

# Estudio Enzimático en el Infarto Agudo del Miocardio

\*Dr. E. Brilla  
\*\*Dr. A. Brilla  
\*\*Dr. F. Quirós  
\*\*B.S. Kirsten Visoná

## Resumen

Se analizan los resultados obtenidos en el estudio de enzimas e isoenzimas de 42 pacientes que sufrieron infarto agudo del miocardio y de un grupo testigo negativo, a través de un protocolo de muestras seriadas. Se presenta un método modificado en nuestro laboratorio para el estudio electroforético de isoenzimas de la deshidrogenasa láctica, el cual es satisfactorio para la rutina diagnóstica y particularmente útil en el diagnóstico diferencial o confirmatorio del infarto al miocardio. Las determinaciones convencionales de enzimas "cardíacas" mostraron que los sistemas que más rápidamente adquieren significación diagnóstica son la creatina fosfoquinasa (C.F.Q.) y la aspartato amino-transferasa (T.G.O.): sin embargo, por estudio comparativo con isoenzimas de la deshidrogenasa láctica (D.H.L.) se determinó que un 35% de los pacientes positivos por infarto al miocardio, presentaron predominios en las bandas uno y dos ("cardíacas") asociadas a D.H.L. total normal. Solamente dos pacientes de un grupo de 29 presentaron hiperactividad de creatina fosfoquinasa total antes que el isoenzimograma D.H.L. presentara predominios en las bandas 1 y 2.

El 43.5% de los pacientes con infarto presentaron hiperactividad en las bandas 4 y 5 ("hepáticas"), lo que demuestra la contribución, en un sector cuantitativamente importante de los pacientes, de enzimas de otros tejidos al perfil enzimático considerado como "cardíaco".

## Introducción

La mayor parte de las muertes por infarto agudo del miocardio, tienen lugar durante las primeras horas después del ataque. Esta situación plantea la necesidad de diagnósticos rápidos basados en elementos clínicos y comprobación de laboratorio, que debe ofrecer procedimientos sensibles, rápidos y accesibles a la rutina hospitalaria.

Los estudios de laboratorio adquieren especial importancia en casos de pacientes con insuficiencia coronaria y angina de pecho, donde las manifestaciones circulatorias pueden plantear un difícil diagnóstico diferencial con infarto miocárdico, particularmente si hay cambios electrocardiográficos equívocos o bloqueos avanzados de las ramas del Haz de His. Los procedimientos rutinarios de laboratorio generalmente utilizan técnicas enzimáticas de escasa discriminación diagnóstica, por cuanto sus aumentos se dan por daño en diversos tejidos (13).

Los valores "normales" para algunos métodos presentan una amplia cobertura, de tal manera que la actividad de óxido reductasas y transferasas, en un paciente con valores en los límites inferiores, puede duplicar y hasta triplicar la actividad sérica de esas enzimas y permanecer, para efectos interpretativos clínicos, en el margen superior normal. Esta situación afecta la necesaria celeridad con que debe establecerse el perfil enzimático comprobatorio de infarto.

El descubrimiento de que la deshidrogenasa láctica (D.H.L.) de varios tejidos humanos está formada por diversas especies molecu-

\*Departamento de Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, Hospital San Juan de Dios.  
\*\*Servicio de Cardiología, Departamento de Medicina, Hospital San Juan de Dios, Caja Costarricense de Seguro Social.  
\*\*\*International Center for Medical Research and Training.

lares, despertó gran interés en la búsqueda de la organoespecificidad enzimática y en cuanto a sus posibles aplicaciones en la medicina (12).

La molécula de la D.H.L. está formada por cuatro cadenas de aminoácidos que se constituyen en un tetrámero. Las cadenas de aminoácidos de cada molécula de DHL pueden ser de uno o dos tipos, denominados cadenas H (favorecen migración anódica, predominan en tejidos "aeróbios" como corazón, riñón, etc.) y cadenas M (favorecen un desplazamiento catódico en la electroforesis, predominan en tejidos "anaeróbios" como hígado y músculo) (4,6).

Al sintetizarse la molécula de DHL (tetrámero), existe la posibilidad de constituir cinco formas moleculares que catalizan la misma reacción química, resultantes de las diversas posibilidades en que pueden organizarse las cuatro cadenas de aminoácidos (5).

Normalmente la mayor parte de la actividad D.H.L. reside en la banda 2. La banda 1 es igual o ligeramente más activa que la banda 3 y esta última lo es más que las bandas 4 y 5 (8).

Aunque las isoenzimas no son absolutamente organoespecíficas (1) desde que en los diferentes tejidos existe diversa distribución, es posible, con razonable certeza, determinar el tejido que origina una hiperactividad sérica de acuerdo al patrón de especies moleculares presentes. Cabe señalar, que el patrón de distribución es más bien tejido específico (8): en tejido cardíaco, por ejemplo, se reporta predominio de las bandas 1 y 2, presentándose ligeras variaciones dependiendo del área anatómica que libere la enzima: en el septum posterior interventricular predomina la fracción 1; en el ápex y músculos papilares de la válvula mitral predomina la fracción 2; en la cara anterior al ventrículo izquierdo se presenta igual actividad de las bandas 1 y 2.

## MATERIAL Y METODOS

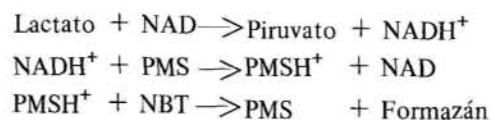
El presente trabajo contiene los resultados obtenidos en el estudio de 76 pacientes de ambos sexos, internados en la Unidad Coronaria del Hospital San Juan de Dios, 42 de los cuales presentaron infarto agudo del miocardio, no complicado y comprobado por elementos clínicos y de laboratorio.

Las muestras del propositus fueron obtenidas por punción venosa, siguiendo un protocolo seriado de 3 horas, 6 horas, 24 horas, 48 horas, 7 días y 12 días después del posible infarto.

No se utilizaron anticoagulantes ni preservantes químicos, desueringándose las muestras pocos minutos después de obtenidas y previniendo la hemólisis. Cuando las muestras no se procesaron de inmediato, fueron refrigeradas por unas horas y luego congeladas a  $-70^{\circ}\text{C}$  (congelación rápida en mezclas alcohol:acetona).

## Separación electroforética de la actividad de la Deshidrogenasa Láctica.

Para la separación electroforética (8) se utilizaron placas de vidrio de  $8,3 \times 10,2$  cms. (Eastman Kodak Company, # 1402130), las cuales se cubrieron con 7,5 ml de agarosa al 0,80 g/dl. El revelado se logró a partir de la siguiente secuencia de reacciones:



NAD = Coenzima I, DPN  
NADH<sup>+</sup> = Coenzima I reducida  
PMS = Metasulfato de fenacina  
NBT = Azul de tetrazolium  
NBTH<sup>+</sup> = Formazán

Los compuestos químicos fueron obtenidos de la Compañía Sigma Chemical Company (Saint Louis, Missouri) y los sustratos preparados en nuestro laboratorio.

La separación electroforética consistió en un sistema discontinuo de veronal NaCl en los tanques (2) y tris-borato-barbital pH 9.1 en el gel. La fuerza iónica del gel fue la mitad de la de los tanques. Luego de una corrida por 35 minutos a 70 voltios (aproximadamente 25 cms de migración) se agregan los sustratos de revelado sobre otra capa de agarosa, demorando aproximadamente una hora a  $37^{\circ}\text{C}$  la obtención de las bandas. Durante la corrida electroforética se debe prevenir la inactivación de fracciones termolábiles por refrigeración de la cámara.

## Ingredientes del revelado:

Lactato de sodio 1M (0,35 ml), cloruro de magnesio 0,005 M (0,75 ml), cianuro de sodio recristalizado 0,1 M (0,38 ml), cloruro de ditetrazolium 0,2 M (0,88 ml), nicotinamida adeninad nucleótido 0,03 M (0,38 ml), metosulfato de fenacina 0.01 M (0,1 ml). La solución debe prepararse el día de su uso y mantenerse protegida de la luz.



Los isoenzimas pueden leerse por observación visual directa o por interpretación de gráficos densitométricos, en cuyo caso debe haber buena certeza de la resolución de las bandas.

**Deshidrogenasa Láctica (DHL) (NAD óxido reductasa del ácido-L-Láctico, EC 1.1.1.27)**

Su actividad se determinó por el método cinético cuantitativo de Wroblewski y LaDue (14), con reactivos de la Compañía Sigma Chemical Company (Saint Louis, Missouri).

**Aspartato aminotransferasa (TGO) (EC**

**2.6.1.1)**

Su actividad se determinó por el método de Reitman y Frankel (9), con reactivos obtenidos de la Compañía DADE (Miami, Fla).

**Creatina fosfoquinasa (CFQ) (EC 2.7.3.2., ATP Creatina fosfotransferasa)**

Su actividad fue cuantificada por medición de la creatina formada por catálisis de la creatina fosfoquinasa sérica, utilizando reactivos de la Compañía Sigma Chemical Company (Technical Bulletin #520).

**Hallazgos en el grupo "testigo" durante las primeras 48 horas de su ingreso a la Unidad Coronaria**

Enzima	3 Hrs.	6 Hrs.	24 Hrs.	48 Hrs.	Promedios	Normales literatura
n=	18	20	20	15	58	—
C.F.Q. $\bar{X}$ =	5,6	5,8	5,9	6,6	6	—
Rango=	0-11	1-11	1-11	2-11	1-11	0-12
n=	15	18	21	15	14	—
A.A.T. $\bar{X}$ =	31	34	30	36	33	—
Rango=	0-17	0-68	5-65	7-63	1-66	40
n=	14	17	20	13	62	—
D.H.L. $\bar{X}$ =	205	196	194	203	200	—
Rango=	146-	143-	130-	129-	140-	
	264	249	260	278	260	100-350

**CUADRO 1**

C.F.Q. = Creatina fosfoquinasa  
 A.A.T. = Aspartato aminotransferasa (T.G.O.)  
 D.H.L. = Deshidrogenasa Láctica

**ACTIVIDAD TOTAL DE C.F.Q., A.A.T. Y D.H.L.  
EN EL GRUPO "INFARTOS"**

Enzima	3 Hrs.	6 Hrs.	24 Hrs.	48 Hrs.	7 días	12 días	Valores Norm.
n=	18	28	32	29	13	11	
C.F.Q. $\bar{X}$ =	17	32	58	36	9	7	0-12 U/ml
media =	15	29	35	26	7	5	
n=	18	28	32	27	15	11	
A.A.T. $\bar{X}$ =	77	101	134	110	40	38	5-45 U/ml
media=	45	65	120	85	40	35	
n=	17	27	38	25	15	12	
D.H.L. $\bar{X}$ =	245	335	766	750	373	218	100-350 U/ml
media=	300	350	800	640	350	240	

CUADRO 2

**HALLAZGOS ENZIMATICOS EN EL GRUPO "INFARTO" DURANTE  
LAS 6 HORAS POSTERIORES AL EVENTO**

Actividad enzimática	Presente en	No. Pacientes	%
Hiperactividad "primaria" D.H.L. 1-2	6	29	20,7
Hiperactividad D.H.L. 1-2** y D.H.L. Total "normal"	13	37	35
Hiperactividad D.H.L. 4-5 <sup>+</sup>	17	42	40,5
Hiperactividad "primaria" CFQ***	2	29	7
Pacientes con infarto y enzimas hiperactivas a las tres horas	13	28	54
Pacientes con infarto y enzimas hiperactivas a las seis horas	40	40	100

CUADRO 3

- \* Primera enzima que mostró hiperactividad
- \*\* Fracciones 1 y 2 de la deshidrogenasa láctica, bandas "Cardíacas"
- \*\*\*Creatina fosfoquinasa
- + Fracciones 4 y 5 de la deshidrogenasa láctica, bandas "Hepáticas"

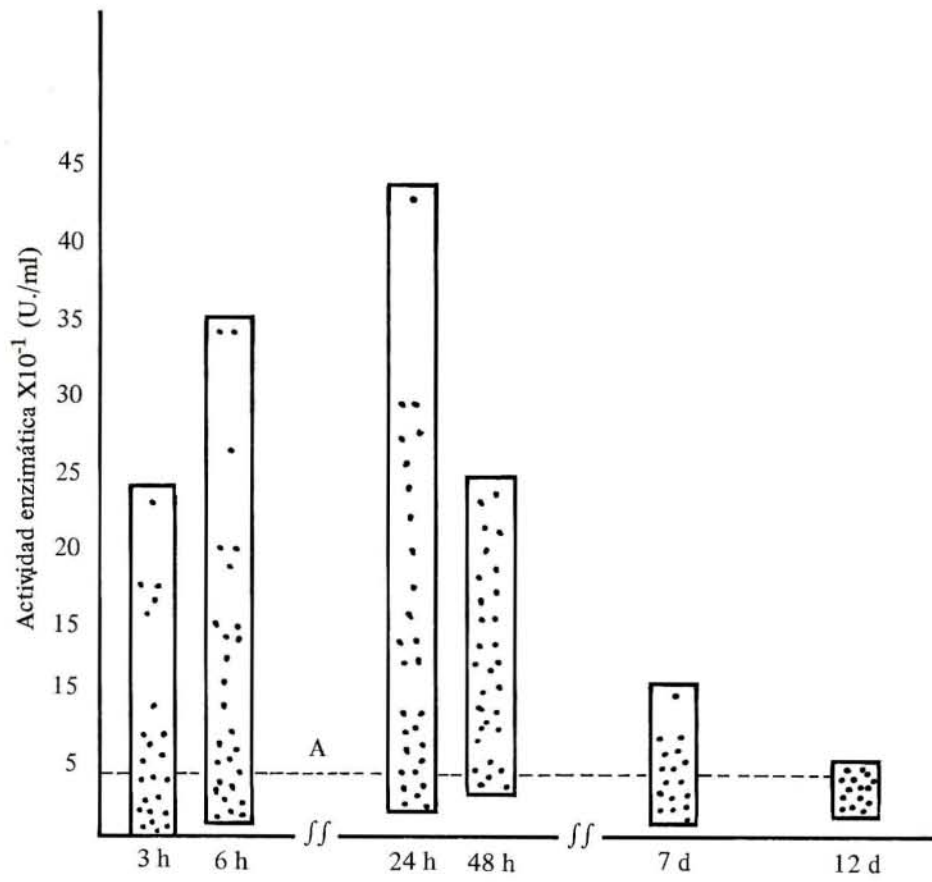


Fig. I Aspartato aminotransferasa  
 A= Límite superior normal  
 h= horas      d= días

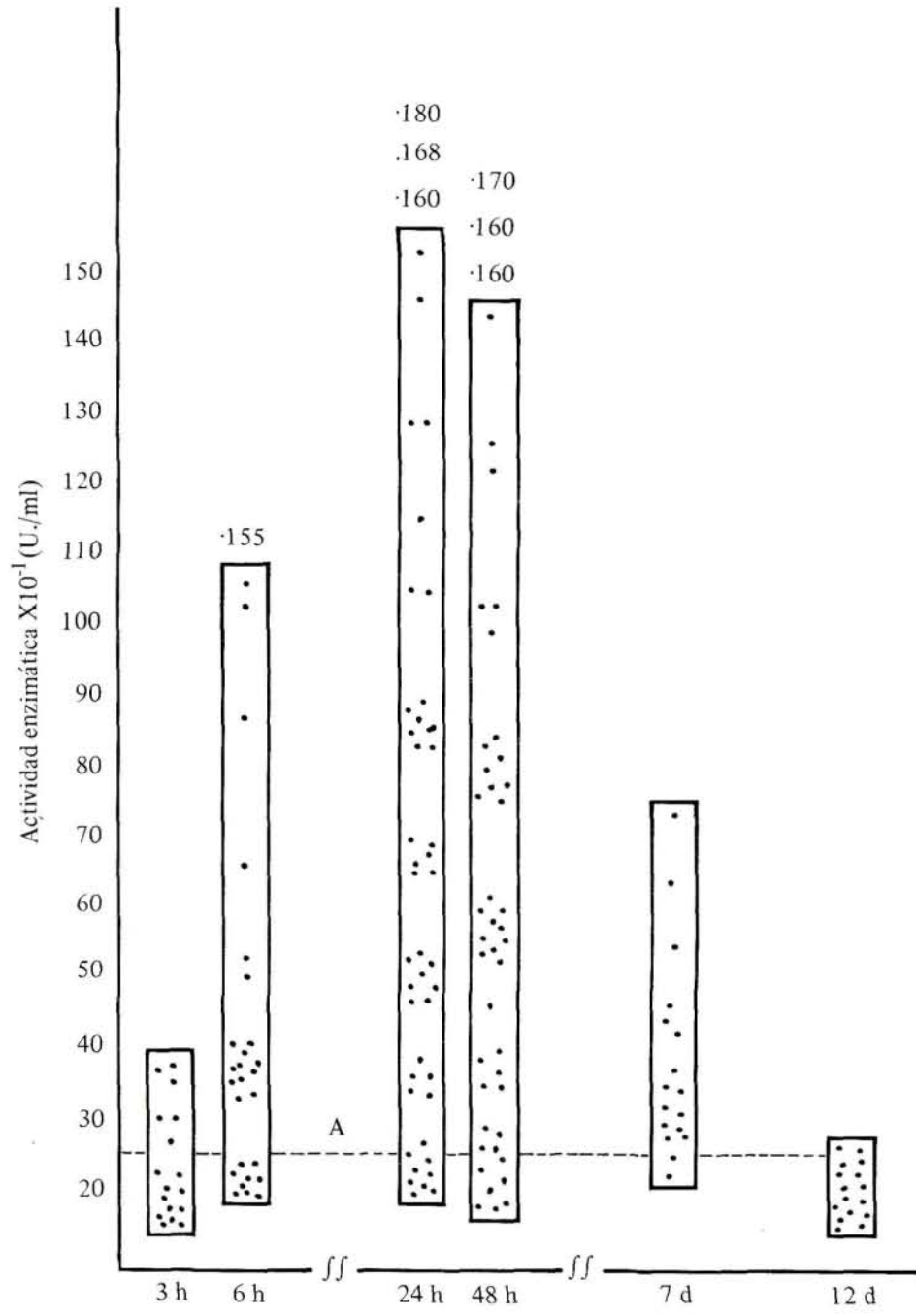


Fig. III Deshidrogenasa láctica sérica.  
 A = Límite superior normal  
 h = horas    d = días

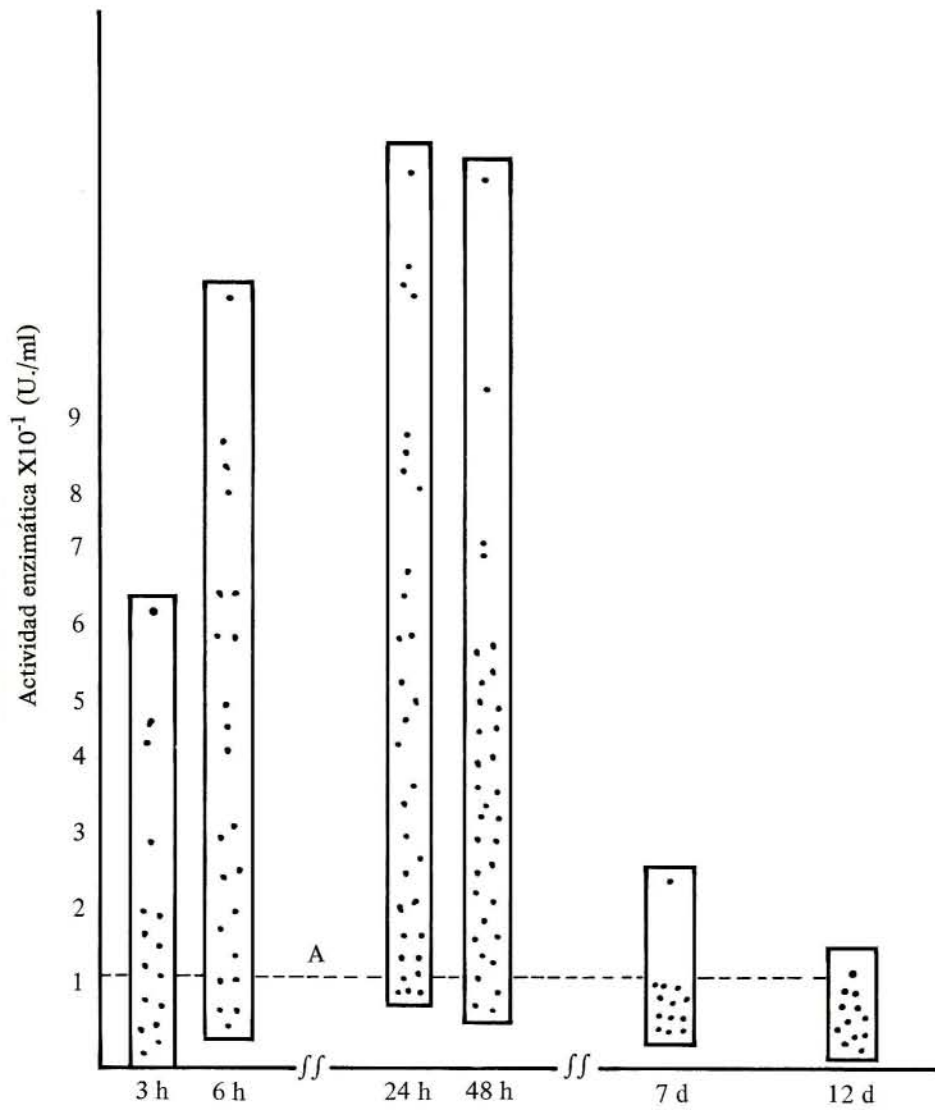
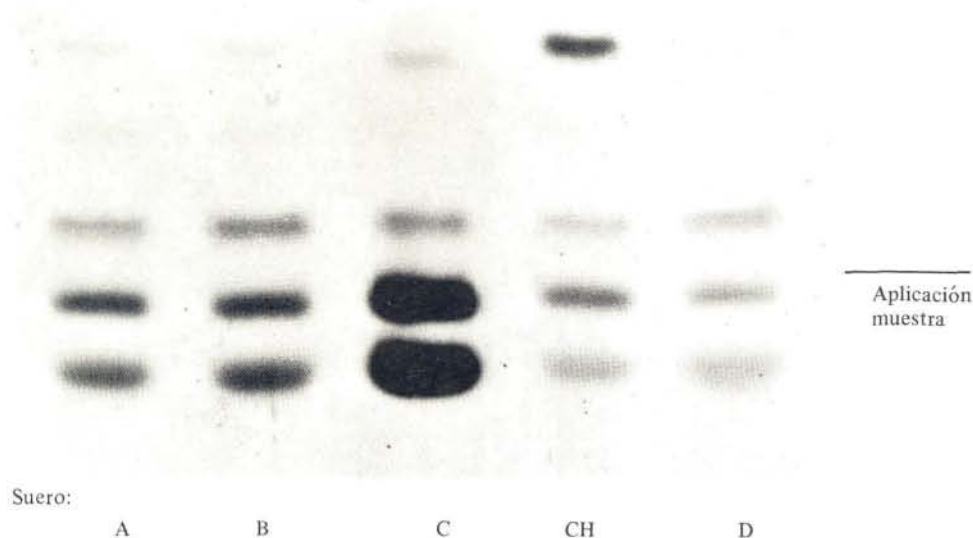


Fig. IV. Creatina fosfoquinasa  
 A= Límite superior normal  
 h= horas d= días



*Isoenzimogramas D.H.L. mostrando: a) control normal, b) hepatitis aguda (hiperactividad en banda 5 "hepática"), c) infarto al miocardio (hiperactividad bandas 1 y 2), sueros en posición CH y D representan infartos luego de cinco días de evolución (ligera hiperactividad en bandas 1 y 2). La banda 1 se ubica en la posición superior de la migración, la banda 5 en la inferior.*

## DISCUSION

Los pacientes que ingresaron con diagnóstico de posible infarto al miocardio, pero descartado éste cuando se dispuso de otros elementos diagnósticos, se tomaron como un grupo testigo, que representa al verdadero grupo de pacientes, cuyas manifestaciones clínicas, particularmente las circulatorias, representan el elemento sobre el cual debe establecerse el diagnóstico diferencial de infarto.

En el Cuadro 1 se resumen los hallazgos de laboratorio obtenidos con el grupo "testigo", dentro de lo cual se destaca una tendencia ascendente en los valores de C.F.O. sérica, de origen posiblemente iatrogénico, durante su estancia en la unidad coronaria. El promedio aritmético ( $\bar{X}$ ) del grupo en cuanto a aspartato amino transferasa, coincide con los valores normales reportados en la literatura (9) pero los valores límite son muy amplios, determinados por un grupo de 6 pacientes con hiperactividad para aspartato amino transferasa y que no presentaron infarto. Esta aberrancia de los valores margen determinó que fuera el más inespecífico de los recursos evaluados, aunque por análisis seriados no

se observaron tendencias compatibles con infarto.

En relación a Deshidrogenasa Láctica (Cuadro 1) se aprecia una notable constancia en los valores promedio y el rango.

Las actividades "normales" superior e inferior señaladas por el fabricante resultaron muy amplias cuando se aplicaron al grupo testigo, lo que confirma la necesidad de que cada laboratorio establezca parámetros estadísticos propios para sus métodos enzimáticos.

En el Cuadro 2 puede apreciarse como las dos enzimas que más rápidamente adquirieron significación diagnóstica lo fueron la aspartato amino transferasa y la creatina fosfoquinasa. Nótese que los tres sistemas enzimáticos alcanzan su hiperactividad máxima dentro de las 24-48 horas posteriores al infarto. Al sétimo día de éste, todas las enzimas excepto la D.H.L., habían formalizado su actividad. La D.H.L. recuperó su actividad normal entre el sétimo y el doceavo día.

En el Cuadro 3 se muestra un estudio comparativo entre actividad total de "enzimas cardíacas", versus isoenzimas de la D.H.L., del que se concluyen las ventajas que resultan del disponer de análisis isoenzimáticos



como el propuesto. El hecho de que un 35% de los pacientes con infarto presentaran hiperactividad sérica de las bandas uno y dos en asocio a D.H.L. total normal, demuestra que con este recurso se incrementa notablemente la sensibilidad diagnóstica, además de tratarse de un método virtualmente específico cuando se aplica a un paciente con posible infarto del miocardio (11).

Solamente dos pacientes de un grupo de 29 (cuadro 3) presentaron hiperactividad temprana de creatina fosfoquinasa sérica sin evidencias de hiperactividad en la primera zona de las isoenzimas. En la muestra siguiente de la serie (tres horas después), ambos pacientes presentaron hiperactividad de "primera zona".

Debido al elevado porcentaje de pacientes que mostraron congestión hepática (cuadro 3), o al menos hiperactividad en las bandas 4 y 5; debe enfatizarse que los métodos de elección son los electroforéticos y de separación en "columna", únicos recursos que permiten la observación directa y cuantificación de las cinco bandas de actividad D.H.L. sérica (7).

Los métodos de inactivación térmica e inhibición química (3), cuyos resultados dependen del predominio en la muestra de cadenas Tipo "H" o Tipo "M", pueden llevar a interpretaciones erróneas cuando se presenta hiperactividad simultánea por cadenas de ambos tipos (43,5% en el grupo estudiado, cuadro 3), ya que la compensación del equilibrio entre las especies moleculares presentes puede llevar a normalización de los porcentajes de inactivación térmica o química.

Un inconveniente de las técnicas de inhibición química (Formación de complejos ternarios DHL-NAD-piruvato (3) lo constituye la difícil estandarización de las técnicas que dependen de concentraciones muy críticas de la coenzima (coenzima I) y el sustrato (piruvato), además de otros factores inherentes a cualquier reacción enzimática (pH, temperatura, activadores, inhibidores, etc.)

En las figuras I, II y III se representa gráficamente los resultados obtenidos en todo el grupo del propositus que presentó infarto de miocardio. Dado que la hora del infarto no siempre pudo establecerse con certeza y en virtud de que se registró como la hora del mismo aquella anotada a su ingreso en la Unidad Coronaria (fundamentalmente en base al dolor precordial) algunas muestras (tres en el caso de C.F.Q.), a las 24 horas del momento anotado, mostraron valores bajo el límite

superior normal, lo que debe interpretarse como error en la determinación cronológica del evento y no a que esas enzimas estuviesen realmente normales a las 24 horas del mismo. En todos los pacientes estudiados del grupo "infarto", se logró demostrar hiperactividad sérica para los sistemas de enzimas e isoenzimas estudiados.

## CONCLUSIONES

La determinación de isoenzimas de la deshidrogenasa láctica, por el método propuesto, permite diagnósticos confirmatorios más tempranos que con los recursos convencionales de laboratorio. Antes que la deshidrogenasa láctica total alcance valores sobre el límite superior normal, es posible detectar aumentos isoenzimáticos confirmatorios de infarto del miocardio.

Las bandas cardíacas en los isoenzimogramas pueden ser hiperactivas antes que la creatina fosfoquinasa total supere el límite normal, con la ventaja de ser más específicas. El interés más relevante del método reside en su aplicación al diagnóstico confirmatorio de infarto al miocardio, el embolismo pulmonar y la enfermedad hepática, aunque, por la extensa distribución de la deshidrogenasa láctica en el organismo (3,9), en diversas condiciones clínicas es de utilidad.

Protocolos de muestras obtenidas en forma seriada para determinaciones enzimáticas rutinarias e isoenzimogramas electroforéticos, representan un conjunto valioso de recursos modernos de laboratorio, que deben estar a disposición del clínico para evaluar sus pacientes con procedimientos más sensibles y específicos.

## AGRADECIMIENTO

El presente estudio pudo efectuarse gracias a la eficiente colaboración del personal de enfermería de la Unidad Coronaria del Hospital San Juan de Dios.

El apoyo económico fue obtenido de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica y del International Center for Medical Research and Training, Louisiana State University.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- AGOSTINI, A., VERGANI, C., VILLA, I.: Intracelular Distribution of the different

- forms of lactic dehydrogenase. *Nature*, 209:1024,1966.
- 2.- ARQUEMBOURG, P., SALVAGGIO, J., BICKERS, J.: *Immuno-electrophoresis*, 2nd. Ed. New York, Karger, 1975.
  - 3.- BERNSTEIN, L., EVERSE, J., SHIOURA, N., RUSSELL, P.: Detection of cardiac Damage using a steady assay for Lactate Dehydrogenase isoenzymes in serum. *J. Mol. and Cellular Cardiology*, 6:297,1974.
  - 4.- CAHN, R., KAPLAN, N., LEVINE, L., ZWILLING, L.: Nature and development of lactic dehydrogenases. *Science*, 136:962, 1962.
  - 5.- GERSHBEIN, L., RAIKOFF, K.: Total lactate dehydrogenase and its isoenzymes in serum in the presence of penicillamine and other sulphhydryl compounds. *Clin. Chem.*, 23(2):229,1977.
  - 6.- MARKERT, C.: Lactate Dehydrogenase Isoenzymes: Dissociation and Recombination of subunits. *Science*, 140:1329,1963.
  - 7.- KONTTINEN, A., AUVINEN, S., SOMER, H.: Reliability of serum LD isoenzymes determinations in the diagnosis of myocardial infarction. *Clin. Chim. Acta.*, 52: 245,1974.
  - 8.- NEREMBERG, S.: *Electroforetic Screening Procedures*. U.S.A., Lea & Febiger, 1973.
  - 9.- REITMAN, S., Frankel, S.: Colorimetric Method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Amer. J. Clin. Pathol.*, 28:56,1957.
  - 10.- STABILINI, R. ET AL.: Lactate dehydrogenase and aspartate aminotransferase isoenzymes in normal and hypertrophic human heart. *Cardiology*, 55:28,1970.
  - 11.- STARKWEATHER, W., ET AL.: The electrophoretic separation of lactate dehydrogenase isoenzymes and their evaluation in clinical medicine. *J. Lab. & Clin. Med.*, 67(2):330,1966.
  - 12.- VESELL, E., BRODY, J.: Biological applications of lactic dehydrogenase isoenzymes: Certain methodological considerations. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121:544,1964.
  - 13.- WROBLEWSKI, F., GREGORY, K.: Lactic Dehydrogenase isoenzymes and their distribution in normal tissues and plasma in disease states, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 94:912, 1961.
  - 14.- WROBLEWSKI, F., LADUE, J.: Lactic Dehydrogenase Activity in blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 90:210,1955.