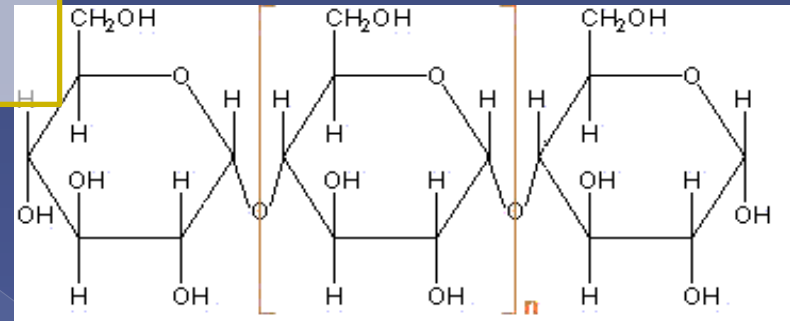


**α -AMILASA (1,4- α -D-glucano
glucanohidrolasa, EC 3.2.1.1)
y MACROAMILASA**

Sergio Gómez Vera
Farmacéutico Interno Residente
Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz

ACTIVIDAD α -amilasa

Hidrólisis de los enlaces alfa 1-4 del glucógeno y almidón para formar azúcares simples.



- Metaloenzimas, Ca^{2+} .
- Grupo alostérico:
 - Cl^-
 - Br^-
 - I^-
- pH óptimo: 6,9 - 7

FORMAS MOLECULARES, ISOENZIMAS

□ **Isoenzimas tipo-P** (P2, P3, P4, P5 y P6), específicas del **páncreas** (35-45% de la actividad plasmática total)



- >Pancreatitis aguda
- >Pancreatitis crónica recidivante
- >Hipoparatiroidismo
- >Glomerulonefritis.

□ **Isoenzimas tipo-S** (S2, S3, S4, S5 y S6), producidas principalmente por las **glándulas salivales**. También **ovario, pulmón, próstata, hígado, intestino delgado, riñón, etc.**



- >Parotiditis
- >Insuficiencia pancreática
- >Síndrome de Sjögren
- >Colelitiasis
- >Estrechamiento del conducto común
- >Ingestión de alcohol
- >Gastroenteritis aguda
- >Insuficiencia respiratoria aguda
- >Fracaso renal agudo
- >Cáncer de pulmón

FORMAS MOLECULARES, ISOENZIMAS y VARIANTE

□ Isoenzimas

	Isoenzimas tipo-P	Isoenzimas tipo-S
Masa molar	55000 g/mol	57000 g/mol (60000 g/mol glicosilada)
Punto Isoeléctrico	7,1	6,4-5,9

□ **Macroamilasa:** forma macromolecular de α -amilasa, con masa molar de entre 150000 y 2000000 g/mol.

Se distinguen tres tipos de complejos:

1. Complejos formados por polímeros de α -amilasa.
2. Complejos de α -amilasa e Ig, o con otras proteínas plasmáticas.
3. Complejos de α -amilasa con polisacáridos o con hidroxietilamidón.

MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE ISOENZIMAS

❑ Fraccionamiento:

- ❑ Separación electroforética
- ❑ Cromatografía en columna
- ❑ Isoelectroenfoque.
- ❑ Inhibición selectiva

❑ Cuantificación:

- ❑ Densitometría directa
- ❑ Técnicas amilocláticas
- ❑ Técnicas sacarogénicas

MÉTODOS ANALÍTICOS. Amilasa total en suero y orina

- Determinación de α -Amilasa sérica total en el Dimension del lab. urgencias (método enzimático colorimétrico).

Amilasa

Uso previsto: El método AMY utilizado en el sistema de química clínica Dimension® es una prueba de diagnóstico *in vitro* para la determinación cuantitativa de la actividad de la amilasa en suero, plasma y orina humanos.

Resumen: El método AMY del sistema Dimension® utiliza un sustrato cromogénico, 2-cloro-4-nitrofenol unido a maltotriosa.¹ La reacción directa de una α -amilasa con el sustrato produce la formación de 2-cloro-4 nitrofenol, que se mide mediante espectrofotometría. Las mediciones de amilasa se utilizan principalmente para el diagnóstico y el tratamiento de la pancreatitis. El método AMY responde a

La utilidad de un intervalo de referencia en U/L es limitada, ya que no tiene en cuenta el volumen de la muestra ni la eficacia del riñón. Se puede utilizar muestras de orina cronometradas para expresar el intervalo de referencia en U/24 h. El intervalo de referencia de orina también se puede expresar según la proporción de AMY/CREA en la orina.

Valores esperados (a 37 °C):

Suero:¹²

25 – 115 U/L

Orina:^{f,13}

59 – 401 U/24 hr

Tasa de depuración de AMY/CREA:^{9,14}

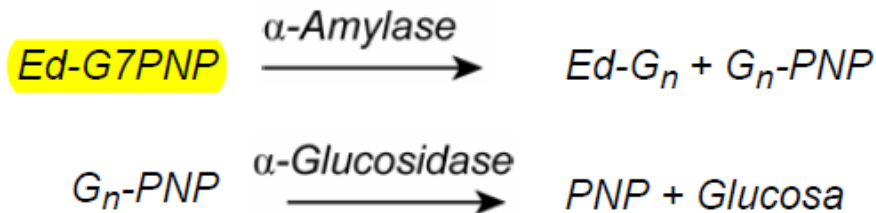
1.3 – 4.3%

MÉTODOS ANALÍTICOS. Amilasa total en suero y orina

- Determinación de amilasa sérica total en el Advia del laboratorio de rutina (método enzimático colorimérico).

El método ADVIA Chemistry AMYLAS utiliza como sustrato **p-nitrofenil-maltoheptaósido bloqueado con etilideno**. En este método también se emplea la enzima indicadora α -glucosidasa, utilizada para liberar el *p*-nitrofenol. La glucosa terminal del sustrato se bloquea químicamente para evitar su escisión por la acción de las enzimas indicadoras. **El *p*-nitrofenol liberado se mide a 410/694 nm.**

Ecuación de la reacción



Valores esperados

Los valores esperados para el método ADVIA Chemistry AMYLAS están comprendidos entre **30 y 118 U/l para suero y plasma⁴, y ≤ 650 U/l para orina⁵.**

MÉTODOS ANALÍTICOS. Amilasa total en suero y orina

❑ Muestras:

- Suero o plasma (con heparina de litio) u orina.
- No utilizar EDTA, citrato y oxalato.

❑ Interferentes:

- Bilirrubina
- Hemólisis (Hemoglobina)
- Lipemia

INTERPRETACIÓN

- | | |
|-----------------------------------|------------------------------------|
| >Pancreatitis aguda | >Estrechamiento del conducto común |
| >Pancreatitis crónica recidivante | >Ingestión de alcohol |
| >Hipoparatiroidismo | >Gastroenteritis aguda |
| >Glomerulonefritis. | >Insuficiencia respiratoria aguda |
| >Parotiditis | >Fracaso renal agudo |
| >Insuficiencia pancreática | >Cáncer de pulmón |
| >Síndrome de Sjögren | |
| >Colelitiasis | |

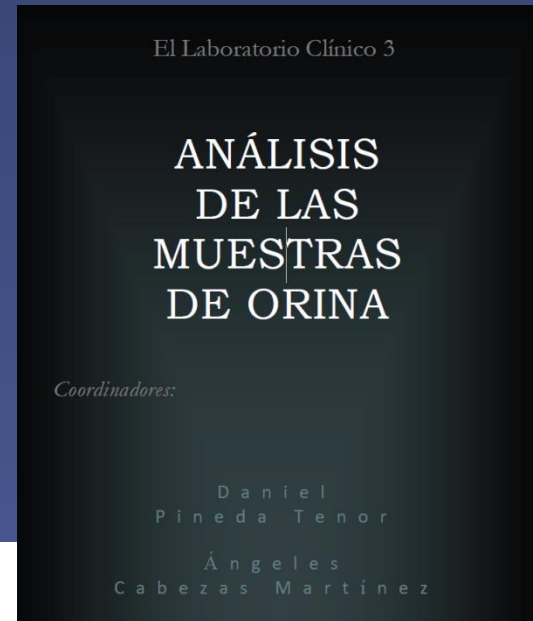


AMILASA

❑ Pancreatitis aguda:

- ❑ La amilasa sérica se eleva dentro de las 6-48 horas.
- ❑ Retorna a la normalidad a los 3 o 5 días en los pacientes con formas edematosas leves. Valores elevados persistentes sugieren una necrosis o pseudoquiste.
- ❑ La actividad de amilasa en orina se eleva de forma precoz, y puede permanecer elevada una vez la amilasa sérica ha vuelto a la normalidad.

INTERPRETACIÓN



Amilasuria

La determinación de amilasa en orina es otro de los parámetros urinarios más utilizados en el laboratorio de urgencias.

Su aumento refleja los cambios séricos con un intervalo de tiempo de 6-10 horas, aunque los valores urinarios a veces están más elevados que en suero. **Es útil en el caso de sospecha de pancreatitis aguda**, aunque existan parámetros séricos más útiles para el diagnóstico, como la amilasa y la lipasa séricas. Además puede utilizarse en casos de hiperlipidemia, en los que la amilasemia es normal, pero la amilasuria está elevada.

Sin embargo se trata de un parámetro muy poco específico, ya que puede aumentar en casos de quemaduras graves, cetoacidosis diabética, insuficiencia renal crónica, mieloma múltiple y perforación duodenal aguda.

Por lo tanto, en muchas revisiones, ya no se incluye medir la amilasuria para diagnóstico de pancreatitis. Acaso podría ser útil en el seguimiento de la enfermedad, y por supuesto, no como solicitud urgente.

MACROAMILASA. Tipos.

Forma macromolecular de α -amilasa, 150000 y 2000000 g/mol.

Según composición:

1. Polimeros de α -amilasa.
2. α -amilasa e Ig, o unidas a otras proteínas plasmáticas.
3. α -amilasa y polisacáridos o con hidroxietilamidón.

Según criterios analíticos (clasificación de Fridhandler y Berk):

Tipo	α -amilasa (plasma)	α -amilasa (orina)	Cociente concentración catalítica plasmática Macroamilasa/amilasa
1	↑↑	Baja	ALTO
2	↑	Referencia o ↓	BAJO
3	Referencia	Referencia	BAJO

MACROAMILASA. Significación clínica.

-La presencia de una macroamilasa no está claramente asociada a una enfermedad orgánica específica.

El **principal interés** de la **detección de la macroamilasa**, es la necesidad de **diferenciarla de la** verdadera elevación patológica de la concentración de α -amilasa, la **pancreatitis aguda**.

El aumento de α -amilasa en suero debido a la presencia de macroamilasa puede llevar a un diagnóstico erróneo de pancreatitis aguda en aquellos pacientes con dolor abdominal y vómitos.

MACROAMILASA. Diagnóstico.

Diagnóstico diferencial de hiperamilasemia y macroamilasemia

Afección	Amilasa sérica	Lipasa sérica	Amilasa urinaria	CI Amilasa/ Creatinina	Macroamilasemia sérica
Hiperamilasemia pancreática	Alta	Alta	Alta	Alta	Ausente
Hiperamilasemia salival	Alta	Normal	Baja o normal	Baja o normal [1-4%]	Ausente
Macroamilasemia tipo 1	Alta	Normal	Baja	Muy Baja [<1 %]	Alta
Macroamilasemia tipo 2	Alta	Normal	Baja o normal	Baja	Moderada
Macroamilasemia tipo 3	Normal	Normal	Normal	Baja o normal	Trazas

MACROAMILASA. Diagnóstico.

Diagnóstico diferencial de hiperamilasemia y macroamilasemia

Afección	Amilasa sérica	Lipasa sérica	Amilasa urinaria	CI Amilasa/ Creatinina	Macroamilasemia sérica
Hiperamilasemia pancreática	Alta	Alta	Alta	Alta	Ausente
Hiperamilasemia salival	Alta	Normal	Baja o normal	Baja o normal [1-4%]	Ausente
Macroamilasemia tipo 1	Alta	Normal	Baja	Muy Baja [<1 %]	Alta
Macroamilasemia tipo 2	Alta	Normal	Baja o normal	Baja	Moderada
Macroamilasemia tipo 3	Normal	Normal	Normal	Baja o normal	Trazas

MACROAMILASA. Diagnóstico.

Diagnóstico diferencial de hiperamilasemia y macroamilasemia

Afección	Amilasa sérica	Lipasa sérica	Amilasa urinaria	CI Amilasa/ Creatinina	Macroamilasemia sérica
Hiperamilasemia pancreática	Alta	Alta	Alta	Alta	Ausente
Hiperamilasemia salival	Alta	Normal	Baja o normal	Baja o normal [1-4%]	Ausente
Macroamilasemia tipo 1	Alta	Normal	Baja	Muy Baja [<1 %]	Alta
Macroamilasemia tipo 2	Alta	Normal	Baja o normal	Baja	Moderada
Macroamilasemia tipo 3	Normal	Normal	Normal	Baja o normal	Trazas

MACROAMILASA. Diagnóstico.

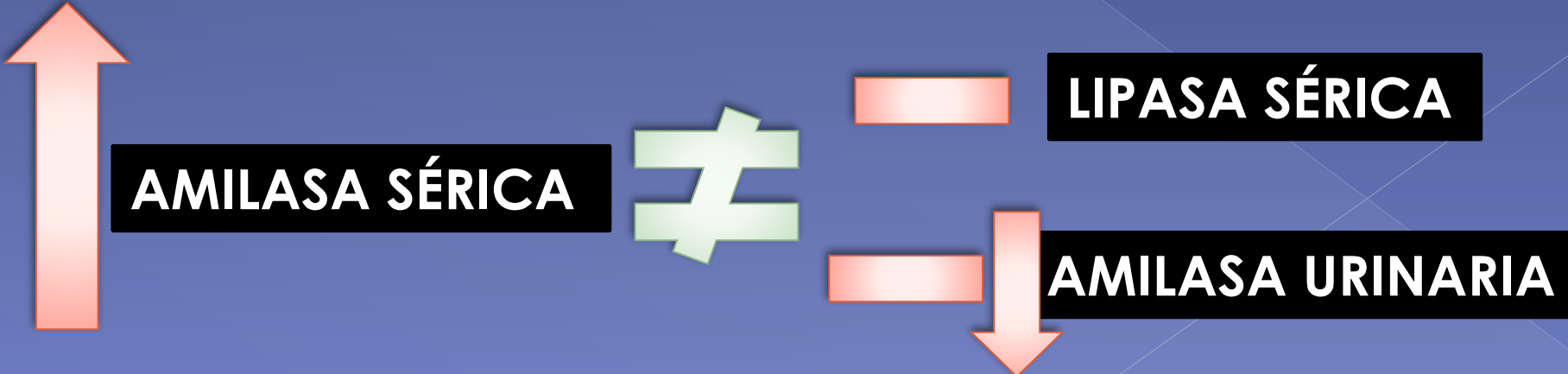
Diagnóstico diferencial de hiperamilasemia y macroamilasemia

Afección	Amilasa sérica	Lipasa sérica	Amilasa urinaria	CI Amilasa/ Creatinina	Macroamilasemia sérica
Hiperamilasemia pancreática	Alta	Alta	Alta	Alta	Ausente
Hiperamilasemia salival	Alta	Normal	Baja o normal	Baja o normal [1-4%]	Ausente
Macroamilasemia tipo 1	Alta	Normal	Baja	Muy Baja [<1 %]	Alta
Macroamilasemia tipo 2	Alta	Normal	Baja o normal	Baja	Moderada
Macroamilasemia tipo 3	Normal	Normal	Normal	Baja o normal	Trazas

MACROAMILASA. Diagnóstico.

Diagnóstico diferencial de hiperamilasemia y macroamilasemia

Afección	Amilasa sérica	Lipasa sérica	Amilasa urinaria	CI Amilasa/ Creatinina	Macroamilasemia sérica
Hiperamilasemia pancreática	Alta	Alta	Alta	Alta	Ausente
Hiperamilasemia salival	Alta	Normal	Baja o normal	Baja o normal [1-4%]	Ausente
Macroamilasemia tipo 1	Alta	Normal	Baja	Muy Baja [<1 %]	Alta
Macroamilasemia tipo 2	Alta	Normal	Baja o normal	Baja	Moderada
Macroamilasemia tipo 3	Normal	Normal	Normal	Baja o normal	Trazas



AMILASA SÉRICA



LIPASA SÉRICA

AMILASA URINARIA

MACROAMILASA. Diagnóstico.

Diagnóstico diferencial de hiperamilasemia y macroamilasemia

Afección	Amilasa sérica	Lipasa sérica	Amilasa urinaria	CI Amilasa/ Creatinina	Macroamilasemia sérica
Hiperamilasemia pancreática	Alta	Alta	Alta	Alta	Ausente
Hiperamilasemia salival	Alta	Normal	Baja o normal	Baja o normal [1-4%]	Ausente
Macroamilasemia tipo 1	Alta	Normal	Baja	Muy Baja [<1 %]	Alta
Macroamilasemia tipo 2	Alta	Normal	Baja o normal	Baja	Moderada
Macroamilasemia tipo 3	Normal	Normal	Normal	Baja o normal	Trazas

$$\frac{\text{Amilasa urinaria} / \text{Amilasa Sérica}}{\text{Creatinina urinaria} / \text{Creatinina Sérica}} \times 100$$

$$\frac{\text{Amilasa urinaria} \times \text{Creatinina Sérica}}{\text{Amilasa Sérica} \times \text{Creatinina urinaria}} \times 100$$

MACROAMILASA. Diagnóstico.

Diagnóstico diferencial de hiperamilasemia y macroamilasemia

Afección	Amilasa sérica	Lipasa sérica	Amilasa urinaria	CI Amilasa/ Creatinina	Macroamilasemia sérica
Hiperamilasemia pancreática	Alta	Alta	Alta	Alta	Ausente
Hiperamilasemia salival	Alta	Normal	Baja o normal	Baja o normal [1-4%]	Ausente
Macroamilasemia tipo 1	Alta	Normal	Baja	Muy Baja [<1 %]	Alta
Macroamilasemia tipo 2	Alta	Normal	Baja o normal	Baja	Moderada
Macroamilasemia tipo 3	Normal	Normal	Normal	Baja o normal	Trazas



AMILASA



**†
1/2**

~~SÍNTOMAS~~

MACROAMILASA. Métodos de identificación.

❑ Electroforesis.

- ❑ Banda única con menor movilidad.
- ❑ Difícil distinción del resto de isoformas.

❑ Cromatografía.

- ❑ Cromatografía de filtración sobre gel en columna es el procedimiento más utilizado para la detección y estudio de las macroamilasas.

❑ Precipitación.

- ❑ Precipitación selectiva con Polietilenglicol 6000 > 73 %

MACROAMILASA. Métodos de identificación.

❑ Electroforesis.

- ❑ Banda única con menor movilidad.
- ❑ Difícil distinción del resto de isoformas.

❑ Cromatografía.

- ❑ Cromatografía de filtración sobre gel en columna es el procedimiento más utilizado para la detección y estudio de las macroamilasas.

❑ Precipitación.

- ❑ Precipitación selectiva con Polietilenglicol 6000 > 73 %

MACROAMILASA. Métodos de identificación.

❑ Electroforesis.

- ❑ Banda única con menor movilidad.
- ❑ Difícil distinción del resto de isoformas.

❑ Cromatografía.

- ❑ Cromatografía de filtración sobre gel en columna es el procedimiento más utilizado para la detección y estudio de las macroamilasas.

❑ Precipitación.

- ❑ Precipitación selectiva con Polietilenglicol 6000 > 73 %

MACROAMILASA. Métodos de identificación.

❑ Electroforesis.

- ❑ Banda única con menor movilidad.
- ❑ Difícil distinción del resto de isoformas.

❑ Cromatografía.

- ❑ Cromatografía de filtración sobre gel en columna es el procedimiento más utilizado para la detección y estudio de las macroamilasas.

❑ Precipitación.

- ❑ Precipitación selectiva con Polietilenglicol 6000 > 73 %

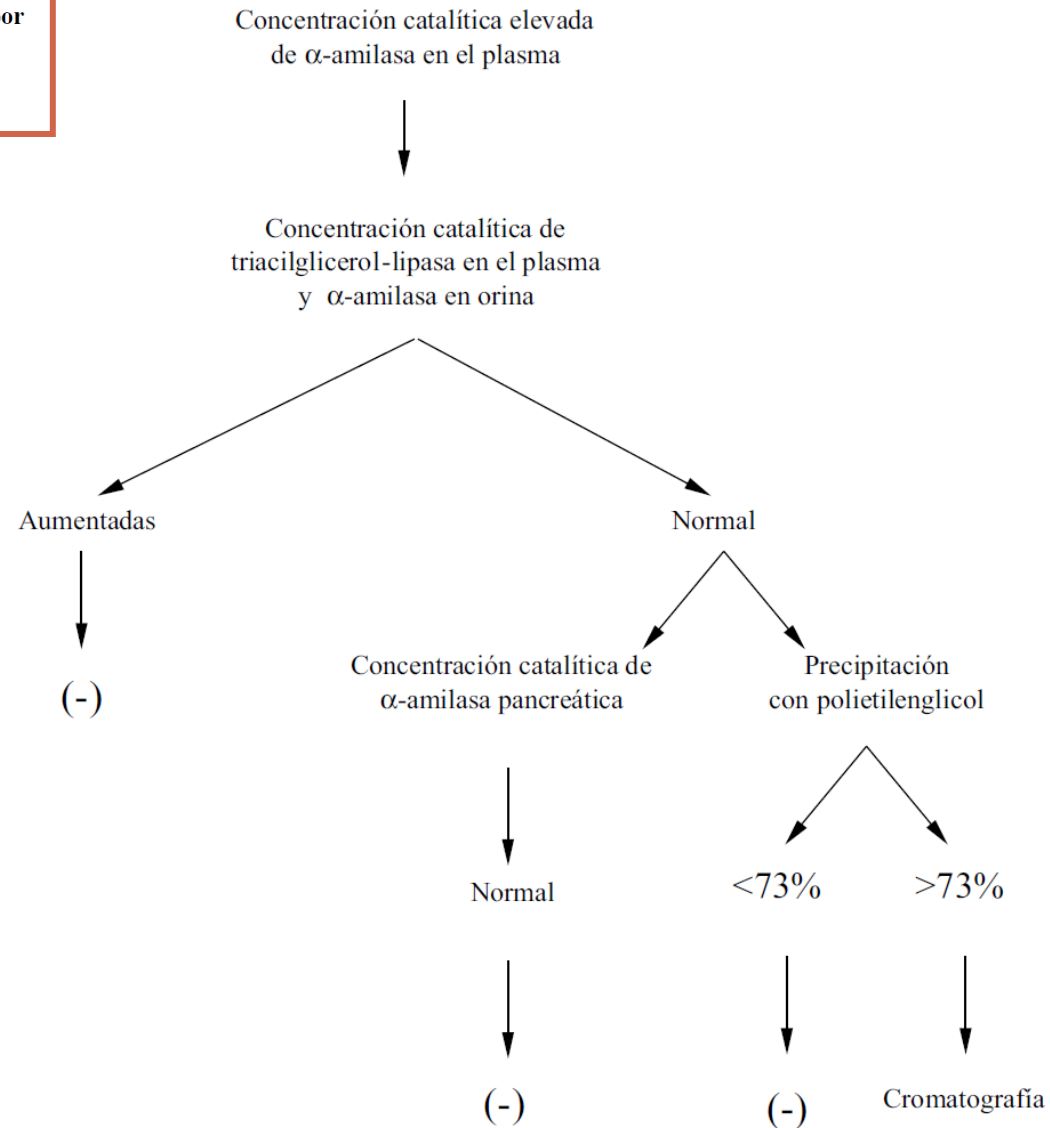
MACROAMILASA. Métodos de identificación.

Documento

QUÍMICA CLÍNICA 2002; 21 (2) 74-79

Recomendaciones para la detección y estudio de las interferencias por macroamilasas en la determinación de α -amilasa

Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular
Comité Científico
Comisión de Interferencias y Efectos de los Medicamentos en Bioquímica Clínica¹



MACROAMILASA. Incidencia.

- ❖ 1,05 % en pacientes seleccionados aleatoriamente.
- ❖ 2,56 % entre personas con hiperamilasemias .
- ❖ 0,98% en personas con amilasa sérica normal.

MACROAMILASA. Recomendaciones SEQC

1. Sospechar cuando se observan elevaciones de la concentración catalítica de α -amilasa en plasma con valores de las restantes enzimas pancreáticas dentro de los límites de referencia o α -amilasa en la orina dentro de los límites de referencia.
2. Excreción fraccional de α -amilasa respecto a creatinino menor del 1 %.
3. La interferencia producida por las macroamilasas en la medida de la concentración catalítica de la α -amilasa se puede evitar con la medida de la concentración catalítica de la α -amilasa pancreática.

MACROAMILASA. Recomendaciones SEQC

4. La correcta identificación de se realizará mediante el procedimiento del Anexo A.
5. Se elige un valor discriminante de 73% para el método de precipitación con polietilenglicol 6000, aunque es recomendable que cada laboratorio establezca su propio valor discriminante.
6. La cromatografía es más compleja, por lo que la identificación de la composición puede no estar al alcance de todos los laboratorios.

MACROAMILASA. Caso clínico.

Antecedentes personales

Fumador de 2 cigarrillos diarios. No bebedor.

Enfermedad actual

Varón de 33 años, que acude a urgencias por dolor opresivo centrotorácico, en reposo no irradiado. Sensación disnéica, sin náuseas ni vómitos. No sudoración. No sensación distérmica. No semiología de infección respiratoria. No síndrome miccional. No alteraciones del hábito intestinal. No coluria ni acolia. No ictericia.

Exploración física:

Buen estado general. No se palpa bocio ni adenopatías. Murmullo vesicular conservado. Auscultación cardíaca: tonos rítmicos, sin soplos. Abdomen: blando, depresible, molestias a la palpación en hemiabdomen superior, sin signos de irritación peritoneal. Murphy y Blumberg negativos. Extremidades: pulsos, tono, fuerza muscular y reflejos normales

MACROAMILASA. Caso clínico.

Analítica y otras pruebas:

Hemograma y coagulación: normal.

Bioquímica: GPT 43 U/L, **Amilasemia: 379 U/L.**, resto normal.

Orina:

Creatinina: 260 mg/dL

Urea: 2540 mg/dL,

Sodio: 144 mmol/L

Potasio: 83,2 mmol/L

Amilasa: 383 U/L.

Dimero D: negativo.

Troponinas: 0

ECG: normal.

Rx tórax y Rx abdomen normal.

Ecografía abdominal normal

MACROAMILASA. Caso clínico.

Diagnóstico diferencial:

- ☐ Pancreatitis.
- ☐ Herpes Zoster inicial.
- ☐ Macroamilasemia.

Informe de Alta

En resumen, varón de 33 años, sin antecedentes de interés, salvo lumbalgia en los días previos, por la que ha tomado diclofenaco según refiere al menos 2-3 comprimidos, además de Nolotil.

Ingresa desde urgencias por dicho dolor y elevación aislada de amilasa de 379, sin clínica digestiva ni sugestiva de pancreatitis aguda

Durante el ingreso se descartan causas habituales de pancreatitis aguda, salvo toma de AINEs y el paciente continúa asintomático desde punta de vista digestivo, a pesar de mantener cifras de amilasa elevadas en mismo rango que al ingreso por lo que al alta se decide completar estudio ambulatorio de macroamilasemia (solicitados conteo de isoenzimas y orina de 24 h para realizar aclaramiento creatinina/amilasa) Se entrega volante de analítica que se realizará en su Centro de Salud

Además queda pendiente de realizar TAC abdomen para descartar patología a nivel de glándula pancreática (ecografía abdominal normal al ingreso)

Además el paciente refiere previo al ingreso y posterior al ingreso dolor a punta de dedo en parrilla costal izquierda y sensación intermitente de hormigueos en MMSS por lo que se han realizado Rx costales y de columna cervical (simple, en flexión y en extensión laterales) sin hallazgos patológicos y ha sido valorado por Neurología descartando patología por su parte

Asimismo se han solicitado CMV VHS VVZ pendiente de recibir resultados por si se tratase de herpes zoster inicial

MACROAMILASA. Caso clínico.

SERVICIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

Bioquímica en suero

GLUCOSA	91	mg/dl	(65 - 110)
UREA	39	mg/dl	(12 - 50)
CREATININA	1.1	mg/dl	(0.5 - 1.3)
Filtrado glomerular estimado (MDRD-4)	> 60	mL/min	(Sup. 60)
ACIDO URICO	4.7	mg/dl	(3.5 - 7.2)
COLESTEROL TOTAL	190	mg/dl	(50 - 200) Límite recomendado.
HDL COLESTEROL	39	mg/dl	(35 - 55)
COLESTEROL LDL (calculado)	115	mg/dl	(10 - 175) Límite recomendado.
TRIGLICERIDOS	182	* mg/dl	(35 - 175) Límite recomendado.
PROTEINAS TOTALES	7.6	g/dl	(6.6 - 8.7)
ALBUMINA	4.6	g/dl	(3.2 - 4.8)
BILIRRUBINA TOTAL	0.3	mg/dl	(0.2 - 1.2)
BILIRRUBINA DIRECTA	0.1	mg/dl	(0.1 - 0.35)
SODIO	139	mmol/l	(135 - 145)
POTASIO	4.5	mmol/l	(3.5 - 5.1)
CLORO	99	mmol/l	(98 - 107)
FOSFORO	4.3	mg/dl	(2.7 - 4.5)
CALCIO	9.7	mg/dl	(8.6 - 10.4)
CALCIO CORREGIDO por albúmina	9.22	mg/dL	(8.6 - 10.4)
CPK	73	UI/l	(38 - 190)
LDH	297	UI/l	(230 - 480)
GOT/AST	19	UI/l	(5 - 38)
GPT/ALT	26	UI/l	(5 - 41)
GAMMA-GT	21	UI/l	(8 - 61)
FOSFATASA ALCALINA	81	UI/l	(40 - 129)
AMILASA	380	* UI/l	(30 - 118)

MACROAMILASA. Caso clínico.

Bioquímica en orina

VOLUMEN ORINA 24 HORAS	3000	*	ml	(500 - 2000)
CREATININA	87		mg/dl	
Creatinina en 24 horas	2610.00	*	mg/24h	(800 - 2000)
AMILASA	110		U/l	
Amilasa en 24 horas	330.00		U/24h	(0 - 410)
ACLARAMIENTO DE CREATININA	164.77	*	ml/min	(85 - 125)
Aclaramiento de Amilasa	0.37	*	%	(1 - 5)

En pancreatitis aguda los valores son superiores al 8%. En macroamilasemia los valores son inferiores al 1%.

MACROAMILASA. Caso clínico.

Laboratorios Externos

LIPASA	52	U/L	(7 - 60)
Fracción S2 de la amilasa (salivar)	---		(35 - 61)
Fracción P2 de la amilasa (pancreática)	---		(26 - 58)
Macroamilasa			
Compatible con presencia de macroamilasa.			
Fracción S3 + S4 de la amilasa	---		(3 - 16)
Fracción S3+S4 (salivar)	3,0 - 16,0	%	
Fracción S2 (salivar)	35,0 - 61,0	%	
Fracción P2 (pancreática)	26,0 - 58,0	%	

BIBLIOGRAFÍA

Documento

QUÍMICA CLÍNICA 2002; 21 (2) 74-79

Recomendaciones para la detección y estudio de las interferencias por macroamilasas en la determinación de α -amilasa

Documento

QUÍMICA CLÍNICA 1996; 15 (1): 51-52

Procedimiento recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de α -amilasa en suero sanguíneo humano

Macroamilasemia en pediatría

A. Torrent Vernetta^a, O. Segarra Cantón^a, P. Soler Palacín^b, R.M. Segura Cardona^c
y D. Infante Pina^a

^aUnitat de Gastroenterologia, Hepatologia i Suport a la Nutrició Pediàtrica. ^bUnitat de Malalties Infeccioses i Immunodeficiències Pediàtriques. ^cLaboratoris Clínics. Servei de Bioquímica. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. España.

El Laboratorio Clínico 3

ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE ORINA

Coordinadores:

Daniel
Pineda Tenor
Ángeles
Cabezas Martínez

