

VALOR DE LA DETERMINACION DE LAS ACTIVIDADES
SERICAS DE GLUCOSA FOSFATO ISOMERASA Y
GLUTATION REDUCTASA EN PATOLOGIA HEPATO-BILIAR.

Universitat Autònoma de Barcelona
Servei de Biblioteques



1500608534

J. Tor. Aguilera

VALOR DE LA DETERMINACION DE LAS ACTIVIDADES SERICAS DE GLUCOSA FOS-
FATO ISOMERASA Y GLUTATION REDUCTASA EN PATOLOGIA HEPATO-BILIAR.

JORGE TOR AGUILERA
Tesis Doctoral
Barcelona, 1980



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA
FACULTAD DE MEDICINA
CIUDAD SANITARIA DE LA SEGURIDAD SOCIAL
DEPARTAMENTO Y ESCUELA PROFESIONAL
"A. PEDRO PONS" DE MEDICINA INTERNA.
(Director Prof. J. Tornos Solano).



Universidad Autónoma de Barcelona

FACULTAD DE MEDICINA

UNIDAD DOCENTE DE LA SEGURIDAD SOCIAL
CIUDAD SANITARIA "FRANCISCO FRANCO"

D. Jaime Guardia Massó, Profesor Agregado de Patología y Clínica Médica de la Universidad Autónoma de Barcelona,

C E R T I F I C A:

Que ha dirigido durante los cursos 1978-1979 y 1979-1980 la realización del trabajo " VALOR DE LA DETERMINACION DE LAS ACTIVIDADES SERICAS DE GLUCOSA FOSFATO ISOMERASA Y GLUTATION REDUCTASA EN PATOLOGIA HEPATO-BILIAR", Tesis Doctoral de la que es autor D. Jorge Tor Aguilera, y que será presentada ante el Tribunal correspondiente para la obtención del grado universitario de Doctor en Medicina y Cirugía.

Barcelona, Mayo de mil novecientos ochenta.

AGRADECIMIENTO

Al Prof. Dr. Jaime Guardia Massó, Director de esta Tesis doctoral, que gracias a sus consejos, orientación y dedicación, ha hecho posible la realización de este trabajo.

A los Profs. Drs. R. Bacardí Noguera y J. Tornos Solano, Jefe de Servicio y Jefe del Departamento de Medicina Interna respectivamente, por su constante estímulo.

A la Dra. R.M. Segura y al Dr. C. Pascual, del Servicio de Bioquímica, por su ayuda y colaboración desinteresada, sin las cuales no se hubiera realizado esta Tesis.

A los Drs. R. Carbó y J. Vaqué, del Servicio de Bioestadística de la Universidad Autónoma y de la Ciudad Sanitaria de la Seguridad Social de Barcelona, respectivamente, por su colaboración técnica en el estudio estadístico.

A todo el personal que ha colaborado directa o indirectamente en la realización de este trabajo.

A M.F., por la
paciencia demostrada.

"¿y todo eso es verdad? -preguntó- ¿nada de
esa historia es inventado?
no -dijo Judith- todo ha ocurrido"

Peter Handke.

I N D I C E

INTRODUCCION	7
GLUCOSA FOSFATO ISOMERASA	11
Localización y función	11
Estructura molecular	13
Propiedades catalíticas	16
Valores normales	18
Enfermedades hematológicas	23
Noeplasias epiteliales	26
Infarto de miocardio	38
Hepatopatias	39
Otras enfermedades	40
GLUTATION REDUCTASA	42
Localización y función	42
Estructura molecular	43
Propiedades catalíticas	48
Valores normales	50
Hemopatias	53
Noeplasias epiteliales	55
Enfermedades hepáticas	58
Otras enfermedades	60
PROPOSITO DE LA TESIS	63
METODOS	64
Determinación Glucosa fosfato isomerasa	65
Determinación Glutation reductasa	68
Estudio estadístico	93
PACIENTES	78
RESULTADOS	94
Valores normales	94
Enfermedades hepáticas	99
Enfermedades vías biliares y páncreas	144

Neoplasias sin afectación hepática	174
Neoplasias con metástasis hepáticas	175
Enfermedades infecciosas	189
Miscelanea	203
DISCUSION	205
RESUMEN	219
CONCLUSIONES	226
BIBLIOGRAFIA	228

INTRODUCCION

La glucosa fosfato isomerasa o fosfoexosa isomerasa (EC 5.3.1.9) y la glutation reductasa (EC 1.6.4.2.) son dos enzimas citoplasmáticas relacionadas con el metabolismo de la glucosa y del glutation-respectivamente, distribuidas ampliamente por los tejidos de los mamíferos y por tanto no órgano-específico como la mayoría de enzimas glicolíticas y oxidativas.

Tras la descripción inicial de la glucosa fosfato isomerasa --- (GPI) por LOHMANN en 1933 (1) en extractos dializados de músculo estriado de sapo y en extractos acuosos de corazón, hígado y cerebro, demostrada también en extractos vegetales por SOMERS y COSBY en 1945 (2), se conoce su acción catalizadora en la interconversión de la -- glucosa-6-fosfato en fructosa-6-fosfato, encontrándose actividades - elevadas de la misma en hígado, músculo esquelético, corazón, hueso, cerebro y pulmón.

WARBURG y CHRISTIAN en 1943 (3) comunican la presencia de niveles elevados de enzimas glicolíticas en el suero de ratas portadoras de distintas neoplasias, estudios estimulados por la observación pre via de WARBURG (4), posteriormente puesta en duda (5), de que el tejido neoplásico poseía una actividad glicolítica superior al tejido normal. A partir de estos trabajos, se suceden distintos estudios so bre el comportamiento de las enzimas glicolíticas, y entre ellas la GPI, en neoplasias y diversos procesos clínicos en enfermos (6,7,8, 9,10,11,12) y en animales de experimentación (13,14). No obstante, hasta la puesta a punto por BODANSKY (15) de un método preciso para la determinación de la actividad GPI en suero y en distintos tejidos, no se reconoce la presencia de actividades elevadas de dicha enzima en algunos procesos neoplásicos, en especial carcinomas metastásicos de mama (6) y prostata (7). Paralelamente BRUNS y JABOB en 1954 (16)

y BING y cols. en 1957 (17) establecieron distintas tasas de actividad de la enzima en situaciones clínicas variadas, principalmente en neoplasias metastásicas, infarto de miocardio y hepatopatías, definiendo en este último caso comportamientos distintos según el tipo de lesión hepática fuera crónica, aguda o afectación por un tumor, observándose valores de actividad elevadas en las dos últimas y prácticamente normales en casos de cirrosis hepática e ictericia obstructiva. A pesar de estas comunicaciones y de haberse propuesto de forma aislada (18) la utilización de los distintos valores de actividad GPI sérica en el diagnóstico diferencial de las ictericias, durante la década de los sesenta, el interés por la enzima se centró fundamentalmente sobre su valor como índice de control de evolución y tratamiento de distintas neoplasias, observándose valores y actividad sérica más elevados en los casos de neoplasias diseminadas y en especial en las que existían metástasis hepáticas (19,20,21,22,23,24,25, 26).

También se ha insistido en el papel que puede jugar el déficit eritrocitario de la enzima en algunas anemias hemolíticas congénitas no esferocíticas, especialmente desde los trabajos de BAUGHAN y cols, en 1967 (27) confirmado por otros autores posteriormente (28,28) y conociéndose en la actualidad múltiples variantes y déficits parciales de la enzima en el hematíe (30,31,32,33,34,35,36).

En los últimos diez años, los estudios sobre la glucosa fosfato isomerasa, aparte de los mencionados en relación al déficit congénito de la misma en algunas anemias hemolíticas, se centran en determinar su valor en el diagnóstico y control evolutivo de neoplasias (37,38,39,40) y en especial en la comparación de la misma con otras enzimas estudiadas más recientemente como la gamma-glutamyl-transpeptidasa y ciertos marcadores antigénicos de valor comprobado en neoplasias de distinto origen como el antígeno carcino embrionario (CEA), haciendo especial énfasis en la presencia o no de metástasis hepáticas (41,42,43,44). La mayoría de estos trabajos se basan en un nuevo método de laboratorio para la determinación sérica de la actividad de la enzima descrito por SCHWARTZ y cols en 1971 (45).

Por otra parte, se han observado también tasas de actividad elevadas en algunas miopatías como la distrofia muscular progresiva y la dermatomiositis (46,47) así como en anemias megaloblásticas (48). Se citan asimismo, valores de actividad contradictorios según los distintos autores, en pacientes afectados de psoriasis (49,50) y en el flujo vaginal de mujeres con desórdenes ginecológicos (51,52).

En nuestro medio, varios autores han contribuido al estudio -- del comportamiento de esta enzima en diversos procesos, tanto en anemias hemolíticas por déficit eritrocitario de la misma (53) como en neoplasias de próstata (54), neoplasias con metástasis pulmonares o hepáticas (55) y neoplasias de distinta localización y extensión -- (56,57). También en el líquido cefalorraquídeo de enfermos pediátricos con enfermedades craneoencefálicas se han descrito valores de actividad GPI elevados (58).

La glutatión reductasa (GR) es una enzima NADP dependiente distribuida ampliamente por los tejidos de los mamíferos y que cataliza la conversión del glutatión oxidado (γ -L-glutamil-L-cisteilglicina) a la forma reducida.

HOPKINS y ELLIOTT en 1931 (59) demostraron en el hígado de distintos animales, la presencia de un sistema enzimático capaz de reducir el glutatión oxidado. Posteriormente se observó la misma capacidad en preparaciones de tejido hepático de buey, carnero y conejo (60) y en preparados de eritrocitos (61). Finalmente, en 1952, RALL y LEHNINGER (62) utilizando preparaciones de hígado de cerdo, demostraron la reducción del glutatión oxidado por la glutatión reductasa en presencia de NADPH como coenzima, describiéndose también la existencia de ésta actividad enzimática tanto en otros tejidos de mamíferos y en levaduras (63,64) como en tejidos vegetales (65), y conociéndose perfectamente las propiedades cinéticas, físicas y mecanismos de acción de la GR tras los trabajos de MIZE y cols. en 1962 (66,67).

En 1958, MANSO y WROBLEWSKI (68) en un estudio efectuado en sue

ro y distintos tejidos animales y humano, demostraron la presencia de actividades GR elevadas en el suero de pacientes con carcinomas - diversos y hepatitis, en especial viricas, con valores poco elevados o normales en otras enfermedades, incluidas la cirrosis hepática e ictericias obstructivas. De un modo parecido KERPPOLA y cols. en 1959 (69) en un numeroso grupo de pacientes con patología distinta, destacan la presencia en el suero de valores elevados de actividad de la enzima en situaciones clinicas similares, con valores normales - en los casos de neoplasias no epiteliales, enfermedades cardiopulmonares, infecciosas, digestivas, renales y neurológicas.

Se conoce también desde los trabajos de CARSON y cols. (70) la presencia de valores de actividad GR eritrocitaria inferiores a los normales, en pacientes con anemia hemolítica congénita no esferocítica, confirmado posteriormente por otros autores (71,72,73,74,75) y relacionado en ocasiones con la ingesta de algunos fármacos (76,77).

A partir de estos estudios, el interés por el comportamiento de los enzimas oxidativos, y entre ellos la glution reductasa, se centra en su posible valor diagnóstico y evolutivo en ciertas anemias-hemolíticas y algunas neoplasias (19,21,22,23,25,78,79) sin encontrarse en la literatura otros trabajos en relación al valor de la -determinacion de la actividad de esta enzima en hepatopatias. Por otro lado, al conocerse que el grupo prostético de la GR es el metabolito de la riboflavina, el FAD (flavin adenine dinucleotide), y - que la actividad de la glutation reductasa eritrocitaria es los individuos normales depende en gran parte de la concentración de FAD en los eritrocitos (74), el grado de activación de la GR eritrocitaria por FAD exógeno se ha utilizado como test para evaluar los déficits de riboflavina (73,74,80,81,82).

Actividades elevadas de la enzima han sido descritas ocasionalmente en pacientes con anemia megaloblastica y de células falciformes (78) asi como en el infarto agudo de miocardio (78,83) en los eritrocitos de pacientes con déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (84), en pacientes con sarcoidosis pulmonar (69'78) con fibrosis quística (85) y en diabéticos (86).

CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS, LOCALIZACION, FUNCION Y UTILIDAD DE LAS ENZIMAS ESTUDIADAS.

GLUCOSA FOSFATO ISOMERASA. (GPI, D-glucosa-6-fosfato cetoliso-
merasa, EC: 5.3.1.9).

Esta enzima se halla incluida en el grupo de las aldosa cetosa isomerasas, que catalizan la interconversión de los azúcares isoméricos aldo y ceto mediante la migración de un enlace carbono-hidrógeno entre los carbonos 1 y 2. Estas enzimas pueden clasificarse en dos grupos de acuerdo con su acción sobre monosacáridos libres o fosforilados. Las que actúan sobre los azúcares libres están presentes principalmente en los microorganismos, mientras algunas de las que actúan sobre substratos fosforilados son comunes a todos los organismos vivos y entre ellas se encuentra la GPI (87).

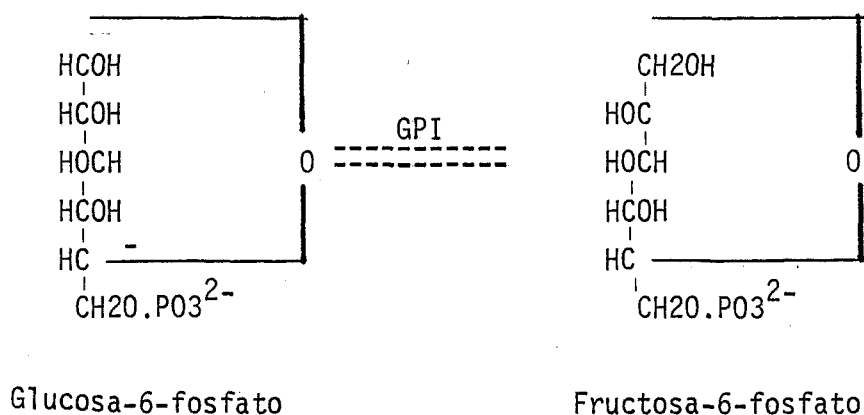
LOCALIZACION Y FUNCION

La glucosa fosfato isomerasa es una enzima omnipresente en la naturaleza, habiéndose aislado en forma cristalina del músculo esquelético de conejo (88), buey (89) y cerdo (90), de guisantes -- (91) y de levaduras del pan (92) y cerveza (93), existiendo además numerosas comunicaciones describiendo varios grados de purificación de la GPI de distintos orígenes, incluida la humana, como queda representado en la Tabla I.

Es ésta una enzima principalmente citoplasmática como todas las glicolíticas, que cataliza la interconversión entre la d-glucosa-6-fosfato y d-fructosa-6-fosfato.

TABLA I - Glucosa fosfato isomerasa. Distintos orígenes en que ha sido estudiada.

ORIGEN	Año	Ref.	ORIGEN	Año	Ref.
Schistosoma mansoni	1955	94	Musculo esqueletico buey	1964	89
Riñón de rata	1957	95	Escherichia Coli	1964	105
Eritrocitos humanos	1958	96	Leche bovina	1964	106
Aspergillus Niger	1959	97	Levadura de cerveza	1965	93
Hígado humano y de perro	1959	98	Aerobacter aerogenes	1965	107
Levadura del pan	1960	99	Guisantes	1967	91
Glándula mamaria bovina	1960	92	Musculo de carpa	1968	108
Abeja melífera española	1960	100	Especias Entamoeba	1968	109
Mycobacterium tuberculosis	1961	101	Abeja melífera india	1968	110
Bacalao	1961	102	Musculo esqueletico humano	1969	111
Mucosa intestinal bovina	1963	103	Especies Trypanosoma	1969	112
Musculo esquelético conejo	1964	104	Abeja melífera americana	1969	113
		88	Cerdo	1970	90



ESTRUCTURA MOLECULAR

La mayoría de datos disponibles provienen del estudio de la en zima cristalizada de músculo esquelético de conejo (114), glándula-mamaria bovina (115) músculo esquelético humano (111) y de guisante (91).

a. PESO MOLECULAR.

La GPI humana, a partir de los estudios efectuados en músculo esquelético utilizando la técnica de la composición de aminoácidos (111), tiene un peso molecular de 134000 daltons similar al establecido en 132000 d. en el músculo estriado de conejo (114). Pesos moleculares de 110000 y 125000 daltons se han establecido para la enzima estudiada en el guisante (91) y en glándula mamaria bovina --- (115) respectivamente. La Tabla II ilustra algunos de los parámetros conocidos y la técnica empleada tras el estudio en los extractos ci tados.

b. COMPOSICION EN AMINOACIDOS.

La composición en aminoácidos conocida de las enzimas estudiadas por cromatografía en el músculo estriado humano (111) y tras re petidas cristalizaciones en músculo de conejo (114) es muy similar, a excepción de la arginina, como queda expresado en la Tabla III, aunque los valores referidos al músculo humano han sido recalculados (87) debido a los errores que contenía la lista original en cuanto a los valores de triptófano y número total de residuos.

TABLA II- Parámetros físicos de la glucosa fosfato isomerasa de varias procedencias .

PARAMETRO	PROCEDENCIA DE LA ENZIMA		
	Músculo conejo	Músculo humano	Glándula mamaria bovina
S^{20}_w	7.19 S	6.1.5	7.09S
PM (daltons)	132.000	134.000	125.000
V utilizado	0.740ml gr^{-1}	0.734 ml gr^{-1}	0.75 ml gr^{-1}
Método	picnometria	composicion aminoácidos	picnometria
(A 280nm) 1 cm	1.32	1.2	0.83
Referencia	114	111	115
			91

TABLA III

Comparación entre los análisis de aminoácidos de la glucosa fosfato isomerasa en músculo esquelético humano y de conejo.

Residuo aminoácido	GPI (número de residuos por subunidad)	
	Tras cristalización de músculo esquelético de conejo.	Tras cromatografía de músculo esquelético humano
Acido aspartico	57.9	58.9
Treonina	38.7	39.6
Serina	33.2	32.9
Ac. Glutámico	63.4	67.3
Prolina	24.9	22.8
Glicina	44.0	44.5
Alanina	42.4	42.5
Valina	30.5	30.8
Metionina	14.3	13.3
Isolencina	31.2	27.7
Leucina	57.5	55.8
Tyrosina	12.2	13.3
Fenilalanina	30.3	29.8
Lisina	41.2	39.1
Histidina	23.6	21.8
Arginina	21.2	32.3
Referencia	114	111

c. SUBESTRUCTURA. ISOENZIMAS Y OTRAS ESPECIES ELECTROFORETICAS DE LA ENZIMA.

La GPI es un dímero formado por dos subunidades idénticas como demuestran los estudios del peso molecular tras la disociación de la enzima con diversos agentes (111,115).

Tras estudios cromatográficos sistemáticos se han descrito tres isoenzimas en las preparaciones a partir de GPI de levadura de cerveza así como en las preparaciones comerciales de la enzima cristalizada de la levadura de pan (116), por otra parte, trabajos efectuados sobre la GPI humana mediante electroforesis en gel de almidón, medición, de la afinidad de substrato y termoinactivación, no demuestran evidencia alguna de que existan isoenzimas tisulares específicos -- (117). No obstante, se han detectado múltiples formas o especies -- electroforéticas de la enzima en suero humano (118), tejido de ratón (119) y en algunos peces (108). Muchos eritrocitos humanos muestran únicamente una banda de actividad electroforática en gel de almidón pero se han descrito variantes genéticas de la enzima con tres isoenzimas (120,121).

PROPIEDADES CATALITICAS

a. DETERMINACION.

La reacción de interconversión entre la glucosa-6-fosfato y la fructuosa-6-fosfato, transcurre en ambas direcciones y el equilibrio es en un 60-70% hacia la izquierda (1,122). A pesar del equilibrio desfavorable, muchos métodos para la determinación de la enzima en suero utilizan glucosa-6-fosfato como substrato (15,88,123) evaluando colorimetricamente la fructuosa-6-fosfato formada por medio del reactivo resorcinol-tiourea (124), utilizado originariamente para la determinación de la fructosa. No obstante se han encontrado algunas dificultades para la utilización del método debido a que la fructosa-6-fosfato es menos cromogénica que la fructosa (125,126) y el método requiere largas incubaciones a temperaturas relativamente elevadas.

das, siendo por otro lado, limitado en sensibilidad y exactitud - (127).

En la dirección inversa de la reacción, utilizando la fructosa-6-fosfato como sustrato, en presencia de NAD o NADP y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (45,94,128,129) puede determinarse la actividad GPI. En la primera reacción, la GPI cataliza la isomerización de la fructosa-6-fosfato o glucosa-6-fosfato. En la segunda reacción de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa oxida de glucosa-6-fosfato producida en la primera reacción, y reduce el NAD o el NADP, según sea el utilizado.

El NADH y NADPH producido en la segunda reacción es directamente proporcional a la glucosa-6-fosfato producida en la primera reacción y por tanto a la actividad GPI.

b. PARAMETROS CINETICOS

Los valores de la constante de Michaelis (K_m) para los sustratos, tanto en la reacción directa como en la inversa son del orden de 10^{-4} M. Generalmente para la fructosa-6-fosfato tienen valores de la mitad o dos tercios de los hallados para la glucosa-6-fosfato (87).

La glucosa-6-fosfato isomerasa es una de las pocas enzimas que poseen una especificidad prácticamente absoluta para su sustrato, tanto para la glucosa-6-fosfato como para la fructosa-6-fosfato, no actuando nunca sobre otros azúcares fosforilados (87). La enzima presenta su actividad óptima a un PH de 7.2-8.2 con la glucosa-6-fosfato como sustrato, pero la reacción inversa transcurre más rápidamente a PH 8.2-8.5. (122).

La constante de equilibrio, K_{eq} . (fructosa-6-fosfato) (glucosa-6-fosfato), para la glucosa fosfato isomerasa depende la temperatura y es independiente del PH cuando éste está entre los valores de PH 6-10 (129,130). A 30°C, la constante es de 0.30-0.32 para la enzima de los tejidos de los mamíferos y de la levadura (130).

Parece que no requiere ningún activador ni coenzimas, pero es inhibida competitivamente por el 6-fosfogluconato (131) e inactivada por los iones mercuriales (96). Es una enzima relativamente estable, pudiendo almacenarse el suero a 4° durante semanas sin pérdidas de actividad importantes (126).

VALORES NORMALES DE ACTIVIDAD GPI EN SUERO Y EXTRACTOS DE TEJIDOS

Clasicamente, la actividad de GPI se había expresado en Unidades Bodansky, definiendose éstas como el recíproco de la cantidad de suero o de extracto de tejido, expresado en centímetros cúbicos por un centímetro cúbico de reactivo que causará la transformación de 25 microgramos de fructosa, en fructosa-6-fosfato en 30 minutos a partir de un mililitro de glucosa-6-fosfato 0.002 M. a 37°C y PH 7.4 (15). Actualmente, la actividad de la enzima se expresa en Unidades Internacionales, definiendose una unidad internacional como aquella cantidad de enzima que produce la reducción de un micromol de NAD por minuto a 30° C (45,132).

Los valores normales de GPI obtenidos por los distintos autores en extractos de tejidos, generalmente necróticos, se expresan en la Tabla IV. Cuando el tejido utilizado es fresco, obtenido por cirugía, los valores de actividad de la enzima son discretamente más elevados que los encontrados en tejido necrótico. Los órganos en los que se ha encontrado mayor actividad GPI son el hígado (26,118,135,136) corazón (118,133) músculo esquelético (117,118), riñón (117,118), cerebro (117,118) médula ósea (136) y pulmón (117,135).

En el suero, los valores normales encontrados en adultos sanos por los distintos autores, son similares, tanto utilizando la fructosa-6-fosfato como la glucosa-6-fosfato como sustrato (15,45,126,127) con valores más elevados en el suero de recién nacido y el obtenido en sangre del cordón umbilical (127). El líquido cefalorraquídeo contiene valores de actividad baja pero determinables (127). En el fluido vaginal los valores encontrados son distintos dependiendo de la fase del ciclo menstrual, con actividades máximas en el período

TABLA IV

Valores normales de actividad GPI en extractos de tejidos humanos obtenidos por los distintos autores.

Procedencia	Valor (\bar{X} ó $\bar{X} \pm \text{DSM}$)	n° casos	Ref.
BAZO	43.6 \pm 9.9 UI/gr tejido*	8	117
CEREBRO	12.0 \pm 0.1 KU Bodansky**	2	118
	31.5 \pm 10.9 UI/gr tejido*	6	117
CORAZON	26.3 \pm 6.0 Ku Bodansky	6	118
	143 UI/gr tejido *	15	133
	73.2 \pm 19 UI/gr tejido*	7	133
HEMATIES	1.7 \pm 07 KU Bodansky	4	118
	6.96 \pm 1.1 UI/ml Hematies	40	134
	3.1 \pm 7.7 UI/ gr Hb	35	117
HIGADO	21 y 40 KU Bodansky	2	135
	29.2 Ku Bodansky	11	136
	27 \pm 5.2 Ku Bodansky	10	26
	86.4 \pm 13.1 UI/gr tejido*	12	117
	46.4 \pm 24.7 Ku Bodansky	6	118
MAMA	0.004 y 0.03 Ku Bodansky	2	135
	2.7 \pm 1.4 Ku Bodansky	2	118

(Continua) ...

TABLA IV (continuación)

PROCEDENCIA	VALOR (\bar{X} ó $\bar{X} \pm$ IDSM)	n° casos	ref .
MEDULA OSEA	0.3 Ku Bodansky	1	135
	12.3 Ku Bodansky	11	136
MUSCULO ESQUELETICO	30.5 \pm 8.7 KU Bodansky	5	118
	81.3 \pm 11.0 UI/gr tejido*	8	117
PANCREAS	5.3. \pm 0.3 Ku Bodansky	2	118
PROSTATA	8.8 \pm 6.2 Ku Bodansky	2	118
PULMON	6.1 Ku Bodansky	1	135
	1.3 \pm 0.5 Ku Bodansky	3	118
	20.3 \pm 12.8 UI/gr tejido	5	117
RIÑON	10.5 \pm 6.3 KU Bodansky	2	118
	36.3 \pm 16.9 UI/gr tejido	7	117
TESTICULOS	41.6 \pm 7.3 UI/gr tejido	5	117

* Tejido fresco obtenido por cirugía

**Kilo Unidades Bodansky.

do secretor y en mujeres que utilizan dispositivos intrauterinos como método de anticoncepción (51). En el semen de personas sanas se encuentran valores de actividad de GPI elevados (51).

La Tabla V resume los resultados obtenidos en el suero y distintos fluidos orgánicos en los que se ha determinado la actividad GPI.

TABLA V

Valores normales de actividad GPI en suero y distintos fluidos orgánicos.

PROCEDENCIA	VALOR ($\bar{X}, \bar{X} \pm \text{DSM}$ ó Limites)	Ref.
SUERO		
. Adultos	8-40 U. Bodansky	15
	20-90 mU/ml	45
	13-80 U/l	127
. Cordón umbilical	45-170 U/l	127
LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO	0.3-6.2 U/l	127
FLUIDO VAGINAL*		
. Fase proliferativa	6.16 \pm 2.1 U/mg moco cervical	51
. Ovulación	8.62 \pm 3.66 U/mg moco cervical	51
. Fase secretora	13.45 \pm 3.93 U/mg moco cervical	51
FLUIDO VAGINAL**		
. Fase proliferativa	36.07 \pm 9.04 U/mg moco cervical	51
. Ovulación	11.35 \pm 9.63 U/mg moco cervical	51
. Fase secretora	14.39 \pm 5.94 U/mg moco cervical	51
SEMEN	3000 U. Bodansky	51

* Mujeres sin dispositivos intrauterinos

** Mujeres con dispositivos intrauterinos

GPI EN PATOLOGIA HUMANA

I. ENFERMEDADES HEMATOLOGICAS

a. Anemia Hemolítica congénita no esferocítica.

El déficit eritrocitario de glucosa fosfato isomerasa es en frecuencia la tercera eritroenzimopatía con hemólisis crónica, después de los déficits de piruvato kinasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (31). El gen estructural de la enzima es similar en todas las células del organismo (30,137) y encuentra en el cromosoma 19 (138,139).

La enfermedad es conocida desde la descripción inicial de BAU - GHAM y cols. en 1967 (27). Posteriormente ARNOLD y cols (140) en los estudios efectuados en un paciente con anemia hemolítica demostraron una disminución de la GPI eritrocitaria hasta el 25% del valor normal. La actividad enzimática en los leucocitos era de un 73% y en las plaquetas de un 27%, sin que existieran trastornos en la coagulación. Los estudios de la familia del paciente revelaron una disminución de GPI del 50% en los hematíes del padre y de la madre, y de un 77% en un hermano con el mismo desorden hemolítico. No se encontró ningún familiar heterocigótico clínicamente afectado, por lo que se pensó que el trastorno se hereda de forma autosómica recesiva.

Estos mismos autores (140), tomando poblaciones de hematíes de distintas edades (obtenidas por centrifugación en gradiente de densidad) conteniendo cantidades parecidas de reticulocitos, observaron que la actividad GPI eritrocitaria decrecía más rápidamente a medida que aumentaba la edad de los hematíes deficitarios. Por otro lado, demostraron una gran labilidad de la enzima deficitaria frente al --

calor, mientras que la enzima normal mantenía prácticamente toda actividad, concluyendo que la deficiencia de GPI era causada por una -- disminución en la síntesis de la molécula enzimática resultando una inactivación más rápida de la enzima "in vitro" con la consiguiente pérdida de energía metabólica y destrucción del hematíe.

Han sido descritos varios tipos de variantes genéticas de la enzima deficitaria, con propiedades físico-químicas distintas (30,31 32,33,34,35,36) demostrándose en algún caso (141) que la mutación resulta de una substitución de un aminoácido por otro de distinta carga, siendo esta alteración molecular la causa del aumento de la labilidad de la enzima, aunque sin afectarse la región del centro activo - de la misma.

El aumento de la inestabilidad de la enzima anormal y la disminución de la síntesis de la proteína enzimática parecen expresarse - en las diferentes variantes con distinta prevalencia (142).

Aunque el gen estructural de la enzima sea igual en todas las células del organismo, la deficiencia de GPI se manifiesta exclusivamente como anemia hemolítica, debido a que todas las células nucleadas son capaces de resintetizar las proteínas inestables y únicamente en los hematíes, células no nucleadas y que además tienen - una vida media relativamente larga, es donde se manifiesta la deficiencia e inestabilidad de la GPI.

b. Anemia megaloblastica

HELLER y cols. en 1960 (48) en los estudios sobre enzimas del metabolismo de los carbohidratos en pacientes con anemia megaloblastica, observaron valores de actividad de GPI elevados en el plasma de los mismos, con alteraciones muy discretas o inexistentes en la enzima intraeritrocitaria.

Los valores elevados en plasma normalmente disminuían rápidamente después de iniciar el tratamiento y normalizarse la eritropoyesis, independientemente de la etiología de la anemia. Estos auto-

res explicaron la anomalía encontrada por el alto porcentaje de destrucción intramedular característica de este tipo de anemia (144), - debido a la eritropoyesis ineficaz a pesar del aumento de la capacidad proliferativa de la médula ósea, liberándose probablemente las - enzimas intracelulares al plasma, Por otro lado, también se ha demostrado una disminución de la supervivencia en los hematies periféricos de la anemia megaloblástica (144,145) , que podría contribuir a la elevación de la enzima en plasma (48).

c. Enfermedades malignas hematológicas.

ISRAEL y DELROY (146) estudiando el comportamiento de GPI en - diversos tipos de leucosis sólo observan valores elevados en las leu - cemias de estirpe mieloide, sin encontrar alteraciones en las linfocitos. En estos trabajos, confirmados posteriormente (11,12) se observan comportamientos de la actividad GPI en el suero paralelos al aumento o disminución del número total de granulocitos, explicándose - este fenómeno por el hecho de que la actividad de la enzima en los - granulocitos es tres veces superior a la encontrada en los linfocitos. En la leucosis linfóide crónica, la larga vida media de la célula en comparación con la leucemia mielocítica, y la baja concentración de la enzima en los linfocitos, contribuyen a que no existan - valores de actividad GPI elevados en suero.

Otros autores (56), en un grupo heterogéneo de pacientes con enfermedades hematológicas neoplásicas observan un aumento de la actividad sérica de GPI en el 50% de los pacientes (leucosis agudas y - linfomas).

II - GLUCOSA FOSFATO ISOMERASA Y CANCER

En comparación con las otras enzimas ampliamente distribuidas por el organismo, y no órgano específicas, la GPI presenta elevaciones séricas porcentualmente superiores en pacientes con carcinomas del tracto gastrointestinal (estómago, colón y páncreas) (21); - cabeza, cuello y esofago (22); pulmón (23), y mama (19).

Las actividades de éstas enzimas no están elevadas en el suero de pacientes en las fases iniciales de la enfermedad, alcanzando las máximas actividades con la presencia de metástasis hepáticas (25). La tabla VI resume los porcentajes de elevación comparando las distintas enzimas de distribución tisular amplia, en pacientes con carcinoma metastásico en el hígado (25).

Las causas que contribuyen a la producción de estos niveles -- elevados de enzimas en el suero de pacientes con enfermedades neoplásicas han sido revisados por varios autores desde la comunicación - inicial de WARBURG y CHRISTIAN (3) de la presencia de niveles elevados de enzimas glicolíticas en el suero de ratas portadoras de distintas neoplasias. Entre las posibles explicaciones, dos factores - parecen tener especial importancia; el paso de las enzimas desde las células neoplásicas a la sangre (147) y la liberación de la enzima - desde los tejidos normales invadidos por el tumor (6), habiéndose - puesto en duda (5) el aumento de la glicolisis en el tejido tumoral propuesta por WARBURG.

Existen evidencias de que los niveles elevados de algunas enzimas como la aldolasa (148) y la GPI (149), en animales portadores de tumores, reflejan la liberación de una importante cantidad de las mismas por la masa tumoral. El paso a la sangre de la enzima depende del grado de necrosis tumoral para algunos autores (148), mientras que para otros (147) pasa a la sangre desde células neoplásicas

TABLA VI. Elevaciones porcentuales de las distintas enzimas de distribución tisular amplia, en suero de pacientes con carcinoma metastásico en el hígado (25).

ENZIMA	n° Pacientes	n° con elevación	%
Glucosa fosfato isomerasa	72	60	84
Aldolasa	100	75	75
Lactato deshidrogenasa	156	108	69
Málico deshidrogenasa	70	43	62
Deshidrogenasa isocitrica	65	34	53
Aspartato aminotransferasa	188	94	50
Glutation reductasa	68	32	47
Alanin amino transferasa	179	60	33

estructuralmente intactas, demostrándose en otros trabajos (19,21), que los niveles séricos elevados de estas enzimas en pacientes con neoplasias representan la liberación desde el tejido tumoral, de - enzimas solubles (citolasmáticas) independientemente de su acción metabólica intracelular.

Tras la invasión metastásica de un órgano en particular, como el hígado, puede esperarse que se eleven en el plasma aquellas enzimas en las que el órgano es especialmente rico, pero múltiples autores (6,7,8,14,19,21,22,23,148,149,150), en estudios efectuados en - pacientes y en animales de experimentación con neoplasias, coinciden en que los niveles elevados de enzimas glicolíticas reflejan mas la masa total del tumor que el lugar de la metástasis. Aunque la masa - total del tumor está aumentada en pacientes con metástasis hepáticas y en otros lugares, existe una correlación positiva entre los nive - les séricos de las enzimas glicolíticas y la extensión de la afecta - ción metastásica del hígado. (25).

De forma general, el porcentaje de elevación de la actividad sé - rica de la enzima oscila del 33 al 90%, independientemente de la lo - calización y extensión de la neoplasia, según los distintos autores en series de neoplasias de diversa localización (16,37,38,39,40,56,57) Los porcentajes de actividad más elevados se alcanzan en los casos - con metástasis a distancia, especialmente hepáticas y óseas (6,38,39 40). La tabla VII ilustra las actividades GPI encontradas (38) en el suero de un grupo de pacientes con neoplasia, considerando por sepa - rado los que presentaban metástasis (78% de elevaciones) y los que - tenían la enfermedad localizada (33% de elevaciones).

a - CANCER DE MAMA

En las neoplasias de mama, independientemente de su estadio de extensión, los valores de actividad de GPI se han encontrado eleva - dos en un porcentaje que varía del 8 al 85% según los distintos au - tores (6,19,29,24,56,135). Desde los primeros estudios de BODANSKY - (6) se puso de manifiesto la correlación entre los niveles de GPI en

TABLA VII - Porcentajes de elevación de la actividad sérica GPI en pacientes con neoplasia localizada y metastásica (38).

CATEGORIA	número	%
A. Pacientes con neoplasia y GPI elevada	27	71.1
1. Localizada	2	5.3
2. Metástasis	25	65.8
B. Pacientes con neoplasia y GPI normal	11	28.9
Total	38	

las neoplasias de mama y la presencia de metástasis hepáticas y, muy especialmente óseas, determinado esto último por métodos clínicos y bioquímicos, particularmente por la excreción urinaria del calcio. Otros autores no obstante, no encuentran relación entre los niveles de GPI séricas y la presencia de metatástasis óseas (39) demostrando por el contrario que la elevación de la enzima es un índice muy sensible de afectación hepática (39, 135). Por otro lado, ROSEY y cols (19) estudiando un grupo de 57 pacientes con carcinoma de mama divididos en cuatro grupos según la neoplasia afectará a hígado, hueso, a ambos o fuera localizada, observaron elevación de GPI en cerca del 50% de pacientes pero sin encontrar diferencias entre los distintos grupos con respecto al valor medio de actividad enzimática.

JOPLIN y JEGATAEESAN (20) determinaron los valores de GPI en 58 pacientes con carcinoma de mama, encontrando valores superiores a los controles normales en un 85% de los casos, correspondiendo los valores más elevados a los pacientes en estadios clínicos más avanzados y que en general no respondían al tratamiento. 17 casos fueron tratados mediante destrucción de la hipófisis por implantación de agujas de ⁹⁰itrio, presentando las pacientes que respondieron al tratamiento, descensos claros de los niveles enzimáticos, alcanzando valores normales durante la remisión (Fig. 1). Finalmente, GRIFFITH y BECK (24) determinaron los valores séricos de GPI en un grupo de mujeres con carcinoma de mama sin afectación metastásica, antes y después de efectuar una mastectomía radical, encontrándose valores medios comparables a los obtenidos en los controles normales. Los mismos autores, en los casos de carcinoma con metástasis a distancia observaron un 80% de valores de actividad GPI superior al valor normal.

Los niveles más altos coincidían con los estados clínicos más avanzados. La regresión de las neoplasias inducida por adenocorticoides, andrógenos o estrógenos, radioterapia, ooforectomía y/o hipofisectomía, se acompañó casi siempre de descensos en los niveles de GPI (fig. 2) (24). Otros autores, (39) han demostrado también reducciones de los niveles séricos de GPI estadísticamente significativas después de pautas quimioterápicas, tanto en los pacientes en los que

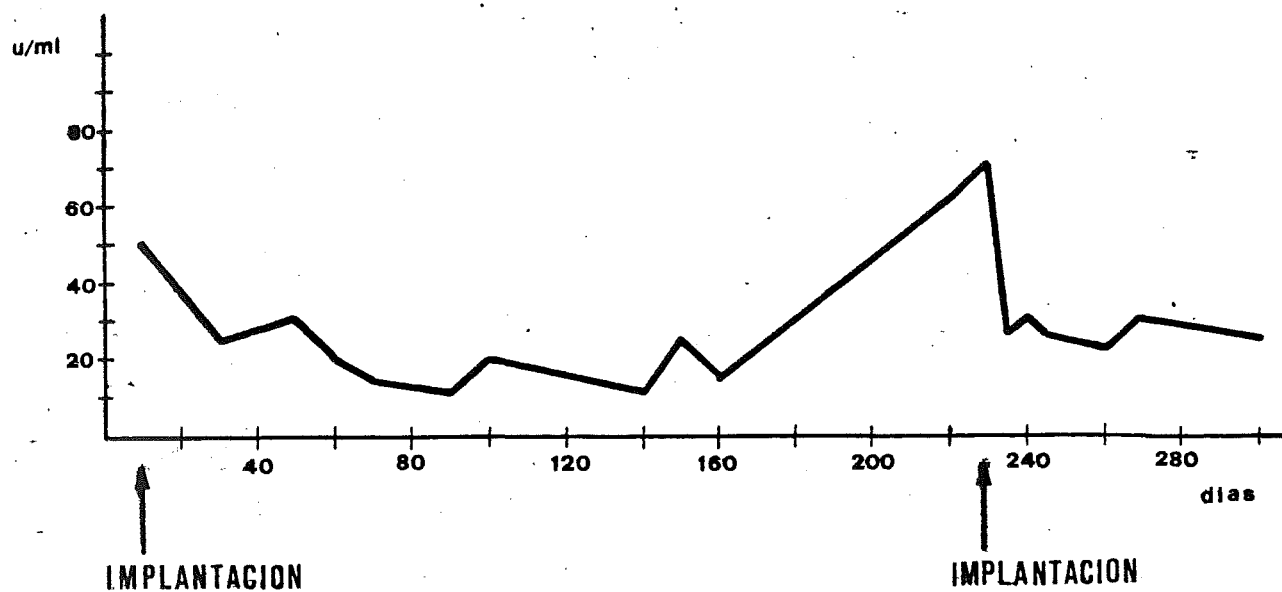


Fig. 1 - Evolución de los valores séricos de actividad GPI en una paciente con carcinoma de mama tratada con la implantación hipofisaria de agujas de ITRIO-90 (20)

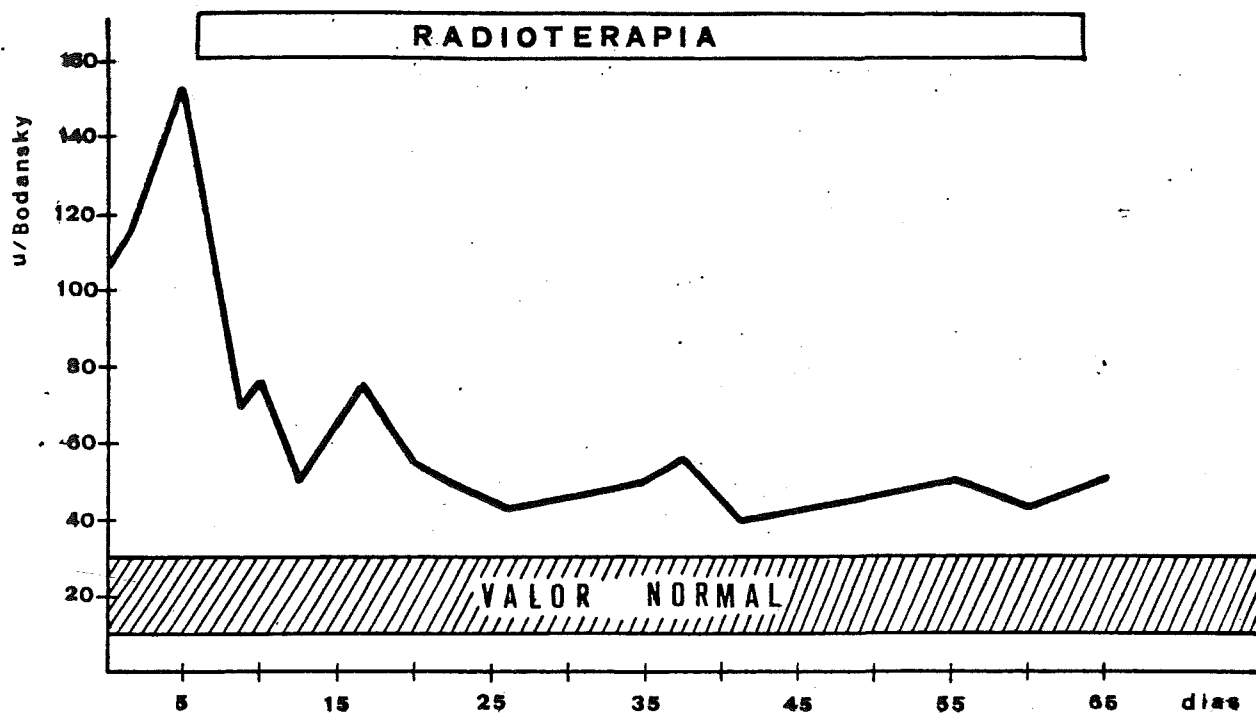


Fig. 2 - Evolución de los valores séricos de actividad GPI en una paciente con carcinoma de mama metastásico, durante el tratamiento con radioterapia (24)

se observa una reducción del tumor y mejoría clínica, como en los que no presentan respuesta al tratamiento ($p < 0.005$ y $p < 0.05$).

HILF y cols. (151) en estudios realizados sobre tejido mamario normal, enfermedad fibroquística y carcinoma ductal infiltrante, demostraron valores de actividad GPI tres veces superior en la enfermedad fibroquística y de 8 a 10 veces superior en el carcinoma en comparación con el tejido normal.

b- CARCINOMA DE PROSTATA

BODANSKY (7), determinando la actividad sérica de GPI de forma secuencial en 6 pacientes con carcinoma de próstata metastásico recibiendo varias formas de tratamiento paliativo, observó un buen grado de correlación, en general, entre las elevaciones de actividad sérica de GPI y el crecimiento del tumor, evaluado por métodos clínicos y bioquímicos, particularmente por el cambio en las actividades séricas de las fosfatasas ácidas y alcalinas.

Los niveles de actividad sérica de fosfatasa ácida y alcalina han sido el medio más específico utilizado como indicador del crecimiento del tumor primitivo, del tumor metastásico y de las condiciones clínicas de pacientes con carcinoma de próstata (152,153). No obstante los trabajos de SCHWARTZ, y cols. (26) en pacientes con carcinoma metastásico de próstata, comparando los niveles de actividad sérica de GPI con los de la fosfatasas ácidas y alcalinas indican que la GPI ofrece una información adicional a la que dan las otras dos enzimas, siendo de mayor ayuda para el seguimiento de la evolución de la enfermedad y la respuesta al tratamiento, cambiando los niveles séricos de la enzima con mayor sensibilidad durante las exacerbaciones y remisiones de la enfermedad.

En algunas series (56) la actividad sérica de la enzima se halla elevada, independientemente de la extensión de la neoplasia, en un 84% de pacientes.

c- CARCINOMA PULMONAR

La GPI fue la enzima mas elevada en un estudio comparativo entre enzimas glicolíticas, oxidativas y transaminasas, en pacientes con carcinoma pulmonar (23), alcanzando globalmente un 72% de valores superiores al grupo control. Los valores de actividad mas elevados se observaron en aquellos pacientes con metastásis en el hígado y otros lugares (90% de elevaciones), con valores superiores a los normales en alrededor del 50% de los pacientes con extensión local de la neoplasia sin metastásis a distancia.

En otras series estudiadas, los porcentajes globales de elevación de la enzima en este tipo de neoplasias oscilan del 44 al 94% (16,18,39,56) encontrando siempre los valores más elevados en los casos clínicamente más avanzados.

Tambien ha sido estudiada la actividad de ésta enzima en el líquido pleural de pacientes con cancer metastásico (56) y en el líquido subretinal de un carcinoma broncogénico con metástasis en la coroides (43) encontrandose valores elevados en ambos casos.

Por otro lado, los valores encontrados en pacientes con enfermedades pulmonares crónicas y en quistes hidatídicos (56), son normales.

d- CARCINOMA GASTROINTESTINAL

En el estudio efectuado por SCHWARTZ y cols. (21) en un grupo de 119 pacientes portadores de un carcinoma gastrointestinal (estómago, intestino y páncreas), observaron valores de actividad sérica de GPI superiores a los normales en el 74% de los pacientes, con valores inferiores en los casos en que la neoplasia estaba localizada. En el grupo de pacientes con metástasis a distancia, no observaron diferencias estadísticamente significativas en relación al lugar de la metástasis, aunque analizando los valores individuales los nive-

les más altos de actividad los presentaban aquellos pacientes con me tástasis hepáticas. No se hallaron diferencias significativas entre los grupos con ictericia obstructiva o sin ella.

En algunas series de carcinomas metastásicos del tubo digestivo, analizando el lugar de la metastásis, se encuentran valores elevados de actividad GPI sérica en el 83% de los casos con metastásis hepáticas y en el 50% de los que poseen metastásis en lugares distintos al hígado (hueso, piel, pulmón, etc) (42), otros autores (39) no encuentran elevaciones de la actividad de la enzima en los casos de - carcinomas localizados con valores anormales hasta en el 75% de los casos con metastásis a distancia.

Comparando los niveles de GPI sérica con marcadores antigénicos como el antígeno carcino embrionario (CEA), de reconocido valor como índice de extensión (154), respuesta al tratamiento (155) y recidiva (156) de ciertas neoplasias, especialmente del tracto gastrointestinal, se ha observado que las elevaciones del CEA se correlacionan directamente con los niveles de GPI (42). MUNJAL y cols (45), estudiando los valores de GPI, CEA, gamma GT y LDH en extractos de intes tino fetal, colon adulto normal y neoplásico, y en tejido hepático - metastásico, demostraron que los niveles más elevados de actividad GPI y de CEA especialmente, se obtenían en el tejido hepático metastásico, el colon adulto normal presentaba los valores mas bajos, y el colon fetal y neoplásico valores superiores al colon adulto normal. Estos trabajos están en consonancia con los realizados por los mis mos autores en suero de pacientes con enfermedades de colon y estó mago (44), observando que los niveles circulantes de GPI y CEA eran más elevados en pacientes con cancer de colon y estó mago que en per sonas normales o con otras enfermedades.

En los carcinomas hepáticos primitivos, se han encontrado valores de actividad GPI sérica superiores a la normalidad en el 55-100% de los casos según las series (39,56) independientemente del estadio clínico.

e- CARCINOMA DE CABEZA, CUELLO, PAROTIDA y ESOFAGO

La incidencia de valores anormales en este grupo de pacientes es inferior a la encontrada en otros tipos de neoplasias. La actividad sérica de GPI es superior al valor normal en el 51% de pacientes de un grupo estudiado por SCHWARTZ y cols (22), explicando éste autor esta baja incidencia encontrada por el limitado tamaño total de estos tumores. La tabla VIII resume los valores de GPI anormales observados en pacientes con carcinomas de localización distinta (23).

f- OTRAS NEOPLASIAS

Algunos autores (56) encuentran porcentajes de elevación de la actividad GPI sérica en un 46% de neoplasias de piel distintas al melanoma, con un 100% de elevaciones en el pequeño número de pacientes con este último tipo de neoplasia.

En el grupo de las neoplasias genitales femeninas, la determinación de la actividad de la enzima en suero da valores superiores a los normales en el 73% de los casos (56). Dado que la GPI se ha encontrado marcadamente elevada en el fluido vaginal de mujeres con de sordenes ginecológicos, la determinación de la enzima en éste medio fue propuesta como screening del carcinoma se cervix, encontrándose incluso valores ascendidos en los carcinomas in situ (157,158), no obstante el alto porcentaje de falsos positivos (el 43% de las mues tras asociadas a lesiones benignas o incluso en ausencia de patología), MUIR Y VALTERIS (158) concluyen que el test es de dudoso valor como acreening.

TABLA VIII - Comparación de la incidencia de valores elevados de actividad GPI en pacientes con carcinoma de 4 localizaciones distintas.

LOCALIZACION	n° Pacientes	% elevación	Ref.
MAMA	57	70	19
TRACTO GASTROINTESTINAL	119	74	21
CABEZA, CUELLO, ESOFAGO	88	51	22
PULMON	126	72	23

III - GPI E INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO

En 1957, BING y cols. (17), describieron un grupo de pacientes afectados de infarto agudo de miocardio que presentaban elevaciones de la actividad sérica de GPI, alcanzándose los niveles más altos a las 24 horas del inicio del dolor. Posteriormente WEST y cols (159), estudiando el comportamiento de la GPI en pacientes coronarios, encuentran ligeros ascensos en la angina de pecho (33% de los casos), comportamiento parecido al de la aldolasa y distinto del de la GOT y -- LDH que se elevaban en el 5 y 15% de los casos respectivamente. En el infarto de miocardio, los mismos autores señalan que la GPI se -- comporta de modo similar a la GOT y aldolasa, presentando elevaciones máximas a las 24-48 horas en la mayoría de los pacientes y alcanzando la normalidad a los 4-5 días. La existencia de shock no influye en el comportamiento de la GPI pero si lo hace la insuficiencia cardíaca congestiva, según estos autores, por la presencia de hígado de éstasis. La presencia de arritmias, pericarditis o miocarditis influye sólo de forma excepcional en los ligeros ascensos, si los hay de la enzima. Otros autores (133) encuentran alteraciones similares en la actividad plasmática de la enzima especialmente de 13 a 29 horas después del infarto, antes de la actividad máxima de LDH.

En nuestro medio, en un estudio efectuado en 26 pacientes afectados de infarto agudo de miocardio de menos de 48 horas de evolución, comparando el comportamiento de GPI, de CPK y LDH (160) se observaron elevaciones considerables de la actividad GPI (de 1.5 a 6 veces el valor normal), siendo ésta tan precoz como la de la CPK y su pico máximo coincide también con esta enzima. La normalización de GPI se produce paralelamente a la de la LDH.

IV - GPI en HEPATOPATIAS

BRUNS y JACOB (16) en un estudio efectuado sobre el comportamiento de la GPI, aldolasa y fosfatasa alcalina en un grupo de pacientes con hepatitis virica aguda, cirrosis hepatica e ictericia obstructiva, observaron valores de actividad de la enzima superiores a los normales en el 81% de los pacientes con hepatitis aguda. Estos valores fueron los más altos obtenidos en los distintos grupos (hasta 15 veces el valor normal), especialmente en la primera semana de la enfermedad, alcanzando valores normales a las 3-4 semanas de la enfermedad. TAN y cols. obtienen cifras anormales en más del 75% de los casos (25) y otros autores, con series reducidas de pacientes (17,24) observan valores de actividad de GPI sérica elevados en el 100% de los casos.

En la única serie disponible de pacientes con infiltración granulomatosa hepática (25), se obtuvieron valores elevados de actividad de la enzima en el 25-50% de los casos, siendo moderado el grado de elevación en todos los casos.

En el reducido numero de pacientes con cirrosis hepática a los que se determinó la actividad sérica de GPI (16,17,24,25) se observaron tasas de elevación unicamente moderados en un 25-50% de pacientes, a excepción de la serie de BRUNS y JACOB (16) con elevaciones discretas en el 83% de los pacientes.

Los pacientes con ictericia obstructiva estudiados (16,17,24,25) independientemente de si la obstrucción es neoplásica o no, presentan valores elevados en un numero superior al 75% de los casos, con grados de elevación de la enzima muy poco importantes.

V - GPI EN OTRAS ENFERMEDADES

En la serie de pacientes estudiados por BRUNS y JACOB (16), se observaron valores de actividad GPI sérica superiores a la normalidad en un grupo de diabéticos, en una proporción cerca al 88% aunque no se encuentran en la literatura más referencias al respecto.

Algunos autores (46,47) encuentran ascensos de la actividad de la enzima en el suero de pacientes con distrofia muscular progresiva y en la dermatomiositis, proporcionales al grado de afectación miopática especialmente en las primeras fases de la enfermedad.

En la psoriasis se han encontrado valores contradictorios de GPI en suero y en los hematies según los distintos autores. Así, -- mientras CRAVENT y cols. obtienen valores de actividad inferiores a los controles normales tanto en la GPI sérica (50) como en la GPI eritrocitaria (161) de pacientes con psoriasis, sea grave o vulgaris, GAEDICKE y cols. (49) afirman que el valor medio de sus resultados en hematies de pacientes psoriasicos se situa por encima de los valores obtenidos en el grupo control, observando que aquellos que tenían valores más altos de actividad GPI eran los que presentaban una psoriasis florida aguda.

Finalmente, cabe destacar que se ha observado una actividad GPI superior a la normal en el líquido cefalorraquideo de algunos pacientes con ciertas enfermedades craneo-encefálicas. Así, THOMPSON y cols (162) encuentran actividades elevadas en el L.C.R. de enfermos con tumores malignos, infecciones agudas y crónicas de las meninges y también en algunos casos de trombosis cerebral. LOPEZ SOLER (58) en nuestro medio, estudiando el comportamiento de esta enzima en el LCR en enfermos pediátricos, encuentra los máximos ascensos en las

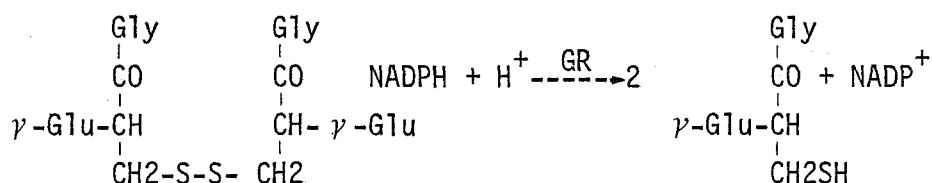
meningitis supuradas, seguidos de las meningitis tuberculosas, traumatismos craneoencefálicos, tumores cerebrales y meningoencefalitis víricas, observando además elevaciones moderadas en el mongolismo, epilepsia e hidrocefalias.

GLUTATION REDUCTASA . (GR, Glutation oxidoreductasa, EC: 1.6.4.2.)

Esta enzima forma parte del grupo de las deshidrogenasas que contienen flavina en su molécula y que no contienen metales. Los términos deshidrogenasas y reductasa, cuando se aplican a estas flavoproteínas, normalmente indican electron transferasas que después de la reducción por su substrato dador, reaccionan únicamente de forma lenta con el oxígeno. Este hecho las distingue de las oxidasas e hidroxilasas que reaccionan rápidamente con el oxígeno (163).

LOCALIZACION Y FUNCION

La glutacion reductasa cataliza la transferencia de electrones entre el NADPH y el glutacion (61,62,164) convirtiendo al glutacion oxidado (GSSG, gamma-L-glutamyl-cisteilglicina) a su forma reducida (GSH).



Glutation oxidado

Glutation reducido

Ya en 1951 se identificó la enzima en semillas de guisante (65) y germen de trigo (64), caracterizándose perfectamente la misma tras los trabajos de RALL y LEHNINGER (62) en levaduras, hígado de cerdo y varios tejidos de rata. Posteriormente la actividad de la enzima se ha demostrado en la neurospora (165), en bacterias (166,167) y en tejido cerebral de mamíferos (168).

MANSO y WROBLESWSKI (68) investigando la actividad GR en varios

tejidos humanos, incluyendo el suero y el líquido pleural (Tabla IX) encuentran actividad en todos los tejidos estudiados, con valores máximos en hígado, riñón, páncreas.

Las enzimas de la levadura (62,63,169,170) y de los hematies humanos (71,171,172,173) han sido más extensamente estudiadas, pero se ha obtenido también de hígado de rata (67,69,174), guisantes germinados (175), E. Coli (166), *Penicillium chrysogenum* (176,177) y huevos de erizo de mar (178,179). La Tabla X resume el origen de los extractos en los que se ha encontrado actividad GR.

La acción catalítica de la glutatión reductasa en la reducción del glutatión oxidado por el NADP, da como resultado glutatión reducido, por lo que las funciones metabólicas de la enzima son superponibles a las del GSH, utilizado como sustrato por enzimas como la GSH peroxidasa y por un grupo de transhidrogenasas como la glutatión insulina transhidrogenasa, que cataliza la primera reacción en la degradación de la insulina (180). Otra de las funciones del glutatión reducido, probablemente no enzimática, es su intervención en la reducción de tioles-proteínas que han sido oxidadas por disulfuros mixtos, convirtiendo en algunos casos enzimas inactivas en activas o viceversa (181). Ejemplos de ellos son la D-glucógeno-sintetasa que depende de la presencia de glucosa-6-fosfato para permanecer en su forma activa, siendo inactivada por el glutatión oxidado y reactivada por el glutatión reducido (182). Otros efectos potencialmente importantes de la alteración en la transformación GSSG-GSH, serían disfunciones en la transmisión nerviosa, integridad de la membrana celular y en la síntesis de proteínas (163).

ESTRUCTURA MOLECULAR.

Esta formada por dos cadenas polipeptídicas conteniendo cada una un núcleo disulfuro activo en las reacciones redox y dos moléculas de FAD (flavin-adenine-dinucleotide) (183).

TABLA IX - Valores de actividad GR en los distintos extractos de tejidos humanos (68)

EXTRACTOS	Actividad GR (U/ml/min/gr tejido)
Higado	3200
Riñón	3200
Páncreas	1300
Corazón	500
Tiroides	260
Eritrocitos lisados	200
Médula espinal	160
Pulmón	120

TABLA X - Extractos en los que se ha demostrado actividad GR.

ORIGEN	REF.	ORIGEN	REF.	ORIGEN	REF.
Guisante	65,175	Plasma y eritrocitos lisados de:	68	<u>Hombre:</u>	
Germen de trigo	64	Hamster		Hematies	68,71,171,172,173
Levadura	62,63,169,170	Conejo		Suero	68,69,78
Neurospora	165	Cobaya		Liq. pleural	68
Eschrichia Coli	166	Mono		Higado	68
Tiobacilos	167	Cabra		Riñón	68
Penicillium Crysoygenum	176,177	Ratón		Páncreas	68
Huevos erizo de mar	178,179	Pollo		Corazón	68
Higado cerdo	165	Perro		Tiroides	68
Higado rata	67,69,165,174	Cerdo		Médula espinal	68
		Rata		Pulmón	68

TABLA XI

Análisis de la composición en aminoácidos de la GR de levadura y de E. Coli (185).

AMINOACIDO	GR Levadura	GR E. Coli
Acido cisteico	6	7
Acido aspártico	49	49
Treonina	23	30
Serina	27	16
Acido glutámico	45	43
Prolina	13	22
Glicina	43	45
Alanina	33	47
Valina	41	43
Metionina	7	11
Isoleucina	29	34
Leucina	31	30
Tirosina	17	16
Fenilalanina	16	15
Lisina	39	26
Histidina	14	12
Arginina	16	14
Triptófano	5	3
FAD	1	1
Residuos aminoácidos totales	454	464
PM mínimo / FAD (Incluyendo FAD)	50.600	50.800

En los primeros trabajos de purificación de la enzima en extractos de hígado de rata, efectuados por MIZE y cols. (66,67) mediante precipitaciones sucesivas en sulfato amónico, obtuvieron un peso molecular para la enzima de 44000, a partir de los datos de difusión y velocidad de sedimentación. No encontraron evidencias de que existieran un componente flavínico en la molécula. Posteriormente, MAPSON e ISHERWOOD (175) obtuvieron la enzima purificada de guisantes germinados, con un peso molecular de 60.000 g. de proteína.

A partir de la enzima de levadura, COLMAN y BLACK (169) y MASSEY y WILLIAMS (184), encuentran pesos moleculares distintos. Así, el primer grupo encuentran valores de 118.000 con un FAD por molécula, mientras que MASSEY y WILLIAMS consiguen un peso molecular mínimo de --- 56.500, basándose en el contenido de flavina. Las discrepancias entre estos resultados parecen ser debidos a diferencias en el cálculo de - proteínas, considerándose como más probable un peso molecular de ---- 118.000 con dos FAD por molécula (184).

Tras los estudios de purificación de la enzima en el hematie humano, se obtienen también pesos moleculares de 115.000-125.000, determinado por filtración en sephadex gel (173). Otros autores concuerdan con estos valores de alrededor de 100.000 (170) siempre con dos moléculas de FAD por molécula de enzima.

El peso molecular calculado a partir del análisis de aminoácidos no concuerda perfectamente con algunos de los estimados por métodos físicos, situándose los valores alrededor de 100.000, como en los últimos trabajos en la enzima de levadura y hematie humano. La - Tabla XI muestra la composición en aminoácidos y pesos moleculares obtenidos por molécula de FAD en la enzima de levadura y de E. Coli -- (185).

En la figura 3 puede apreciarse la secuencia de aminoácidos en los péptidos aislados de la enzima de la levadura, con un puente de disulfuro entre las dos cistinas, centro activo de la enzima (186).

S ----- S

Lys-Ala-Gly-Lys-Ala-Len-Gly-Cly-Thr-Cys-Val-Asn-Val-Gly-Cys-Val-Pro-
Lys-Val-Val-Met.