
30	32	260
31	32	145
32	16	226
33	16	226
34	16	40
35	32	110
36	32	52
37	32	156
38	16	48
39	16	53
40	16	47
41	32	116
42	16	82
43	32	103
44	16	80
45	32	210

Nº de orden	Amilasa urinaria unidades	Amilasa sanguínea miligramos %
46	16	111
47	16	100
48	32	190
49	16	130
50	16	120
51	8	90
52	8	107
53	32	65
54	16	68
55	64	207
56	16	52
57	8	40
58	16	60
59	8	70
60	8	90
61	16	87
62	16	78
63	8	88
64	16	60
65	32	77
66	8	123
67	16	89
68	8	89
69	8	119
70	8	142

Por los datos anteriores podemos decir lo siguiente:

Los datos encontrados por nosotros son en todo semejantes a los extranjeros.

En el mayor número de casos hay una relación entre la amilasa sanguínea y urinaria; mientras más alta es la primera, se encuentra mayor eliminación por la orina. Se encuentran también excepciones.

El dato más bajo en la amilasa urinaria fue de 8 unidades.

El dato más elevado en la amilasa urinaria fue de 64 unidades.

La amilasa sanguínea más baja en unidades, fue de 4.

La amilasa sanguínea más alta en unidades, fue de 16.

La amilasa sanguínea más baja en miligramos fue de 40%.

La amilasa sanguínea más alta en miligramos fue de 260 mgs. %.

La media de amilasa sanguínea en miligramos fue de 110%.

En la orina encontramos 26 casos de 32 unidades; 28 de 16 unidades; 13 de 8 unidades y 3 de 64 unidades.

En la sangre en los 15 casos que practicamos por el método de Winslow encontramos 7 casos de 8 unidades; 3 de 4 unidades y 5 de 16 unidades.

En miligramos, los datos oscilan entre 40 miligramos % y 260 miligramos %, pero los que pasan de 200 miligramos, son muy pocos.

El aumento de la amilasa en la sangre en casos patológicos se explica ya sea por el camino retrógrado que coge la enzima por la linfa o la sangre, como por la liberación del fermento provocada por la destrucción del tejido glandular.

CONCLUSIONES

I) La amilasa urinaria entre nosotros tiene los mismos valores medios que la de los extranjeros.

II) La amilasa sanguínea tiene entre nosotros unos valores medios iguales a los extranjeros.

III) La media de amilasa sanguínea es de 110 miligramos % de suero.

IV) La media de amilasa urinaria está comprendida entre 16 y 32 unidades por ciento.

V) La dosificación de la amilasa sanguínea tiene un valor diagnóstico muy grande, al mismo tiempo que diferencial, en casos de síndromes abdominales agudos, para diferenciar una pancreatitis aguda, de una perforación de la vesícula biliar, de una perforación de un úlcus gastroduodenal, de una apendicitis aguda; y de síndromes torácicos, como un infarto coronario.

VI) Después de pasado el ataque agudo, la dosificación no tiene valor, pues desciende rápidamente.

VII) En todo caso de paperas en que se encuentre un aumento de la amilasa sanguínea, se puede pensar en una pancreatitis, complicación de las paperas.

VIII) Queda establecido entre nosotros el promedio de esta diastasa, con el fin de proseguir en las investigaciones de los casos patológicos.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Lehnartz Emilio.—Fisiología Química. Cap. Los fermentos y su acción. Págs. 255 y siguientes. Editor: Manuel María. Barcelona, 1946.
- (2) Profesor A. T. Camerón.—Manual de Bioquímica. Cap. Las enzimas. Págs. 42 y siguientes. Editor: Manuel Marín. Barcelona. 1944.
- (3) Meyer Bodansky.—Introduction to Physiological Chemistry. Cap. VI. Chemistry of Enzymes. Págs. 126 y siguientes. Editor: John Wiley and Sons. London, 1938.
- (4) Meyer Bodansky and Oscar Bodansky.—Biochemistry of Disease. Pág. 376, serum amylase. Editor: The Macmillan Company. New York, 1944.
- (5) Vicente Anido Fraguío.—Laboratorio Clínico. Técnicas e Interpretaciones. Tomo I. Pág. 181. Amilasa sanguínea. Editor: Cultural S. A. La Habana, 1943.
- (6) John A. Kolmer.—Diagnóstico clínico por los análisis de Laboratorio. Pág. 158. Interpretación clínica de las variaciones de Lipasa y de amilasa sanguíneas. Editor: Editorial Interamericana S. A., México, 1945.
- (7) Fisher Alfredo.—Laboratorio. (Análisis clínicos). Pág. 45. Amilasa. Biblioteca de Semiología (Padilla y Cossio). Editor: Librería y Editorial "El Ateneo". Buenos Aires, 1942.
- (8) Proceedings of the Royal Society of Medicine. "El valor de la diastasa urinaria en el abdomen agudo. Referatas de la Revista Clínica Española. Tomo VII, Número 15, octubre de 1942. Pág. 92. Editorial Científico Médica. Madrid.
- (9) "El comportamiento de la amilasa plasmática y urinaria en el curso del día". A. Guzzi y G. Scoz. De la Revista Clínica Española. Tomo X. Pág. 357. Editorial Científico Médica. Madrid. Vol. X. Número 5. 15 de septiembre de 1943.
- (10) "Determinación de la diastasa en la sangre y en la orina" P. Faergeman y G. Rasch. De la Revista Clínica Española. Tomo XIX. Número 4. 30 de noviembre de 1945. Pág. 301. Editorial Científico Médica. Madrid.
- (11) Marjorie R. Mattice. Chemical procedures for clinical Laboratories. Reactivos. Pág. 453. Editorial. Lea And Febiger. Philadelphia, 1936.
- (12) R. B. H. Gradwol. Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. Pág. 285. Blood Amylase test and its interpretation, Vol. I. Editor: The C. V. Mosby Company. St. Louis, 1943.

El suscrito Bacteriólogo y Laboratorista Clínico, hace constar que: Las determinaciones de la Amilasa en la sangre y en la orina, del trabajo titulado *La amilasa sanguínea y urinaria* fueron verificadas en mi Laboratorio por el doctor Jesús María Barragán C.

MIGUEL BARRAGAN R.

*

El suscrito Médico Director del Centro Epidemiológico de Tuberculosos número 1, hace constar, que las orinas y sangres que figuran en el trabajo *La amilasa sanguínea y urinaria* del doctor Jesús María Barragán C., fueron tomadas del personal que asiste a este centro con el fin de hacerse un examen radiológico pulmonar.

ANTONIO ACOSTA PINZON