



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y**  
**ZOOTECNIA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y**  
**ZOOTECNIA**



**ACTIVIDAD ENZIMÁTICA SANGUÍNEA EN EL**  
**ADENOCARCINOMA PULMONAR OVINO (APO) DEL CENTRO**  
**EXPERIMENTAL CAROLINA DE LA UNA-PUNO (4,000 M S.N.M.)**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**DAVID MARINO BELIZARIO BELIZARIO**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**PUNO – PERÚ**

**2024**



NOMBRE DEL TRABAJO

**ACTIVIDAD ENZIMÁTICA SANGUÍNEA EN EL ADENOCARCINOMA PULMONAR O VINO (APO) DEL CENTRO EXPERIMENTAL CAR**

AUTOR

**DAVID MARINO BELIZARIO BELIZARIO**

RECuento de palabras

**12874 Words**

RECuento de caracteres

**69636 Characters**

RECuento de páginas

**92 Pages**

Tamaño del archivo

**6.3MB**

Fecha de entrega

**Jun 5, 2024 10:37 AM EST**

Fecha del informe

**Jun 5, 2024 10:39 AM EST**

● **18% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 18% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 4% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado
- Bloques de texto excluidos manualmente
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 20 palabras)



Firmado digitalmente por COILA  
ANASCO Pedro Ubaldo FAU  
20145496170 hard  
Motivo: Soy el autor del documento  
Fecha: 05.06.2024 10:48:53 -05:00



Firmado digitalmente por COILA  
ANASCO Pedro Ubaldo FAU  
20145496170 hard  
Motivo: Soy el autor del documento  
Fecha: 05.06.2024 10:49:10 -05:00



## DEDICATORIA

*A la madre de mis hijos, tu amor y apoyo han sido la base nuestro hogar, esta tesis es un tributo a la colaboración como paciencia y comprensión que ha brindado a lo largo de este viaje académico. Gracias por ser un pilar de fortaleza y ejemplo para nuestros hijos. Tu presencia en mi vida es un precio invaluable y este logro es nuestro en equipo.*

*David Marino*



## AGRADECIMIENTOS

*Primeramente agradezco a la UNA – Puno, por haberme aceptado ser parte de ella y abierto las puertas de su seno científico para poder estudiar mi carrera, así también a todos los maestros de la FMVZ., que brindaron sus conocimientos y experiencias.*

*Agradezco también a mi asesor de tesis de tesis Dr. Pedro Ubaldo Coila Añasco, por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científicos.*

*Así también por haberme tenido toda la paciencia para guiarme durante el desarrollo de la tesis.*

***David Marino***



# ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
<b>DEDICATORIA</b>	
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	
<b>ÍNDICE GENERAL</b>	
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b>	
<b>ACRÓNIMOS</b>	
<b>RESUMEN .....</b>	<b>12</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>INTRODUCCIÓN</b>	
<b>1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>16</b>
1.1.1. Objetivo general .....	16
1.1.2. Objetivos específicos.....	16
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	
<b>2.1. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>17</b>
2.1.1. El ganado ovino en el Perú y su importancia .....	17
2.1.2. El adenocarcinoma pulmonar ovino (APO) .....	18
2.1.3. El perfil metabólico .....	24



2.1.4. Cambios metabólicos durante el cáncer .....	25
2.1.5. Enzimas plasmáticas y marcadores enzimáticos .....	27
<b>2.2. ANTECEDENTES .....</b>	<b>32</b>
<b>CAPÍTULO III</b>	
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
<b>3.1. LUGAR DE ESTUDIO .....</b>	<b>38</b>
<b>3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL .....</b>	<b>38</b>
3.2.1. Animales.....	38
3.2.2. Materiales y equipos.....	38
<b>3.3. MÉTODOS .....</b>	<b>40</b>
3.3.1. Selección de animales .....	40
3.3.2. Obtención de sangre, suero y conservación .....	41
3.3.3. Procesamiento de muestras .....	41
<b>3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....</b>	<b>43</b>
<b>CAPÍTULO IV</b>	
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
<b>4.1. ALANINA TRANSAMINASA (ALT).....</b>	<b>44</b>
<b>4.2. FOSFATASA ALCALINA (ALP) .....</b>	<b>47</b>
<b>4.3. AMILASA .....</b>	<b>50</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>52</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>53</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>54</b>



**ANEXOS ..... 60**

**Área: Salud animal.**

**Tema: Variaciones en la actividad enzimática en el APO.**

**FECHA DE SUSTENTACIÓN: 06 de junio de 2024**



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Estadísticos descriptivos de la actividad de algunas enzimas séricas de la raza Xisqueta. ....	34
<b>Tabla 2.</b>	Valores de referencia de la actividad enzimática de algunas enzimas en ovinos. ....	36
<b>Tabla 3.</b>	Estadísticos descriptivos de la AE de la fosfatasa alcalina (ALP) (UI/L) en ovinos Corriedale con y sin APO del C.E. Carolina. ....	48
<b>Tabla 4.</b>	Estadísticos descriptivos de la AE de la amilasa (UI/L) en ovinos Corriedale con y sin APO del C.E. Carolina. ....	50



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Medias y barras de E.E. para la AE de la ALT (UI/L) en ovinos Corriedale del C.E. Carolina según condición.....	45
<b>Figura 2</b>	Medias y barras de E.E. para la AE de la ALP (UI/L) en ovinos Corriedale del C.E. Carolina según condición.....	48
<b>Figura 3</b>	Medias y barras de E.E. para la AE de la amilasa (UI/L) en ovinos Corriedale del C.E. Carolina según condición.....	50



## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO 1:</b> Ilustración 1: 10x .....	61
<b>ANEXO 2:</b> Resultados de la actividad enzimática en suero sanguíneo de ovinos Corriedale del C.E. Carolina según condición de salud.....	65
<b>ANEXO 3:</b> Prueba de normalidad Q-Q plot (prueba de Shapiro-Francia) para ALT en ovinos Corriedale del C.E. Carolina .....	66
<b>ANEXO 4:</b> Prueba de homogeneidad de varianzas para para ALT en ovinos Corriedale del C.E. Carolina.....	66
<b>ANEXO 5:</b> Análisis de la varianza y prueba de Tukey para para ALT en ovinos Corriedale del C.E. Carolina.....	67
<b>ANEXO 6:</b> Prueba de normalidad Q-Q plot (prueba de Shapiro-Francia) para ALP en ovinos Corriedale del C.E. Carolina .....	69
<b>ANEXO 7:</b> Prueba de homogeneidad de varianzas para ALP en ovinos Corriedale del C.E. Carolina.....	69
<b>ANEXO 8:</b> Análisis de la varianza y prueba de Tukey para ALP en ovinos Corriedale del C.E. Carolina.....	70
<b>ANEXO 9:</b> Prueba de normalidad Q-Q plot (prueba de Shapiro-Francia) para amilasa en ovinos Corriedale del C.E. Carolina .....	72
<b>ANEXO 10:</b> Prueba de homogeneidad de varianzas para para amilasa en ovinos Corriedale del C.E. Carolina.....	72
<b>ANEXO 11:</b> Análisis de la varianza y prueba de Tukey para para amilasa en ovinos Corriedale del C.E. Carolina.....	73
<b>ANEXO 12:</b> Medidas resumen de parámetros hematológicos .....	75
<b>ANEXO 13:</b> Declaración jurada de autenticidad .....	91
<b>ANEXO 14:</b> Autorización para el depósito de tesis o trabajo de investigación en el Repositorio Institucional.....	92



## ACRÓNIMOS

APO	Adenocarcinoma Pulmonar Ovino.
AE	Actividad enzimática
UI(L)	Unidades Internacionales por Litro
msnm	Metros sobre el nivel del mar
ALT	Alanina transaminasa
ALP	Fosfatasa alcalina
AMS	Amilasa
AST	Aspartato transaminasa
GGT o $\gamma$ -GT	Gamma glutamil transaminasa
LDH	Lactato deshidrogenasa
IDH	Isocitrato deshidrogenasa
B-gluc	$\beta$ -glucuronidasa
Pac	Proteasas ácidas
AcP	Fosfatasa ácida prostática
LAP	Leucinaminopeptidasa
5'N	5'-nucleotidasa
CK	Creatina quinasa
CHE	Colinestrasa
MA	Maltasa ácida
Cp	fosfohexosaisomerasa
PHI	Fosfohexosaisomerasa
E.E.	Error estándar de la media.
EDTA	Etilendiaminotetraacético.
OPA	Ovine Pulmonary Adenocarcinoma.
JSRV	Retrovirus Jaagsiekte de la oveja.
mg/dL	Miligramos por decilitro.
g/dL	Gramos por decilitro.
mEq/L	Miliequivalentes por litro.
C.E:	Centro Experimental.
H.E.	Hematoxilina-Eosina
UI/L	Unidades internacionales por litro
UNA	Universidad Nacional del Altiplano
SENAMHI	Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología
Mín	Mínimo
Máx	Máximo



## RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar los cambios en la actividad enzimática plasmática que se producen en el estado avanzado del adenocarcinoma pulmonar ovino (APO) en ovinos del Centro Experimental Carolina de la UNA-Puno (4000 msnm). Para el estudio se utilizaron 20 borregas de raza Corriedale, de las cuales 10 eran positivas a APO por los signos clínicos y a la prueba de levantamiento de los cuartos traseros (prueba de la “carretilla”) y 10 negativas a las mismas pruebas. Las muestras de sangre se obtuvieron de la vena cefálica en tubos al vacío con EDTA y mediante centrifugación a 3000 rpm durante 10 minutos se obtuvo el plasma para su análisis. Las mediciones de las actividades enzimáticas se realizaron por espectrofotometría utilizando kits de reactivos de Wiener Lab. ®. Los datos obtenidos se analizaron en un Diseño Completo al Azar utilizando el software InfoStat versión 2020c. Los resultados indican que todas las actividades enzimáticas se encuentran significativamente elevadas en los animales con APO ( $P \leq 0.05$ ): 14.50 y 11.70 UI/L para ALT; 104.60 y 65.90 UI/L para ALP; y, 72.30 y 53.10 UI/L para amilasa; en animales con APO y sin APO, respectivamente. Se concluye que la medición de la actividad enzimática sérica podría servir de ayuda en la diferenciación de animales enfermos de los sanos, dependiendo del grado de metástasis.

**Palabras clave:** Adenomatosis, ALP, ALT, Amilasa, Ovino.



## ABSTRACT

The objective of the study was to determine the changes in plasma enzymatic activity that occur in the advanced stage of ovine lung adenocarcinoma (OPA) in sheep from the Carolina Experimental Center of the UNA-Puno (4000 meters above sea level). For the study, 20 Corriedale sheep were used, of which 10 were positive to OPA based on clinical signs and the hindquarters lifting test ("wheelbarrow" test) and 10 were negative to the same tests. Blood samples were obtained from the cephalic vein in vacuum tubes with EDTA and plasma was obtained for analysis by centrifugation at 3000 rpm for 10 minutes. Measurements of enzyme activities were performed by spectrophotometry using reagent kits from Wiener Lab. ®. The data obtained were analyzed in a Complete Randomized Design using the InfoStat software version 2020c. The results indicate that all enzymatic activities are significantly elevated in animals with OPA ( $P \leq 0.05$ ): 14.50 and 11.70 UI/L for ALT; 104.60 and 65.90 IU/L for ALP; and, 72.30 and 53.10 IU/L for amylase; in animals with OPA and without OPA, respectively. It is concluded that the measurement of serum enzymatic activity could help in differentiating sick animals from healthy ones, depending on the degree of metastasis.

**Keywords:** Adenomatosis, ALP, ALP, Amylase, Sheep.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

El adenocarcinoma pulmonar ovino (APO) (OPA, en inglés) es una enfermedad cancerígena respiratoria progresiva y contagiosa presente en muchas regiones del mundo. La causa de la enfermedad es un  $\beta$ -retrovirus denominado *Retrovirus Jaagsiekte de las ovejas* (JSRV) (OIE, 2018), en el Perú la enfermedad fue descrita por primera vez en la sierra central en 1945 con características epizooticas y posteriormente diseminada a otras regiones como producto de intercambios de reproductores mejorados procedentes de empresas asociativas de la sierra central hacia el sur, donde infectaron a poblaciones de ovinos criollos (Ellis et al, 1993), hoy en día la enfermedad está muy diseminada en el Perú entero siendo un problema de difícil control o erradicación, una muestra es el Centro Experimental Carolina de la UNA-Puno en donde existe una alta prevalencia de la enfermedad, que a su vez constituye una de las principales causas de mortalidad en ovinos en dicho centro según sus registros de mortalidad. Por esta razón, el APO causa grandes pérdidas económicas en los hatos afectados (Sharp y DeMartini, 2003).

El APO tiene un largo período de incubación razón por la cual la enfermedad se manifiesta clínicamente con mayor frecuencia en ovinos de más de dos años de edad y con un máximo de casos a los 4-8 años, pero también se han reportado casos excepcionales en corderos (Sharp y DeMartini, 2003), cabe mencionar que en Puno se reportó un caso de APO en un cordero criollo de cinco meses de edad en el distrito de Ayaviri, departamento de Puno (Londoño et al, 2014).

Los signos más importantes del APO son la dificultad respiratoria progresiva en particular después del ejercicio, la gravedad de los signos refleja la extensión del desarrollo tumoral en los pulmones, por lo tanto una característica distintiva del APO es



la acumulación de líquido en el tracto respiratorio, que da lugar a estertores húmedos que son fácilmente detectados por auscultación, en tal sentido el levantamiento de los cuartos traseros y el descenso de la cabeza de las ovejas afectadas pueden ocasionar rinorrea de líquido mucoide espumoso; por otra parte, la tos y la falta de apetito no son comunes pero una vez que se evidencian los signos clínicos la pérdida de peso es progresiva y la enfermedad es mortal en semanas o meses (Summers et al, 2002).

Si bien en el APO los órganos más afectados son los pulmones su presencia provocaría alteraciones en todos los demás órganos y tejidos del organismo entero, debido a deficiencias en el intercambio gaseoso y transporte de oxígeno a los tejidos, entonces considerando que un organismo multicelular funciona como un sistema que si alguno de sus componentes (células, órganos o tejidos) funciona mal, todo el sistema se ve afectado (Brooker et al, 2011).

Hay muy poca información con respecto a los cambios metabólicos que ocurren durante la evolución de la enfermedad, específicamente en relación a los cambios bioquímicos sanguíneos que ocurren en el animal afectado, esta es la razón por la cual se ha diseñado el presente estudio cuyo propósito es comparar algunos parámetros enzimáticos sanguíneos de los animales positivos al APO mediante la prueba de levantamiento de los cuartos traseros versus los negativos a la misma prueba.

La enzimología es una herramienta clínica poderosa para determinar el daño que vienen sufriendo determinados órganos del animal, puesto que muchas de ellas son órgano-específicas. La elevación de su actividad en el plasma puede ser signo de necrosis (destrucción celular), aumento de la permeabilidad de membrana, sobreproducción de enzimas (por ejemplo, neoplasia), menor eliminación (por ejemplo, por obstrucción biliar), y por incremento de células inflamatorias, tal como lo indica Burtis et al (2008).



Los resultados contribuyen con el conocimiento bioquímico de la adenomatosis pulmonar ovina en relación a los animales aparentemente sanos, considerando que los componentes sanguíneos son resultado de los cambios metabólicos que ocurren en el animal.

## **1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **1.1.1. Objetivo general**

- Evaluar los cambios en la actividad enzimática plasmática que se producen en el estado avanzado del adenocarcinoma pulmonar ovino (APO) del Centro Experimental Carolina de la UNA-Puno ubicado a una altitud de 4000 m.

### **1.1.2. Objetivos específicos**

- Determinar la actividad enzimática de la amilasa en plasma sanguíneo de animales de ovinos con y sin APO.
- Determinar la actividad enzimática de la alanina transaminasa (ALT) en plasma sanguíneo de animales de ovinos con y sin APO.
- Determinar la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina (ALP) en plasma sanguíneo de animales de ovinos con y sin APO.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. MARCO TEÓRICO

##### 2.1.1. El ganado ovino en el Perú y su importancia

El Perú tiene una población ovina de 9 523 198 cabezas (INEI, 2012), las que se distribuyen en mayor porcentaje en la región sierra seguido de la costa y por último la selva. Los principales productos que se obtienen son lana y carne, además la producción nacional de lana alcanza los 10 946 Tm. y la de producción de carne llega a 36 122 Tm. anuales respectivamente (Díaz, 2015).

El ovino es una especie cosmopolita y versátil que se adapta fácilmente a diferentes medios, es por eso que se encuentra difundida en gran parte del mundo, el 56% de la población de ovinos se encuentra en regiones poco desarrolladas donde predomina el ovino Mestizo, el cual tiene una Crianza extensiva en propiedad de pequeños productores con un nivel tecnológico bajo a medio y cuya producción es destinada para autoconsumo y venta (Díaz y Vilcanqui, 2013).

A nivel de la crianza familiar, predomina el ovino Mestizo, con buena rusticidad, pero bajos niveles productivos de lana y carne. El sobrepastoreo es un problema muy común en estas crianzas. Los ovinos pueden pastorearse conjuntamente con los vacunos sin que exista competencia por el alimento, debido a la diferente forma de aprehensión del pasto, los vacunos prefieren los pastos altos, mientras que los ovinos los pastos bajos, lo que permite elevar la productividad de la tierra hasta en un 25% sin afectar la condición de las pasturas. Los ovinos aprovechan eficientemente los subproductos de la agricultura



(rastros de cosecha) que en su mayoría son alimentos fibrosos que sólo los rumiantes, como los ovinos, pueden convertir en carne, lana, pieles y leche para el uso del hombre (Aliaga, 2010).

### **2.1.2. El adenocarcinoma pulmonar ovino (APO)**

#### ***Etiología***

El adenocarcinoma o adenomatosis pulmonar ovino (APO) o también conocido como Jaagsiekte es un tumor pulmonar transmisible de los ovinos causado por el retrovirus de la oveja Jaagsiekte (JSRV), este retrovirus JSRV induce la transformación neoplásica de las células epiteliales secretoras de los alveolos y bronquiolos, los tumores resultantes pueden crecer hasta ocupar una parte significativa del pulmón y el crecimiento tumoral suele ir acompañado de una sobreproducción de líquido en el pulmón, lo que compromete aún más la respiración normal, pudiendo ser el período entre la infección y la aparición de los signos clínicos de varios meses a años y muchas de las ovejas infectadas con JSRV no presentan ningún signo clínico durante su vida, esto permite la propagación de APO a otros animales a través del contacto con animales infectados pero aparentemente normales (Griffiths et al, 2010)

El cáncer es el resultado del cambio o transformación que van a sufrir las células epiteliales alveolares del tipo II y de las células bronquiolares no ciliadas del pulmón; por otra parte, este retrovirus JSRV tiene un porcentaje bajo de metástasis en los nódulos linfáticos regionales (Demartini et al, 2003).

Los retrovirus utilizan la transcripción inversa para crear una copia de DNA de cadena doble (un provirus) a partir de su genoma de RNA, que se inserta dentro del genoma de su célula huésped. La transcripción inversa se lleva a cabo



utilizando la enzima retrotranscriptasa, que el virus lleva con él dentro de su envoltura. Una vez que el provirus se integra en el DNA de la célula huésped, se transcribe utilizando los mecanismos celulares normales, para producir proteínas y material genético virales. Para que se produzca una infección, primero el virus se fija a la célula huésped en una o varias moléculas receptoras de la superficie celular. De esta manera, el RNA viral ingresa en la célula huésped y se separa de la envoltura externa (pérdida de la envoltura) para poder replicarse dentro de la célula huésped mediante un proceso que requiere enzimas específicas. Los componentes virales recién sintetizados luego se ensamblan en una partícula viral completa. A continuación, se produce la muerte de la célula huésped, con liberación de nuevos virus capaces de infectar a otras células. Cada paso de la replicación viral involucra diferentes enzimas y sustratos. Las consecuencias de la infección viral son muy variables. Muchas infecciones causan enfermedad aguda tras un período de incubación breve, pero algunas son asintomáticas o causan síntomas menores y pueden no advertirse salvo en una visión retrospectiva. Las defensas del huésped logran vencer muchas infecciones virales, pero algunas permanecen en estado de latencia, y algunas causan enfermedades crónicas (Kramer, 2020).

### ***Distribución geográfica***

La enfermedad del adenocarcinoma pulmonar ovino (APO) es de distribución mundial que causa grandes pérdidas económicas en los países como Escocia, Perú y Sudáfrica, siendo descrita en el Perú en el año 1945 en la sierra central del país (Cuba-Caparó et al, 1961), posteriormente se fue diseminando a otras regiones debido principalmente al intercambio de reproductores mejorados que fueron procedentes de empresas asociativas de la sierra central hacia el sur,



siendo esta la manera en que se infectaron a poblaciones de ovinos criollos (Ellis et al, 1993). En el 2014 se reporta un caso de adenocarcinoma pulmonar ovino en un ovino criollo de 5 meses de edad en el distrito de Ayaviri, departamento de Puno (Londoño et al, 2014).

El APO es una enfermedad altamente distribuida y ha sido reportada en países como Alemania, Holanda, Grecia, Escocia, Suiza, Dinamarca, Chile, Perú, México, Brasil, Canadá, Usa, India, Togo, China, Malasia, Kenya y Sudáfrica (DeMartini et al, 1988).

### ***Morbilidad y mortalidad***

En la mayoría de los casos el APO se produce en ovinos mayores a 2 años de edad y el pico de incidencia en los animales es de 3 a 4 años, así mismo la enfermedad es rara que se presente en ovinos menores de 7 a 9 meses de edad. Una vez que se manifiestan los tumores los casos siempre terminan en muerte, en ese mismo contexto los rebaños que recién se infectan tienen índices altos de mortalidad y de morbilidad con un 80% de muertes en el rebaño, por lo cual el virus del JSRV se encuentra presente durante un largo periodo de tiempo. El índice de pérdida anual generalmente es de 2-5%; no obstante, en algunas granjas se han reportado pérdidas de hasta un 20%; por lo tanto, la repercusión de las infecciones es más elevada que el índice de morbilidad y la mayoría de los ovinos de un rebaño infectado no desarrolla tumores durante su vida reproductiva (OIE, 2018).

### ***Transmisión***

El APO puede ser transmitido por la vía respiratoria a través de los aerosoles o micro gotas, debido a que el virus se aloja en los exudados respiratorios de los ovinos que están infectadas, así mismo el virus se puede encontrar también en los



tumores, líquidos pulmonares, leucocitos de sangre periférica y los órganos linfáticos; mucho antes de que los tumores se formen los virus se pueden encontrar en las células linforreticulares, también se ha probado la transmisión horizontal en ovinos de diferentes edades y los neonatos parecen ser específicamente susceptibles a la infección, por otra parte estudios recientes indican que el JSRV puede diseminarse por la leche a través del calostro y por último el virus Jaagsiekte de la oveja no logra sobrevivir por periodos largos en el medio ambiente (Griffiths et al., 2010).

El APO se transmite principalmente a través de la vía respiratoria ya sea en su forma natural y experimental, ya que es posible que los animales que están infectados liberan partículas virales en la respiración a pesar de que aún no se hayan desarrollado los síntomas respiratorios, así mismo en los estadios siguientes el virus está sumamente concentrado en las secreciones nasales particularmente cuando los animales se están alimentando, ya que es ahí que tienen la cabeza baja (Talenas, 2017).

### ***Signos clínicos***

Los síntomas clínicos en el APO pueden estar ausentes por periodos de tiempo que varían de meses hasta años y estos síntomas son vistos solamente en animales adultos, estos pueden tener un carácter insidioso y ser observados como un hallazgo intercurrente, en tal sentido las primeras manifestaciones clínicas son tos e intolerancia al ejercicio, también podemos encontrar abundante secreción nasal de exudado acuoso que se observa mejor cuando los animales están con la cabeza baja o cuando se tienen los miembros posteriores levantados a nivel de la cabeza (Driemeier et al., 1998).



El primer indicador de APO en un rebaño es a menudo un mayor número de muertes en ovinos adultos por neumonía que no responden al tratamiento con antibióticos, los animales afectados tienen dificultades para respirar especialmente cuando hacen ejercicio, pudiendo adelgazar rápidamente a pesar de tener un apetito normal. Un signo patognomónico del APO es la producción de grandes cantidades de líquido en el pulmón que es espumoso, claro, lechoso o en ocasiones rosado y que drena por las fosas nasales del ovino cuando baja la cabeza, agregando a lo anterior se pueden recolectar hasta 400 ml de líquido por día de estos animales mediante la prueba del levantamiento de los cuartos traseros, aunque 10-40 ml de líquido por día es más común (Cousens et al., 2009).

Una vez que se observan los signos clínicos en el ovino por lo general vive solo unos pocos días y puede morir repentinamente después del ejercicio o la exposición al frío, a pesar de los signos clínicos únicos en algunos animales afectados en muchos casos no se observa líquido pulmonar, por lo tanto un diagnóstico definitivo de APO en un animal siempre requiere la identificación de los hallazgos macroscópicos e histopatológicos característicos mediante un examen post mortem, además el APO ocurre en ovinos domésticos y salvajes y no afecta a ningún otro ganado excepto a las cabras en las cuales se han descrito casos naturales solo en animales afectados subclínicamente (De las Heras et al., 2003).

En el diagnóstico clínico se debe sospechar de APO si los ovinos presentan signos respiratorios crónicos, especialmente en animales de 2 a 4 años de edad con secreción espumosa de las fosas nasales; por lo tanto, la prueba de levantamiento de los cuartos traseros para bajar la cabeza y verificar el exceso de líquido de los pulmones es un método útil, pero esta prueba no detecta los casos tempranos de la enfermedad. En el diagnóstico diferencial es difícil distinguir el APO con otras



enfermedades respiratorias, sobre todo en las fases tempranas de la enfermedad con otras, tales como: neumonía bacteriana, Maedi Visna e infestaciones por parásitos pulmonares (De las Heras et al., 2003).

### *Pruebas diagnósticas de APO*

La ausencia de anticuerpos específicos de JSRV en ovejas infectadas ha impedido el uso de pruebas serológicas para la infección y ha obstaculizado enormemente el desarrollo de ensayos de diagnóstico. La PCR en muestras de sangre se puede emplear para detectar células infectadas con JSRV, pero la cantidad de células infectadas en sangre es muy baja y, por lo tanto, tales pruebas no identifican muchos animales infectados. A pesar de la alta tasa de falsos negativos, las pruebas de PCR son informativas para estudios epidemiológicos y para identificar rebaños infectados, pero no serían adecuadas para analizar animales individuales con fines de erradicación o acreditación. El método más exitoso para identificar APO temprano ha sido la prueba de PCR de muestras de lavado broncoalveolar recolectadas de animales vivos. Sin embargo, la técnica de muestreo es laboriosa y solo toma muestras de una pequeña región del pulmón, por lo que también podrían pasar por alto los primeros casos (Voigt et al., 2007).

El trabajo para desarrollar pruebas preclínicas mejoradas para APO continúa, ya que existe una clara demanda por parte de los granjeros y veterinarios. En particular, habría una buena aceptación de la prueba para confirmar el estado de enfermedad de las ovejas reproductoras de alto valor, especialmente los carneros que se van a introducir en rebaños que de otro modo estarían cerrados. Si se dispusiera de una prueba de diagnóstico confiable y asequible, entonces el desarrollo de parvadas acreditadas por APO podría proporcionar una ventaja



económica significativa a las parvadas especializadas en el suministro de carneros reproductores (Griffiths et al, 2010).

### 2.1.3. El perfil metabólico

El perfil metabólico es un conjunto de determinaciones de laboratorio que permiten la caracterización de un individuo o grupo de ellos y tiene por objeto aportar una ayuda clínica para estudiar la naturaleza de los trastornos metabólicos, también ayuda a valorar el estado nutricional y refleja la dinámica metabólica del animal (Campos et al., 2007).

En la realización de un perfil metabólico se determinan los diferentes metabolitos sanguíneos relacionados con el estado funcional de las vías metabólicas (biotransformación) las que están determinadas por el consumo de nutrientes al seguir diferentes vías después de su ingestión en el organismo, el estado de estas vías puede verse afectados por los desbalances en el ingreso, transformación o egreso de los ingredientes de la ración consumida por los animales (Hincapie, 2012).

En el ganado ovino se puede hacer perfiles metabólicos en los diferentes estadios reproductivos o productivos del animal (gestación, lactancia, antes del parto, después del parto, etc.) o cuando una combinación de factores nutricionales y metabólicos contribuye a menudo al desarrollo de trastornos (Bradford, 2010).

Se conoce dos grandes grupos de indicadores metabólicos: los convencionales y los no convencionales (Álvarez, 2008):

**Metabolitos convencionales:** Son las constantes hematoquímicas comúnmente establecidas, tales como: volumen globular aglomerado,



hemoglobina, glucosa, urea, proteínas totales, albuminas, globulinas, calcio, fósforo inorgánico, magnesio, potasio y sodio, por lo tanto estas variables son las principales representantes de las vías metabólicas más importantes involucradas con la producción, sus concentraciones sanguíneas en la mayoría de los casos están reguladas por el balance entre aporte de la dieta y sus productos o vías de eliminación.

**Metabolitos no convencionales:** Son los indicadores hematoquímicos incluidos por el médico veterinario de acuerdo con la problemática que se sospecha, en tal sentido entre estas variables están los oligoelementos como cobre, zinc, PBI (proteína ligada al yodo) y tiroxina, también se encuentran algunos indicadores del funcionamiento hepático como las transaminasas, la bilirrubina, el colesterol total, la glutatión peroxidasa y los cuerpos cetónicos.

#### **2.1.4. Cambios metabólicos durante el cáncer**

En las células cancerosas el metabolismo se encuentra sumamente alterado. A medida que el tumor se expande, supera los límites de difusión de su suministro de sangre local, lo que conduce a hipoxia y estabilización del factor de transcripción inducible por hipoxia (HIF). HIF inicia un programa de transcripción para solucionar el estrés hipóxico. Por ejemplo, el metabolismo celular se desplaza hacia la glucólisis por el aumento de la expresión de enzimas glucolíticas, transportadores de glucosa e inhibidores del metabolismo mitocondrial. Además, HIF estimula la angiogénesis. Estudios recientes han demostrado que también existe aumento del consumo de glucosa, disminución de la fosforilación oxidativa y producción de lactato concomitante (Hsu P. & Sabatini D., 2008).



Aunque los estudios sobre el metabolismo del cáncer se han centrado en gran medida en la energía, las células que se dividen rápidamente tienen diversos requisitos. Las células en proliferación requieren no solo ATP, sino también nucleótidos, ácidos grasos, lípidos de membrana y proteínas, y un metabolismo reprogramado puede servir para apoyar la síntesis de macromoléculas. Estudios han demostrado que se requieren varios pasos en la síntesis de lípidos e incluso pueden promover activamente la tumorigénesis (Hatzivassiliou et al., 2005).

Además, las células cancerosas también pueden mejorar sus capacidades biosintéticas al expresar una forma específica de tumor de piruvato quinasa (PK), M2-PK. La piruvato quinasa cataliza la tercera reacción irreversible de la glucólisis, la conversión de fosfoenolpiruvato (PEP) en piruvato (Hsu P. & Sabatini D., 2008).

Las reacciones biosintéticas en la célula cancerosa están incrementadas lo que demanda un aumento en la demanda de ATP. La síntesis de lípidos, por ejemplo, requiere la cooperación de la glucólisis, el ciclo de Krebs y la vía de la pentosa fosfato. Como el piruvato debe entrar en las mitocondrias en este caso, evita la conversión a lactato y, por lo tanto, no puede contribuir al ATP derivado de la glucólisis. Por esta razón, existe “hambre” de glucosa por las células cancerosas teniendo que recurrir al uso de otras fuentes de energía, como las grasas y proteínas. Recientemente, se ha demostrado que la glutamina puede ser metabolizada por el ciclo del ácido cítrico en las células cancerosas y convertirse en lactato, produciendo NADPH para la biosíntesis de lípidos y oxalacetato para la reposición de los intermedios del ciclo de Krebs (DeBerardinis et al., 2007).



### 2.1.5. Enzimas plasmáticas y marcadores enzimáticos

Aunque todas las células contienen el mismo ADN, no todos los genes se expresan en todas las células. Sólo se sintetizan aquellas proteínas propias de la función celular mientras se suprimen otros genes, de modo que cada tipo de célula (por ejemplo, hepatocitos o fibras musculares) contiene su propio conjunto de enzimas que pueden ser utilizadas como marcadores moleculares ("huella digital"). Normalmente aparecen niveles bajos de todas estas enzimas en el plasma, lo que refleja el equilibrio entre la liberación de enzimas durante el recambio celular normal y su catabolismo o excreción (Kerr, 2002).

La cantidad total de todas las enzimas en peso en el plasma es inferior a 1 g/L. Sin embargo, los resultados no se expresan como concentraciones sino como actividades (AE), básicamente una medida de la rapidez con la que la enzima en la muestra puede convertir el sustrato en producto en las condiciones de ensayo estandarizadas. La unidad internacional (UI) de actividad enzimática se define como "la cantidad de enzima que, en determinadas condiciones de ensayo, catalizará la conversión de 1 mmol de sustrato por minuto" (Labandera y Malarczuk, 2019).

Cada órgano posee una distribución cuantitativa y cualitativa, hasta cierto punto, típica de enzimas dando por resultado un perfil enzimático, denominado perfil o patrón enzimático. Así dentro de los hepatocitos y de los conductos biliares, el hígado también posee una distribución característica de enzimas con especificidad gradualmente diversa. Esta especificidad de enzimas hepatobiliares esenciales es de importancia para la diagnosis de enfermedades hepatobiliares (Kuntz y Kuntz, 2006).



Es importante que las mediciones se hagan “en determinadas condiciones de ensayo”; estas condiciones pueden variar considerablemente entre laboratorios. La elección del sustrato, iniciador, cofactores, tampones, reacciones secundarias y, en particular, la temperatura afectará el resultado numérico. Por esta razón, al interpretar los resultados, siempre se deben consultar los valores de referencia proporcionados por el laboratorio que realizó el análisis (Kerr, 2002).

### **Alanina aminotransferasas (ALT o GPT)**

La transaminación es un proceso reversible que consiste en la transferencia del grupo amino desde un aminoácido a un cetoácido. Esta reacción es de gran importancia en el metabolismo de aminoácidos y es catalizada por enzimas llamadas transaminasas o aminotransferasas, las que se encuentran presentes en la mayoría de tejidos animales y vegetales (Voet y Voet, 2011). La AST, la ALT y la GGT son ejemplos de transaminasas de interés clínico (Burtis et al, 2008).

Las transaminasas normalmente están presentes en el suero en concentraciones bajas. Estas enzimas se liberan a la sangre en grandes cantidades cuando hay daño de la membrana celular hepática que produce una permeabilidad incrementada. Cualquier tipo de lesión de la célula hepática puede causar las elevaciones en las transaminasas séricas (Braunwald et al, 2001).

La ALT es una enzima citoplásmica hepatocelular, con gran concentración en el hígado y en menor medida en los riñones, corazón y músculos, por eso un aumento sérico de ALT es más específico de lesión hepática que la AST. La enzima es exclusivamente citosólica. La vida media de la ALT es aproximadamente 60 horas (2 a 3 días) (Burtis et al, 2008). En mucha menor proporción, se encuentran actividad de ALT en músculo esquelético, corazón,



riñón, páncreas y eritrocitos (en orden decreciente). Cuando hay una lesión de estos órganos la ALT es liberada a la sangre y aparece elevada en los análisis (Balcells, 2001).

El daño hepático agudo tiende a producir grandes elevaciones de actividad ALT, mientras que en el daño crónico la actividad ALT puede estar normal o moderadamente incrementada. El grado de incremento en la actividad ALT correlaciona con el número de hepatocitos dañados, el cual puede ser utilizado para evaluar la extensión del daño hepático (Fligio et al, 2004).

Los niveles de ALT están aumentados en: 1) lesión hepatocelular, 2) ictericia extrahepática, a causa de obstrucción biliar, 3) carcinoma hepático primario o secundario, 4) cirrosis biliar primaria, 5) hepatitis alcohólica, con un incremento de 3 veces, y 6) cirrosis alcohólica con un incremento leve de 1 a 2 veces. En el hígado graso secundario a alcoholismo el aumento es muy leve o puede estar en límites normales. (Balcells, 2001).

### **Fosfatasa alcalina (ALP)**

La fosfatasa alcalina es una enzima de membrana presente en muchas células, perteneciente al grupo de las metaloproteínas de cinc, su función es separar los grupos fosfato de los ésteres de fosfato orgánico que se encuentran en la membrana plasmática de las células. Actúa en las interfaces membranosas, y funciona mejor en pH alcalino. Se une a las membranas celulares mediante uniones de glucosil-fosfatidil-inositol. Se encuentra en mayor concentración en la mucosa intestinal, y en menor proporción en la corteza renal, placenta, hígado y hueso (Center, 2007). Es útil su determinación para la evaluación de patologías



hepatobiliares, hiperadrenocorticismo, neoplasias y enfermedades musculoesqueléticas (Willard et al, 2002).

La fosfatasa alcalina (ALP) cataliza la hidrólisis alcalina de una gran variedad de sustratos naturales y sintéticos. La ALP está ampliamente distribuida en el organismo y especialmente asociados con membranas y superficies celulares de: 1) mucosa del intestino delgado y túbulo proximales del riñón; 2) hueso (osteoblastos); 3) hígado; y 4) placenta (Burtis et al, 2008).

La actividad ALP del suero procede normalmente del hígado y el hueso y, durante el embarazo, de la placenta, sólo un 14% es de origen renal. El crecimiento óseo origina una subida de ALP, de modo que es dependiente de la edad, particularmente en niños <2 años y en adolescentes, luego la actividad disminuye hasta alcanzar los valores del adulto. (Balcells, 2001).

Esta es una de las enzimas más ampliamente distribuidas en el organismo animal. Se compone de un grupo de varias isoenzimas que hidrolizan los fosfatos a un pH alcalino; estos se encuentran especialmente en los huesos (osteoblastos), el hígado y la pared intestinal. El rango de niveles normales es bastante amplio, hasta 300 IU/L. Los niveles más altos se encuentran en animales jóvenes con alta actividad osteoblástica; tras el cierre de las placas de crecimiento epifisarias se observan niveles bastante más bajos, en su mayoría de origen hepático. La ALP es una enzima que se ve más seriamente afectada por las diferencias en el método de medición, en particular del tampón utilizado. Por lo tanto, sus valores “normales” variarán ampliamente entre laboratorios y es esencial determinar los niveles considerados normales en el laboratorio que esté utilizando (Kerr, 2002).



La producción y liberación en suero de la ALP pueden ser inducidas por diferentes causas como; fisiológicas: actividad osteoblástica; y patológicas o inducidas como: enfermedad hepatoiliar, remodelación u enfermedad ósea, enfermedad muscular, hiperadrenocorticismos, neoplasias y tratamiento con diferentes drogas como anticonvulsivantes, glucocorticoides y otros (Center, 2007).

### **Amilasa**

La enzima  $\alpha$ -amilasa ( $\alpha$ -1,4-glucano 4-glucanohidrolasa) es una metaloenzima dependiente de calcio que pertenece al grupo de las endoamilasas, las cuales catalizan la hidrólisis del almidón mediante la ruptura de enlaces glucosídicos  $\alpha$ -D-(1,4). En rumiantes, la amilasa es producida únicamente por el páncreas, interviniendo en la digestión de los carbohidratos de la dieta o de los residuos carbohidratados microbianos (López, 2022).

La amilasa, producida principalmente en el páncreas exócrino y en las glándulas salivales, escinde los enlaces  $\alpha$ -1-4 glucosídicos de los polisacáridos (almidón y glucógeno). Se encuentra elevada en el suero de pacientes con pancreatitis aguda alcanzando los valores más elevados entre las 24 y 30 horas posteriores al ataque, declinando luego para volver a los niveles normales entre las 24 y 48 horas siguientes. También se ve aumentada en este caso la excreción urinaria de la enzima, persistiendo la hiperamilasuria 3 a 5 días, luego de que la actividad sérica ha alcanzado los niveles normales. También es posible encontrar valores aumentados en cualquier caso de "abdomen agudo" o intervención quirúrgica en regiones próximas al páncreas. La parotiditis bacteriana y paperas se



asocian también con elevaciones en los niveles de amilasa sérica (Balcells, 2001; Kerr, 2002).

El principal uso clínico de la AE amilasa, es en el diagnóstico de pancreatitis necrotizante aguda. Se trata de una enfermedad asociada con una dieta rica en grasas, la obesidad (y el alcoholismo, en humanos), en la que las enzimas proteolíticas se escapan de las células y comienzan a autodigerir el órgano. El límite superior normal es aproximadamente 3000 IU/L. Se pueden observar aumentos ligeros a moderados en otros trastornos abdominales agudos (incluida la obstrucción intestinal) y en la insuficiencia renal (Kerr, 2002).

## **2.2. ANTECEDENTES**

Se reportó un caso de adenocarcinoma pulmonar ovino en un cordero de cinco meses de edad procedente del departamento de Puno ubicado en Perú, este cordero a la inspección clínica presentó disnea, pérdida de peso y abundante secreción pulmonar, además a la necropsia se observaron formaciones nodulares blanco grisáceas en los lóbulos diafragmáticos y abundante fluido espumoso blanquecino en la tráquea, también en la superficie de corte de los tumores se visualizaron numerosos micronódulos de contorno irregular con tendencia a la coalescencia, además en el análisis histológico se observan las formaciones tumorales, compuestas por células columnares o cuboidales, también se mostraron aisladas por un estroma fibrosado y rodeadas por alveolos inundados de macrófagos con citoplasma vacuolar, por otra parte en los bronquios terminales se observaron pólipos intraluminales comprometiendo el epitelio bronquiolar, además el análisis molecular del fluido y tejido pulmonar contenían secuencias genéticas del retrovirus exógeno del Tipo B productor de la enfermedad, por ello la infección retroviral



con presencia multinodular de lesiones neoplásicas en un cordero corrobora la susceptibilidad de ovinos criollos a la infección retroviral (Londoño et al, 2014).

Se colectaron muestras de sangre de 97 ovejas sacrificadas (37 machos, 58 hembras), de 4 a 6 meses de edad con el objetivo de determinar algunos parámetros bioquímicos sanguíneos, entre ellos: actividades séricas de aspartato aminotransferasa (AST), gamma-glutamil transferasa (GGT) y fosfatasa alcalina (ALP), y niveles séricos de bilirrubina total y directa, urea y creatinina. Los valores medios obtenidos fueron: AST =  $126 \pm 23.9$  U/L; GGT =  $54.6 \pm 15.4$  U/L; ALP =  $152 \pm 90.7$  U/L; bilirrubina total =  $0.28 \pm 0.10$  mg/dL; bilirrubina directa =  $0.10 \pm 0.04$  mg/dL; urea =  $41.8 \pm 10.3$  mg/dL; creatinina =  $148 \pm 0.21$  mg/dL. Se concluye que todos los niveles de constituyentes en suero durante el sacrificio estuvieron dentro de los valores normales para la especie (Santana et al, 2009).

Se estudió 12 parámetros bioquímicos sanguíneos de la raza Xisqueta del Pirineo de Lleida (España), especie que se caracteriza por su buena adaptación a las condiciones de alta montaña pero que por diversos factores económicos y sociales se encuentra en peligro de extinción, debido a la inexistencia de estudios previos a nivel hematológico y bioquímico clínico en la raza, se ha propuesto el análisis de 12 parámetros bioquímicos, cuyos resultados se muestran en la Tabla 1 (Avellanet et al., 2007).

**Tabla 1**

*Estadísticos descriptivos de la actividad de algunas enzimas séricas de la raza Xisqueta.*

<b>Parámetro</b>	<b>Media</b>	<b>CV</b>	<b>Rango</b>
ALT (UI)	21.97	31.19	12-37
AST (UI)	116.48	21.03	66-194
LDH (UI)	1047.86	15.01	676-1341
GGT (UI)	59.81	29.7	36-102
CK (UI)	189.56	74.26	50-451

**Fuente:** Avellanet et al (2007)

Con la finalidad de determinar el daño hepático causado por la fasciolosis crónica en bovinos y ovinos de la Microcuenca de Larimayo utilizando marcadores enzimáticos séricos: aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y  $\gamma$ -glutamyltranspeptidasa (GGT), se estudiaron 30 vacunos y 30 ovinos distribuidos en 15 animales con y 15 sin fasciolosis. Los animales positivos a fasciolosis crónica se determinaron por el método coprológico de Stoll Modificado. La actividad enzimática fue determinada mediante espectrofotometría utilizando kits de Wiener Lab ®. Los resultados en vacunos para AST fueron de 94.23 y 60.63 UI/L; para ALT de 12.14 y 7.16 UI/L y para GGT de 110.66 y 43.13 UI/L, para los animales positivos y negativos, respectivamente. En ovinos, para AST 97.13 y 66.01 UI/L; para ALT de 9.52 y 6.38 UI/L y para GGT de 168.99 y 87.52 UI/L, para los positivos y negativos, respectivamente. En todos los casos, la actividad enzimática de los animales con fasciolosis crónica son más elevadas que en los animales negativos ( $P \leq 0.05$ ), concluyéndose que hay daño estructural y funcional del hígado por la presencia de la fasciola, tanto en bovinos y ovinos (Idme, 2015).



Se determinó los parámetros bioquímicos enzimáticos (Transaminasa Glutámico Pirúvica (ALT), Transaminasa Glutámico Oxalacético (AST), Fosfatasa Alcalina (ALP), Gamma Glutamyltransferasa ( $\gamma$ -GT), y Lactato Deshidrogenasa (LDH)) en niños con Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) antes del tratamiento antineoplásico. Se estudiaron 30 niños con LLA entre 2 y 15 años, en diversos Centros Neoplásicos de Lima. La colecta sanguínea se realizó en tubos BD Vacutainer® de tapa color rojo, procesados en el analizador semiautomatizado BIOTEC® EMP-168, con reactivos enzimáticos de Wiener Lab Group bajo el método modificado de Szaaz y UV-Optimizado por IFCC, SSCC y SFBC. Resultados: El 60% correspondió a niños y el 46,7% corresponde a las edades entre 2 a 6 años. Los niveles séricos de AST estuvieron incrementados en el 33,3% en niños y el 50% en niñas. Los valores séricos de ALT estuvieron incrementados en el 33,3% de niños y en el 41,7% de niñas; solamente el 25% de niñas presentaron valores incrementados de  $\gamma$ -GT; la ALP estuvo acrecentada en el 44,4% de niños y en el 66,7% de niñas. Por otro lado, los niveles de LDH estuvieron acrecentados en el 55,6% de niños y en el 41,7% de niñas. Conclusión: Las pruebas enzimáticas LDH, AST, ALT y ALP se encuentran aumentados en niños con LLA con respecto a los valores normales, debido al síndrome de lisis tumoral caracterizada por alteraciones electrolíticas, y como consecuencia de la destrucción masiva de células tumorales y la liberación rápida de grandes cantidades de elementos intracelulares (Moya y Pio, 2015).

Se analizó el perfil metabólico asociado al cáncer de pulmón empleando muestras biológicas procedentes de pacientes con carcinoma epidermoide. Se analizó perfil metabólico de tejido tumoral de pulmón, así como de tejido pulmonar sano del mismo paciente. Resultados: se observaron alteraciones en la mayoría de los metabolitos involucrados en el metabolismo de las purinas en carcinomas epidermoides con respecto al tejido normal de pulmón, además de un incremento del precursor ribosa-5-fosfato,

corroborando el papel crucial que poseen las purinas en el desarrollo y proliferación tumoral (Molina, 2016).

Los valores de referencia de los parámetros bioquímicos en estudio, para la especie ovina, según Núñez y Bouda (2007), se presentan en la tabla 2.

**Tabla 2**

*Valores de referencia de la actividad enzimática de algunas enzimas en ovinos.*

<b>Parámetro</b>	<b>Unidad de medida</b>	<b>Valor</b>
ALT	UI/L	0 – 15
AST	UI/L	70 – 125
Fosfatasa alcalina	UI(L	50 – 350
CK	UI(L	50 – 400
GGT	UI(L	< 40
Amilasa	UI(L	126 – 250

Se estudiaron las enzimas séricas en 377 ovejas aparentemente sanas de tres razas autóctonas de Etiopía (Menz, Tukur y Wello). Se determinó el efecto de la raza, la edad, el sexo y la estación del año sobre los niveles de ALT (o GPT), AST (o GOT), fosfatasa alcalina (ALP) y fosfatasa ácida (AcP). Los niveles medios oscilaron para ALT/GPT 17.2 – 17.7 UI/L, para AST/GOT entre 50.4 y 56.6 UI/, para ALP entre 93.2 y 103.9 UI/L y para fosfatasa ácida prostática (AcP) entre 2.47–2.56 UI/L. Todos estaban dentro del rango normal para ovejas en otros lugares. La estación tuvo influencia significativa sobre todas las enzimas séricas excepto AcP en la raza Menz. El sexo tuvo un efecto significativo sobre AST/GOT para Menz y sobre ALP para todas las razas de ovejas, con valores consistentemente más altos en machos que en hembras. La edad fue significativa sólo en la ALP en las razas Menz y Tukur. Los niveles de enzimas séricas de estas razas de ovejas autóctonas pueden utilizarse como valores de referencia normales para las razas de ovejas



etíopes adaptadas a una agroecología y un sistema de producción similares (Tibbo et al, 2008).

Se estudió la actividad enzimática sérica en 60 mujeres con carcinoma de mama con metástasis (CCM) y en 80 mujeres con carcinoma mamario sin metástasis (CSM), entre 24 y 60 años. En estas pacientes se determinó la actividad sérica de las enzimas: fosfatasa alcalina (ALP), dehidrogenasa láctica (LDH),  $\gamma$ - glutamiltranspeptidasa ( $\gamma$ -GT), aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), leucinaminopeptidasa (LAP), 5'-nucleotidasa (5'N), ceruloplasmina (Cp), colinesterasa (CHE), maltasa ácida (MA), fosfohexosaisomerasa (PHI), amilasa (AMS), isocitrato deshidrogenasa (ICD),  $\beta$ -glucuronidasa ( $\beta$ -gluc) y proteasas ácidas (PAc). En las pacientes con CCM todas las actividades enzimáticas están significativamente elevadas ( $p < 0.05$ ) en comparación con las pacientes con CSM, con excepción de CHE, que disminuye (Alarcón et al., 2007).

El trabajo para desarrollar pruebas preclínicas mejoradas para APO continúa, ya que existe una clara demanda por parte de los granjeros y veterinarios. En particular, habría una buena aceptación de la prueba para confirmar el estado de enfermedad de las ovejas reproductoras de alto valor, especialmente los carneros que se van a introducir en rebaños que de otro modo estarían cerrados. Si se dispusiera de una prueba de diagnóstico confiable y asequible, entonces el desarrollo de parvadas acreditadas por APO podría proporcionar una ventaja económica significativa a las parvadas especializadas en el suministro de carneros reproductores (Griffiths et al, 2010).



## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. LUGAR DE ESTUDIO

El estudio fue realizado en el Centro Experimental Carolina de la Universidad Nacional del Altiplano ubicado en el distrito, provincia y departamento de Puno, en las coordenadas 15°52'11" de Latitud Sur y 70°24'32" de Longitud Oeste, a una altitud de 3900 a 4100 m, en el km 9 de la carretera Puno-Moquegua (SENAMHI, 2016). El clima es frío y seco, con épocas de estiaje (junio a setiembre) y de lluvias (diciembre a marzo). El centro tiene una extensión de 150 hectáreas, con praderas de pastos naturales, base de la alimentación de los animales (alpacas, ovinos y vacunos)

#### 3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

##### 3.2.1. Animales

Para el estudio se utilizaron 20 ovejas hembras adultas de raza Corriedale, de los cuales 10 fueron positivas a APO a la prueba de levantamiento de los cuartos traseros (prueba de la “carretilla”) y 10 negativas a la misma prueba y en aparente buen estado de salud.

El tipo y tamaño de muestras considerado para el estudio fue al azar y según el tipo de muestreo no probabilístico según criterio.

##### 3.2.2. Materiales y equipos

###### Material de campo

- Guantes desechables.
- Tubos vacutainer con EDTA y agujas calibre 20G.



- Torundas de algodón.
- Alcohol yodado
- Bolsa para desechos biológicos.
- Marcador indeleble
- Tiza para marcar al animal
- Cuaderno de registro.
- Caja refrigerante con hielo y gradillas
- Formalina tamponada neutra al 10%

### **Material de laboratorio**

- Tubos de ensayo
- Papel filtro
- Puntas amarillas y azules de micropipeta
- Cronómetro
- Pipetas Pasteur.
- Micropipetas y pipetas
- Material volumétrico
- Baño de agua
- Frasco lavador
- Agua destilada

### **Equipo**

- Espectrofotómetro
- Vórtex
- Refrigeradora
- Centrifugadora
- Baño de agua



- Congeladora
- Cronómetro

### 3.3. MÉTODOS

#### 3.3.1. Selección de animales

Para seleccionar los animales con APO, se tomaron en cuenta los signos respiratorios crónicos que mostraban los animales, tales como la dificultad respiratoria e intolerancia al ejercicio, para luego someterlos a la prueba de levantamiento de los cuartos traseros (prueba de la “carretilla”); y, si estos presentaban la emanación de exudado líquido por los ollares, se les consideraba positivos al APO. Los animales sin problemas respiratorios, tolerantes al ejercicio y sin emanación de exudado a la prueba de la “carretilla” fueron considerados como negativos a APO.

Para confirmar el diagnóstico de APO de los 10 elegidos, dos de ellos fueron sacrificados para la necropsia correspondiente. Se obtuvieron muestras de tejido pulmonar y ganglios linfáticos mediastínicos en formal al 10% para realizar el diagnóstico histopatológico. Durante la necropsia se tomaron imágenes del tracto respiratorio, encontrándose pulmones agrandados, múltiples áreas grisáceas duras y acumulación de líquido mucoide en la cavidad pleural, además presencia de abundante líquido mucoso en los ductos aéreos.

Después de 48 horas de fijación en formalina tamponada neutra, las muestras se procesaron para el examen histopatológico. Se hicieron cortes de 4  $\mu\text{m}$  y se tiñeron con hematoxilina y eosina (HE), encontrándose muchos focos neoplásicos no encapsulados que se originaban en el revestimiento epitelial alveolar, transformación del revestimiento epitelial alveolar en células cúbicas y



cilíndricas, que son signos patognomónicos del APO. Las imágenes de los resultados de histopatología se muestran en el Anexo 01.

### 3.3.2. Obtención de sangre, suero y conservación

De los 20 animales, se obtuvieron muestras sanguíneas de la vena cefálica estando el animal en posición de sentado y haciendo hemostasia a nivel del brazo con banda elástica, previa desinfección de la zona con alcohol-yodado. Se utilizaron agujas y tubos al vacío conteniendo EDTA, colectándose un volumen aproximado de 3 mL los que fueron rotulados y colocados en termo refrigerado con hielo para su conservación y transporte hasta el laboratorio en la ciudad de Puno.

La obtención del plasma sanguíneo se obtuvo por centrifugación a 3000 rpm durante 10 minutos, el plasma obtenido se decantó a viales Eppendorf para su procesamiento.

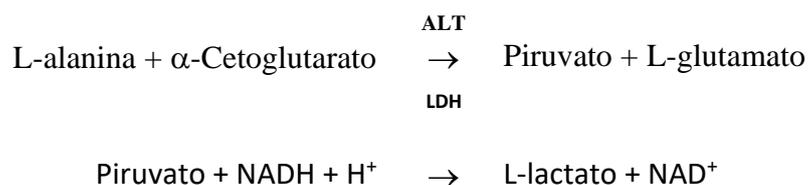
### 3.3.3. Procesamiento de muestras

La determinación cuantitativa de la actividad de las tres enzimas fue realizada por técnicas colorimétricas espectrofotométricas.

#### a) *Alanina aminotransferasa (ALT o GPT)*

**Técnica:** Método UV optimizado (Reitman y Frankel)

**Fundamento:** La ALT cataliza la siguiente reacción:





**Procedimiento:** Los reactivos y el protocolo seguido para la determinación de la actividad ALT se encuentra en los anexos.

**b) Fosfatasa alcalina (ALP)**

**Técnica:** Método cinético optimizado

**Fundamento:** La fosfatasa alcalina (ALP o monoéster ortofosfórico fosfohidrolasa, EC. 3.1.3.1.) hidroliza al p-nitrofenilfosfato (p-NFF), que es incoloro, produciendo fosfato y p-nitrofenol a pH alcalino. La velocidad de aparición del anión p-nitrofenolato (amarillo) a 405 nm, es proporcional a la actividad enzimática de la muestra.

**Procedimiento:** Los reactivos y el protocolo seguido para la determinación de la actividad ALP se encuentra en los anexos.

**c) Amilasa**

**Técnica:** Método cinético

**Fundamento:** La  $\alpha$ -amilasa hidroliza el sustrato definido 2-cloro-p-nitrofenil- $\alpha$ -D-maltotriósido (CNP-G3) para liberar 2-cloro-p-nitrofenol (CNP), formándose 2-cloro-nitrofenil- $\alpha$ -D-maltósido (CNP-G2), maltotriosa (G3) y glucosa. El CNP absorbe a 405 nm y la velocidad de aparición del color es directamente proporcional a la actividad enzimática.

**Procedimiento:** Los reactivos y el protocolo seguido para la determinación de la actividad ALP se encuentra en los anexos.



### 3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos se depositaron en una hoja Excel y el análisis estadístico con el software InfoStat (2020). Para cada variable de respuesta, se reportan estadísticos descriptivos de tendencia central y de dispersión: media, error estándar de la media (EE), coeficiente de variación (CV) y valores extremos (VE).

El análisis de la varianza (ANOVA) fue realizado en un Diseño Completo al Azar cuyo modelo matemático es:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  : variable de respuesta.

$\mu$  : Media general de la variable en estudio

$\alpha_i$  : Efecto de la condición (con APO y sin APO) ( $i=1, 2$ )

$\varepsilon_{ij}$  : Error experimental ( $j=1, 2, 3 \dots, 10$ )

Antes de someter los datos al ANOVA, se realizaron las pruebas de normalidad de datos por el método gráfico de Q-Q plot y homogeneidad de varianzas (los resultados se muestran en los anexos).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la actividad enzimática (AE) de las tres enzimas consideradas en el estudio, correspondientes a los 20 ovinos con y sin APO del C.E. Carolina se encuentran en el Anexo 02.

#### 4.1. ALANINA TRANSAMINASA (ALT)

En la Tabla 3 se muestra los estadísticos descriptivos de la AE de la alanina transaminasa en ovinos Corriedale del C.E. Carolina según su condición sanitaria.

**Tabla 3**

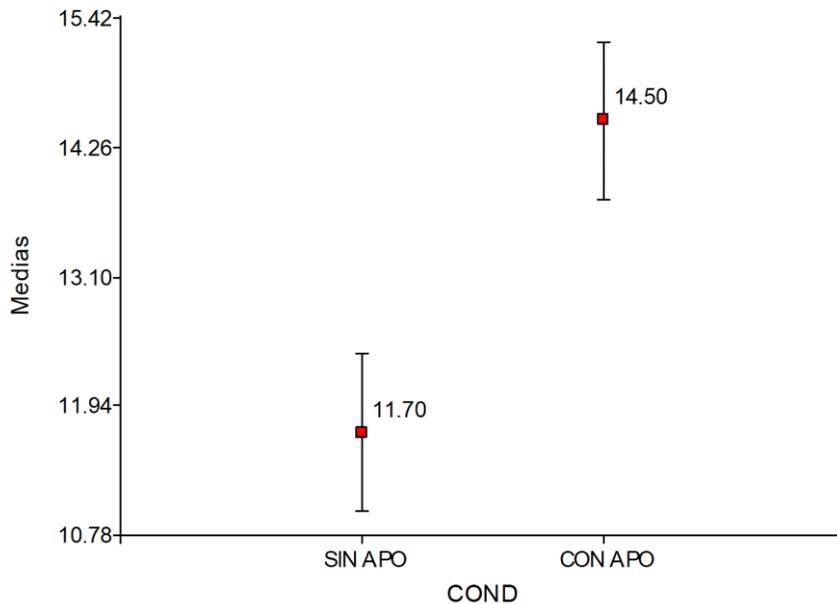
*Estadísticos descriptivos de la AE de la alanina transaminasa (ALT) (UI/L) en ovinos Corriedale con y sin APO del C.E. Carolina.*

Condición	n	Media ± E.E.	C.V. (%)	Valores Extremos	
				Mín	Máx
Con APO	10	14.50 ± 0.86 <sup>a</sup>	18.70	12.00	20.00
Sin APO	10	11.70 ± 0.52 <sup>b</sup>	14.00	9.00	14.00

El análisis de varianza (ANVA) y la prueba de Tukey (Anexo 8) indican que existe diferencia significativa entre los animales con y sin APO, siendo la AE de la ALT, superior en los animales con APO que los sin APO ( $P \leq 0.05$ ). El Gráfico 1, ilustra este resultado.

### Figura 1

*Medias y barras de E.E. para la AE de la ALT (UI/L) en ovinos Corriedale del C.E. Carolina según condición.*



Como lo indica Braunwald et al (2001), las transaminasas normalmente están presentes en el suero en concentraciones bajas y se liberan a la sangre en grandes cantidades cuando hay daño de la membrana celular hepática que produce una permeabilidad incrementada, por lo que cualquier tipo de lesión de la célula hepática puede causar las elevaciones en las transaminasas séricas (ALT, AST y GGT). Si bien los animales con APO tienen un mayor nivel de actividad ALT que los sin APO, ambos valores se encuentran dentro de los límites establecidos para la especie por Kaneko et al (1997) y Constable et al (2017), lo que conduciría a la hipótesis de que la presencia del APO, tendría un cierto efecto dañino sobre el hígado. Kerr (2002), apoya esta hipótesis al señalar que un aumento de los niveles plasmáticos de una enzima se produce principalmente debido a daño, rotura o necrosis de las células del órgano o tejido que contiene esa enzima. Sin embargo, hay que tener en cuenta lo señalado por Özçürümez



M. & Haeckel R. (2018), que indican que un resultado normal no excluye la presencia de una enfermedad.

Por otro lado, Burtis et al (2008) y Balcells (2001), precisan que la ALT, además de ser una enzima citoplásmica hepatocelular, también se encuentran en menor proporción en músculo esquelético, corazón, riñón, páncreas y eritrocitos (en orden decreciente). De modo que cuando hay una lesión de estos órganos, la ALT es liberada a la sangre y aparece elevada en los análisis, lo que también estaría ocurriendo en los animales con APO del estudio realizado.

Son muy pocos los estudios que relaciona la actividad de algunas enzimas con el cáncer. Por ejemplo, Moya y Pio (2015) midieron la AE de la ALT en niños con leucemia linfoblástica aguda antes del tratamiento antineoplásico, encontrando que la AE de la ALT incrementaron en el 33,3% de niños y en el 41,7% de niñas, concluyendo que la actividad de la ALT se encuentran aumentados en niños con leucemia con respecto a los valores normales, debido al síndrome de lisis tumoral caracterizada por alteraciones electrolíticas, y como consecuencia de la destrucción masiva de células tumorales y la liberación rápida de grandes cantidades de elementos intracelulares. Alarcón et al. (2007), estudiando la ALT en el cáncer de mama en mujeres con metástasis también encontró un aumento significativo en la actividad de esta enzima en el suero sanguíneo.

Molina (2015) analizó el perfil metabólico asociado al cáncer de pulmón empleando muestras biológicas procedentes de pacientes con carcinoma epidermoide. Se analizó perfil metabólico de tejido tumoral de pulmón, así como de tejido pulmonar sano del mismo paciente. Los resultados muestran alteraciones en la mayoría de los metabolitos involucrados en el metabolismo de las purinas en carcinomas epidermoides con respecto al tejido normal de pulmón, además de un incremento del precursor ribosa-



5-fosfato, corroborando el papel crucial que poseen las purinas en el desarrollo y proliferación tumoral. Aspecto que también estaría sucediendo en el APO

La AE de la ALT en ovinos Corriedale (con y sin APO) del C.E. Carolina encontrado en el estudio, se encuentran dentro del rango establecido por varios autores: 0-30 UI/L (Kaneko et al, 1997) y 5-20 UI/L (Constable et al, 2017).

Comparando los resultados de ALT con otros estudios realizados en ovinos, se tiene el realizado por Avellanet et al (2007), quien estudiando ovinos de la raza Xisqueta del Pirineo de Lleida (España), encontró una media de 21,97 UI/L, superior al encontrado en el presente estudio, lo que podría ser atribuido a la variabilidad biológica y a la técnica de análisis utilizado en su cuantificación. Al respecto, Özçürümez M. & Haeckel R. (2018), señalan que existen diversos factores que repercuten sobre los resultados de laboratorio, entre ellos la variabilidad biológica o fisiológicas, que incluye a la raza, edad, sexo, dieta, gestación, entre otros); a las variaciones medioambientales (ubicación geográfica) como la temperatura y la altitud; y a variaciones analíticas o instrumentales que corresponden al error analítico debido a los métodos de valoración. Es por esto, que cada laboratorio debe contar con intervalos de referencia biológicos ajustados a su realidad.

Tibbo et al (2008, estudiando la ALT en ovinos aparentemente sanos de tres razas autóctonas de Etiopía (Menz, Tukur y Wello), encontraron medias que oscilan 17.2 y 17.7 UI/L, señalando que se encuentran dentro del rango normal para ovejas de otros lugares. Valor que es ligeramente superior al encontrado en el presente estudio.

#### **4.2. FOSFATASA ALCALINA (ALP)**

En la Tabla 4, se muestra los estadísticos descriptivos de la AE de la fosfatasa alcalina en ovinos Corriedale del C.E. Carolina según su condición sanitaria.

**Tabla 3**

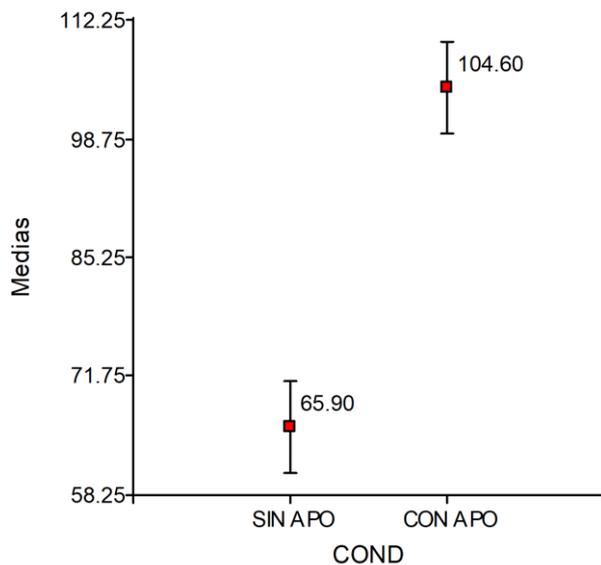
*Estadísticos descriptivos de la AE de la fosfatasa alcalina (ALP) (UI/L) en ovinos Corriedale con y sin APO del C.E. Carolina.*

Condición	n	Media ± E.E.	C.V. (%)	Valores Extremos	
				Mín	Máx
Con APO	10	104.60 ± 6.23 <sup>a</sup>	18.80	75.00	126.00
Sin APO	10	65.90 ± 3.89 <sup>b</sup>	18.60	46.00	79.00

Al igual que la ALT, el análisis de varianza y la prueba de Tukey (Anexo 8) indican que también existe diferencia significativa entre los animales con y sin APO ( $P \leq 0.05$ ), siendo superior en los animales con APO. El Gráfico 2, ilustra este resultado.

**Figura 2**

*Medias y barras de E.E. para la AE de la ALP (UI/L) en ovinos Corriedale del C.E. Carolina según condición.*





El estudio realizado por Moya y Pio (2015) en niños con leucemia linfoblástica aguda antes del tratamiento antineoplásico encontraron que la AE de la ALP se incrementó en 44.4% en niños y en 66.7% en niñas, con respecto a los valores normales. Esto se debería, al igual que la ALT, al síndrome de lisis tumoral caracterizada por alteraciones electrolíticas, y como consecuencia de la destrucción masiva de células tumorales y la liberación rápida de grandes cantidades de elementos intracelulares que se desarrolla durante el cáncer, tal como lo refiere Alarcón et al. (2007),

La AE de la ALP en ovinos Corriedale (con y sin APO) del C.E. Carolina, también se encuentran dentro del rango establecido por Kaneko et al (1997), Constable et al (2017) y Kerr (2002): 0-387, 70-390 y 0-300 UI/L, respectivamente. Es importante indicar lo señalado por Kerr (2002), quien indica que la ALP es una enzima que se ve más seriamente afectada por las diferencias en el método de medición, en particular del tampón utilizado. Por lo tanto, sus valores “normales” variarán ampliamente entre laboratorios y es esencial determinar los niveles considerados normales en el laboratorio que esté utilizando. Es decir, las diferencias encontradas, además de los factores biológicos, se atribuyen al método utilizado en su cuantificación.

Malchevski A. (1983), estudió la actividad de la fosfatasa alcalina en el suero sanguíneo de ovinos de distintas edades y diferentes estados fisiológicos, encontrando que la edad es un factor que influye en la actividad de esta enzima, siendo en corderos de un mes de 310.6 UI mientras que en ovejas adultas fue de 62.0 UI. La actividad encontrada en el presente estudio es similar al de las ovejas adultas sin APO (65.90 UI).

Tibbo et al (2008), también evaluó la actividad de la ALP en tres razas de ovinos autóctonos de Etiopía, encontrando medias que oscilan entre 93.2 y 103.9 UI/L, valores que se encuentran próximos al presente estudio.

### 4.3. AMILASA

En la Tabla 5 se muestra los estadísticos descriptivos de la AE de la amilasa en ovinos Corriedale del C.E. Carolina según su condición de salud.

**Tabla 4**

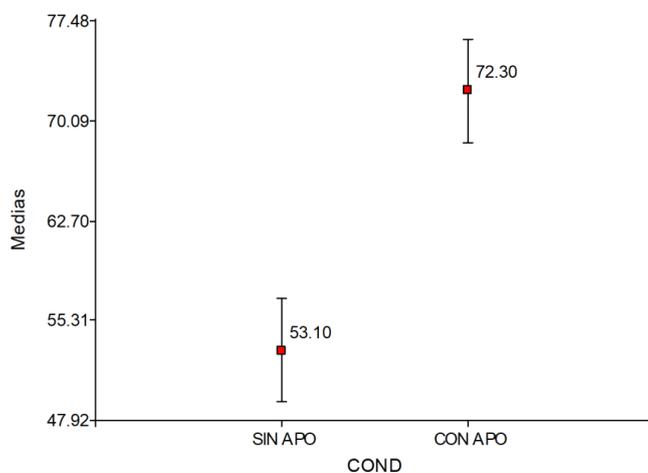
*Estadísticos descriptivos de la AE de la amilasa (UI/L) en ovinos Corriedale con y sin APO del C.E. Carolina.*

Condición	n	Media ± E.E.	C.V. (%)	Valores Extremos	
				Mín	Máx
Con APO	10	72.30 ± 4.38 <sup>a</sup>	19.20	59.00	98.00
Sin APO	10	53.10 ± 3.20 <sup>b</sup>	19.00	43.00	69.00

El análisis de varianzas (ANVA) (Anexo 11) indica que existe diferencia significativa entre los animales con y sin APO ( $p > 0,05$ ), siendo superior en los animales con APO. El Gráfico 1, ilustra este resultado.

**Figura 3**

*Medias y barras de E.E. para la AE de la amilasa (UI/L) en ovinos Corriedale del C.E. Carolina según condición.*





Kerr (2002) manifiesta que la amilasa está presente principalmente en el páncreas y las glándulas salivales y, inusualmente para una molécula de proteína, se excreta por el riñón. Su principal uso clínico es en el diagnóstico de pancreatitis necrotizante aguda. Se trata esencialmente de una enfermedad asociada con otros factores como dieta rica en grasas, obesidad y otras, donde las enzimas proteolíticas se escapan de las células y comienzan a autodigerir el órgano. En ese sentido, el APO, por el síndrome que lleva consigo, también sería un factor que conduce a cierta destrucción del páncreas, lo que se traduce en la mayor AE en animales positivos al APO con respecto a los negativos.

Finalmente, se debe indicar que el presente estudio es el primero que se realiza, no encontrando reportes similares en la literatura científica; sin embargo, los resultados obtenidos son concordantes con el realizado por Alarcón et al. (2007), quienes estudiaron la actividad sérica de varias enzimas en mujeres entre 24 y 60 años con carcinoma de mama con metástasis, entre ellas: ALT, ALP y amilasa; sus resultados hallados indican que todas las actividades enzimáticas se encuentran significativamente elevadas ( $p < 0.05$ ). De este modo, la medición de la actividad enzimática sérica podría servir de ayuda para diferenciar animales sanos de los enfermos, dependiendo del grado de metástasis.



## V. CONCLUSIONES

- La actividad enzimática de la alanina transaminasa (ALT) en animales con APO (14.50 UI/L) es superior a los animales sin APO (11.70 UI/L) ( $P \leq 0.05$ ).
- La actividad enzimática de la fosfatasa alcalina (ALP) es más alta en los animales con APO (104.60 UI/L) que los animales sin APO (104.60 UI/L) ( $P \leq 0.05$ ).
- La actividad enzimática de la amilasa en animales con APO (72.30 UI/L) es superior a los animales sin APO (53.10 UI/L) ( $P \leq 0.05$ ).



## VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de la actividad de otras enzimas séricas que ayuden a evidenciar el daño y la función de diversos órganos en animales con APO.
- Estudiar otros marcadores bioquímicos y tumorales en el APO.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alarcón O., Tauil E., Navarro F., Ramírez M., D'Jesús I., Alfonso R., Carrero P. y Rondón C. (2007). Actividad enzimática sérica en pacientes con carcinoma de mama. MedULA. Revista de la Facultad de Medicina, Universidad de los Andes. Vol. 16 N° 1.
- Aliaga, J. (2010). Posibilidades del desarrollo de la crianza ovina en el Perú. Disponible en: <http://www.arariwa.org.pe/8posibilidades.pdf>.
- Alvarez J. (2008). Bioquímica y metabólica del bovino en el trópico. Universidad de Antioquia, Medellín.
- Avellanet, R., Cuenca R., Pastor J. y Jordana J. (2007). Parámetros hematológicos y bioquímico clínicos en la raza ovina Xisqueta. Arch. Zootec. 56 (Sup. 1): 497-501.
- Balcells. A. (2001). La clínica y el laboratorio. 18ava edición. Editorial Masson.
- Bradford P. S. (2010). Medicina Interna de Grandes Animales. Cuarta Edition, Publisher Elsevier Mosbi.
- Braunwald, E.; Fauci, A.; Kasper, D.; Hauser, S.; Longo, D. And Jameson, L. (2001). Harrison's principles of internal medicine. 15th edition. McGraw-Hill, Medical Publishing Division.
- Brooker R., Widmaier E., Graham L. & Stiling P. (2011). Biology. Second Edition. McGraw-Hill.
- Burtis C.; E. Ashwood & D. Bruns. (2008). Tiez fundametals of clinical chemistry. Sixth edition, Saunders-Elsevier Inc.
- Campos G., Cubillos C. y Rodas G. (2007). Indicadores metabólicos en razas lecheras especializadas en condiciones tropicales en Colombia. En [https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta\\_agronomica/article/view/643/1166](https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/643/1166)



- Constable P., Hinchcliff K., Done S. & Grunberg W. (2017). *Veterinary medicine, a textbook of the disease of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 11th edition. Elsevier Ltd.
- Cousens C, Thonur L, Imlach S, Crawford J, Sales J et al. (2009) Jaagsiekte sheep retrovirus is present at high concentration in lung fluid produced by ovine pulmonary adenocarcinoma-affected sheep and can survive for several weeks at ambient temperatures. *Research in Veterinary Science*, 87, 154e156.
- Cuba-Caparó A, De la Vega E, Copaira M. (1961). Pulmonary adenomatosis of sheep-metastasizing bronchiolar tumours. *Am J Vet Res.*; 22:673–82.
- De las Heras M, González L, Sharp JM (2003) Pathology of ovine pulmonary adenocarcinoma. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 275, 25-54.
- DeBerardinis, R.J., Mancuso, A., Daikhin, E., Nissim, I., Yudkoff, M., Wehrli, S., & Thompson, C.B. (2007). Beyond aerobic glycolysis: transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 19345–19350.
- DeMartini JC, Carlson JO, Leroux C, Spencer T, Palmarini M. (2003) Endogenous retroviruses related to jaagsiekte sheep retrovirus. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 275, 117-137.
- DeMartini JC, Rosadio RH, Lairmore MD. (1988). The etiology and pathogenesis of ovine pulmonary carcinoma (sheep pulmonary adenomatosis). *Vet Microbiol* 17: 219-236.
- Díaz R. (2015). *Cadena productiva de ovinos*: Ministerio de Agricultura y Riego, Perú.
- Díaz R. I. y Vilcanqui H. (2013). *Manual de ovinos y las buenas prácticas*. Primera edición. Ministerio de Agricultura. Lima.
- Driemeier D, Moojen V, Faccini GS, Oliveira RT (1998). Adenomatose pulmonar (“jaagsiekte”) em ovino no Rio Grande de Sul. *Ciênc Rural.*; 28(1):147–50.
- Ellis JA, Chavera AEV, DeMartini JC. (1993). Disease conditions in slaughtered sheep from small holder flocks in Peru. *Small Rumin Res.* ;10(3):243–50.



- Figlio, D.; H. Tarpley; K. Latimer and P. Bain. (2004). A Brief Review of Alanine Aminotransferase Activity. Class of Department of Pathology, College of Veterinary Medicine, University of Georgia, Athens, GA 30602-7388. Inc <http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/figlio/>
- Gounden V, Bhatt H, Jialal I. (2022). Renal function tests. In: StatPearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507821/>
- Griffiths D. J., Martineau H. M., and Cousens C. (2010). Pathology and Pathogenesis of Ovine Pulmonary Adenocarcinoma. *J. Comp. Path.*, Vol. 142, 260-283.
- Hashimoto, T., Hussien, R., & Brooks, G.A. (2006). Colocalization of MCT1, CD147 and LDH in mitochondrial inner membrane of L6 cells: evidence of a mitochondrial lactate oxidation complet. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 290, E1237–E1244.
- Hatzivassiliou G., Zhao F., Bauer D., Andreadis C., Shaw A., Dhanak D., Hingorani S., Tuveson D., and Thompson C. (2005). ATP citrate lyase inhibition can suppress tumor cell growth. *Cancer Cell*. Vol. 8: 311-321. DOI 10.1016/j.ccr.2005.09.008.
- Hincapie I. (2012). Perfiles metabólicos. Curso de Graduación de "Buiatría Cuenca, Ecuador. <http://www.revencyt.ula.ve/storage/repo/ArchivoDocumento/mundopec/v9n1/art04.pdf>
- Hsu P. & Sabatini D. (2008). *Cancer Cell Metabolism: Warburg and Beyond*. Cell 134, Elsevier Inc. DOI 10.1016/j.cell.2008.08.021.
- Idme R. (2015). Determinación del daño hepático causado por la fasciolosis crónica en bovinos y ovinos utilizando marcadores enzimáticos. Tesis de Grado, Universidad Nacional de Altiplano. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/2782>.
- INEI. (2012). Instituto Nacional de Informática e Estadística. IV Censo Nacional Agropecuario. Lima – Perú.
- Kaneko, J; Harvey, J.W; Bruss, M.L (eds) *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th ed. New York: Academic Press, 1997.



- Kerr, M. (2002). Veterinary Laboratory Medicine, clinical biochemistry and haematology. Second Edition. Blackwell Science Ltd.
- Kramer L. (2020). Generalidades sobre los virus. New York State Department of Health. USA. En: <https://www.msmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/virus/generalidades-sobre-los-virus>.
- Kuntz E & Kuntz H.-D. (2006). Hepatology, principles and practice. Springer Medizin Verlag Heidelberg.
- Labandera N. y Malarczuk E. (2019). Enzimología clínica: principio del análisis en enzimas. 1ra ed. Editorial Universitaria, Universidad Nacional de Misiones, Posadas.
- Londoño P., Maturrano L., Rosadio R. (2014). Reporte de Adenocarcinoma Pulmonar Ovino en un Cordero de Cinco Meses de Edad en Puno, Perú. Rev Inv Vet Perú; 25(4): 545-550 <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v25i4.10815>.
- López S. (2022).  $\alpha$ -Amilasa. Colección ESMOS, México. <http://www.google.com/url?q=http%3A%2F%2Fdoi.org%2F10.5281%2Fzenodo.7272559&sa=D&sntz=1&usg=AOvVaw1T7rr7wmcUEJuu1Y1HNYOn>.
- Malchevski A. (1983). Alkaline phosphatase activity and isoenzymes in the blood serum of cattle, sheep and swine]. Vet Med Nauki. 20(9):3-11. Bulgarian. PMID: 6666026.
- Molina S. (2015). Alteraciones metabólicas en el cáncer de pulmón. Universidad de Córdoba. <http://hdl.handle.net/10396/14105>
- Moya J. y Pío L. (2015). Parámetros bioquímicos enzimáticos (ALT, AST, ALP,  $\gamma$ -GT, LDH) en niños con leucemia linfoblástica aguda antes del tratamiento antineoplásico. Horiz Med (15(4):52-58.
- Núñez L. y Bouda J. (2007). Patología clínica veterinaria. Segunda edición. Universidad Nacional Autónoma de México.
- OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). (2018). Manual Terrestre de la OIE. [https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health\\_standards/tahm/3.07.08\\_Adenocarcinoma\\_pulmonar\\_ovino.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.07.08_Adenocarcinoma_pulmonar_ovino.pdf).



- Özçürümez M. & Haeckel R. (2018): Biological variables influencing the estimation of reference limits, *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, DOI: 10.1080/00365513.2018.1471617.
- Radad K, Khalil S. (2014). Natural ovine pulmonary adenocarcinoma in an Egyptian sheep farm. *Eurasian J Vet Sci* 30, 1, 39-43.
- Reece O. (2015). *Dukes' Physiology of Domestic Animals*. 13th Edition. John Wiley & Sons, Inc.
- Reece W.O. eds. (2015). *Duke's Physiology of Domestic Animals*, 13th ed. John Wiley & Sons, Inc.
- Santana A.M., Gomes da Silva D., Arrigucci P., Pizauro L., Pariz R., de Vasconcellos G. Ormande K., Ávila F. y Jurandir J. (2009). Hemograma e perfil bioquímico sérico de ovinos em idade de abate. *Ciência Animal Brasileira – Suplemento 1 – Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria*.
- SENAMHI. (2016). Servicio Nacional de Metereología e Hidrología, Boletín Regional. Publicado del mes de abril; Dirección regional de Puno.
- Sharp JM, DeMartini JC. (2003). Natural history of JSRV in sheep. En: Fan H (ed). *Jaagsiekte sheep retrovirus and lung cancer*. New York: Springer. p 55-80.
- Stockham, S & Scott, M. (2008). *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. 2nd ed. Blackwell Publishing.
- Summers C., Neill W., Dewar P., Gonzalez L., Van Der Molen R., Norval M. & SHARP J.M. (2002). Systemic immune responses following infection with jaagsiekte sheep retrovirus and in the terminal stages of ovine pulmonary adenocarcinoma. *J. Gen. Virol.*, 83, 1753–1757.
- Talenas C, Angel M. Caracterización hispatológica y frecuencia de la adenomatosis pulmonar ovina (APO) en ovinos en el matadero municipal de la Unión – Huánuco. (2017). Tesis de la Univ Nac Hermilio Valdizán. <http://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/1538721>.

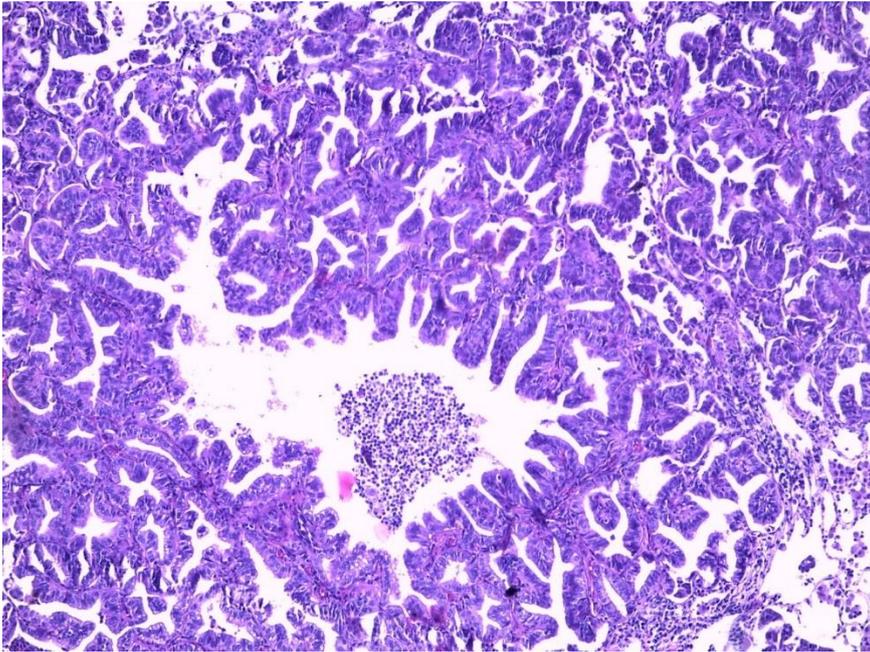


- Tibbo, M., Woldemeskel, M., Aragaw, K. & Rege J. (2008). Niveles de enzimas séricas y factores que influyen en tres razas de ovejas autóctonas de Etiopía. *Comp Clin Pathol* 17 , 149-155. <https://doi.org/10.1007/s00580-008-0735-1>
- Voet, D. & Voet, J.G. (2011). *Biochemistry*. 5th Edition. Jhon Wiley & Sons, Inc. USA.
- Voigt K, Brugmann M, Huber K, Dewar P, Cousens C et al. (2007). PCR examination of bronchoalveolar lavage samples is a useful tool in pre-clinical diagnosis of ovine pulmonary adenocarcinoma (Jaagsiekte). *Research in Veterinary Science*, 83, 419e427.
- Willard M. D. (2002). *Diagnóstico clínico patológico práctico en los pequeños animales*. Tercera edición. Editorial Intermédica.
- Zapata W. y Fajardo H. (2018). *Manual de química sanguínea veterinaria*. Laboratorio Microclin SRL. Trujillo, Perú.



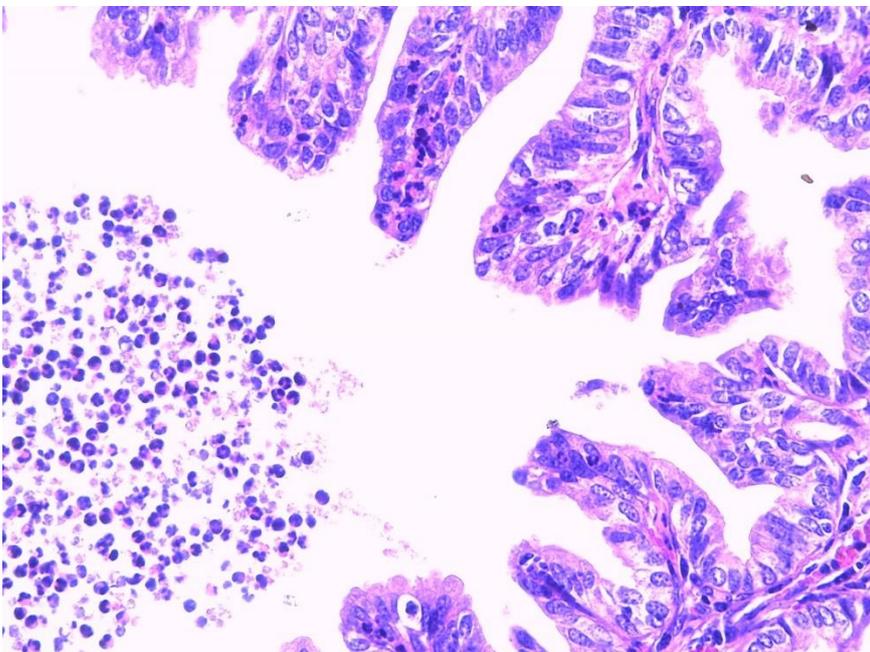
## **ANEXOS**

**ANEXO 1:** *Ilustración 1: 10x*



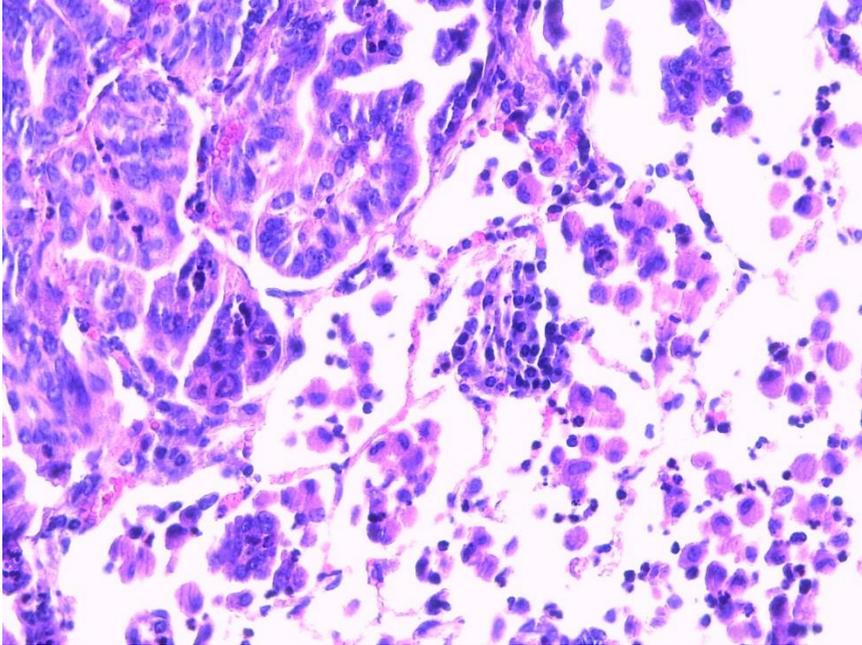
**Imagen 1:** Alveolos muy ensanchados con presencia de papilas en el centro, neutrofilia y piocitos (10x)

*Ilustración 2: 40x*



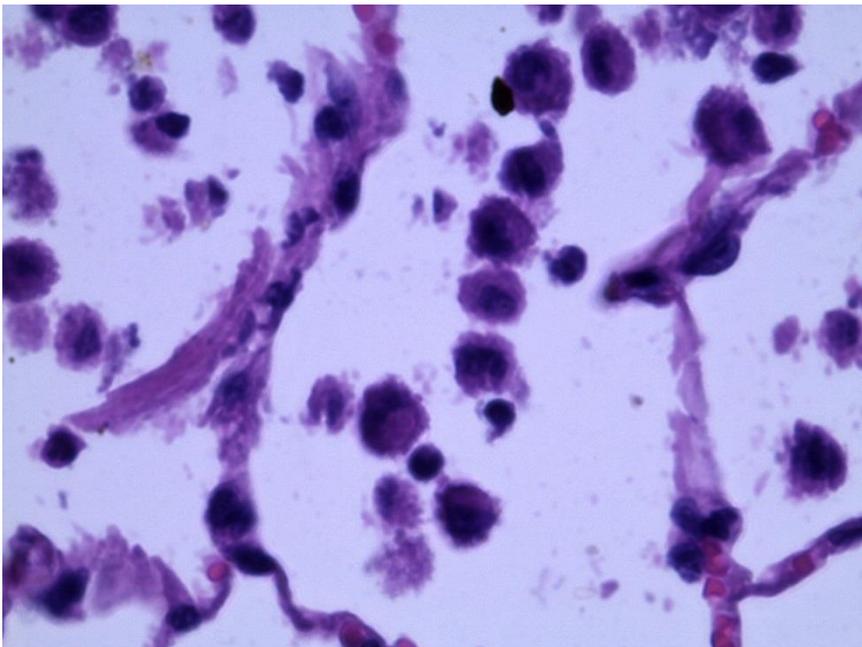
**Imagen 2:** Alveolos muy ensanchados con presencia de papilas en el centro, neutrofilia y piocitos (40x)

*Ilustración 3: 40x*



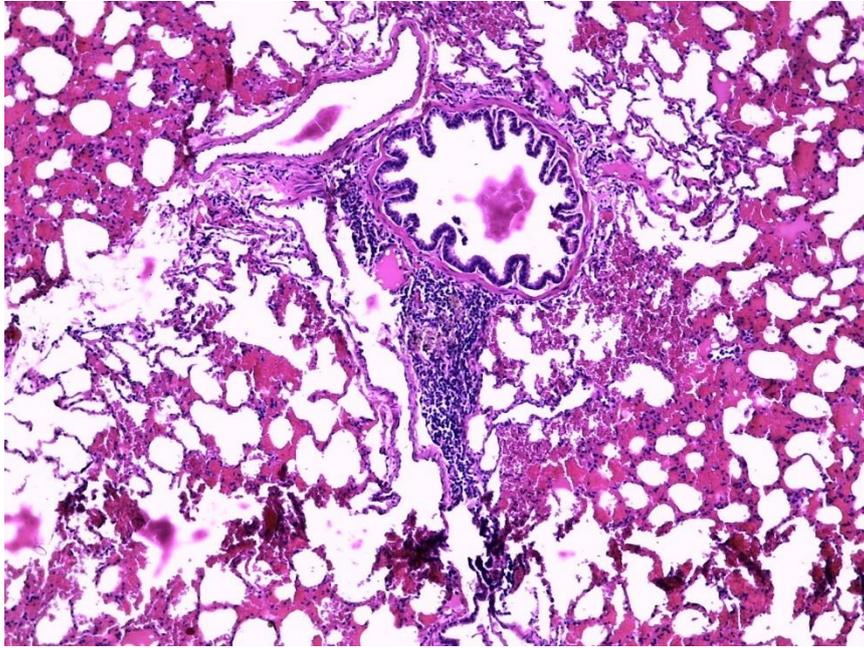
**Imagen 3:** Papilas y epitelio alveolar revestido por células polimórficas. En los espacios alveolares abundancia de macrófagos y linfocitos (40x)

*Ilustración 4: 40x*



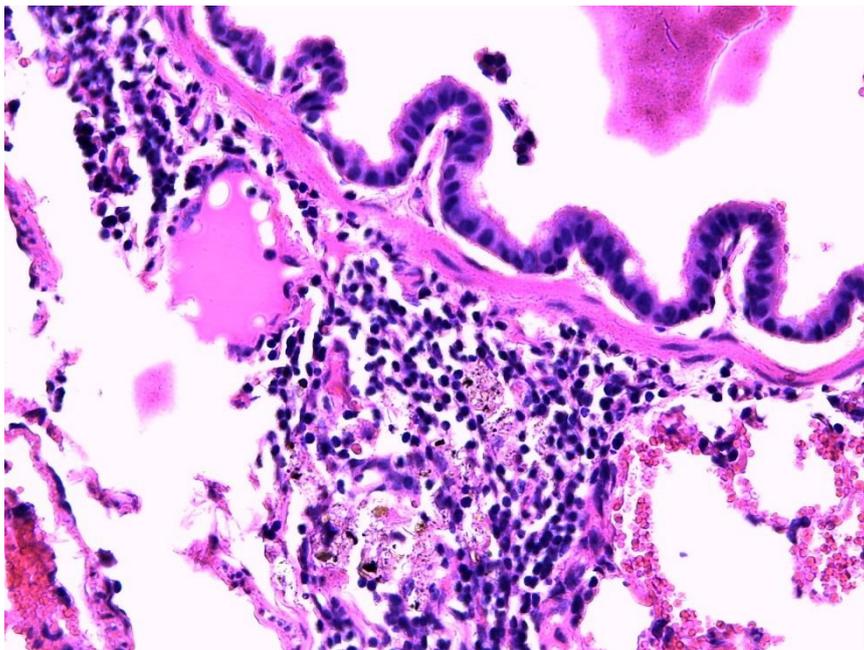
**Imagen 4:** Alveolos pulmonares con macrófagos (40x)

*Ilustración 5: 10x*



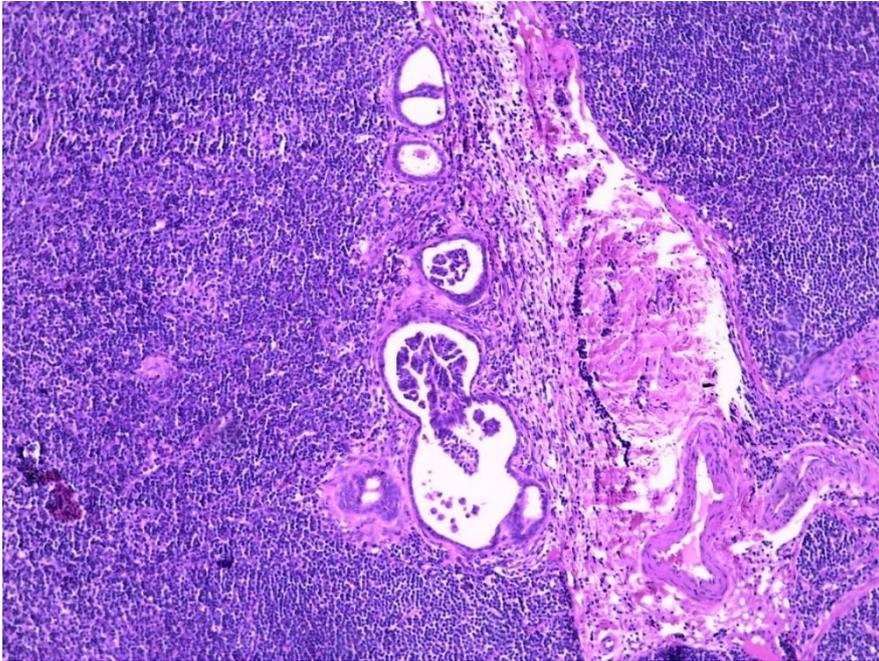
**Imagen 5:** Fase inicial de una neumonía intersticial (10x)

*Ilustración 6: 40x*



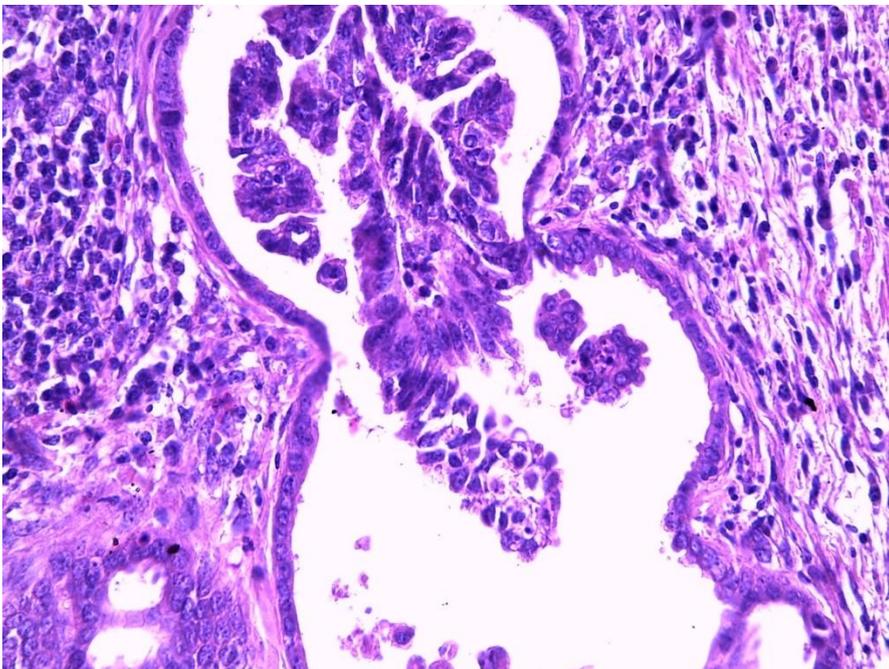
**Imagen 6:** Exudado inflamatorio hemorrágico con linfocitos en la zona peribronquiolar (40x).

*Ilustración 7: 10x*



**Imagen 7:** Metástasis de APO (carcinoma pulmonar ovino) en ganglio linfático hiliar (10x).

*Ilustración 8: 40x*



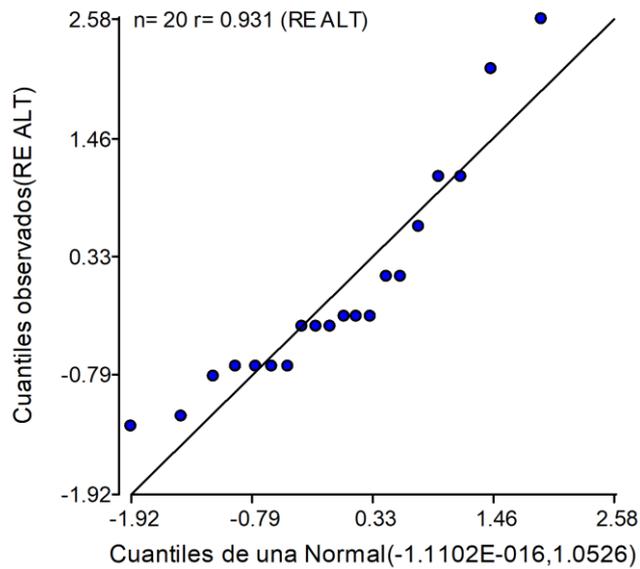
**Imagen 8:** Ganglio linfático hiliar con presencia de células tumorales malignas (neumocitos) (40x).



**ANEXO 2:** Resultados de la actividad enzimática en suero sanguíneo de ovinos  
Corriedale del C.E. Carolina según condición de salud

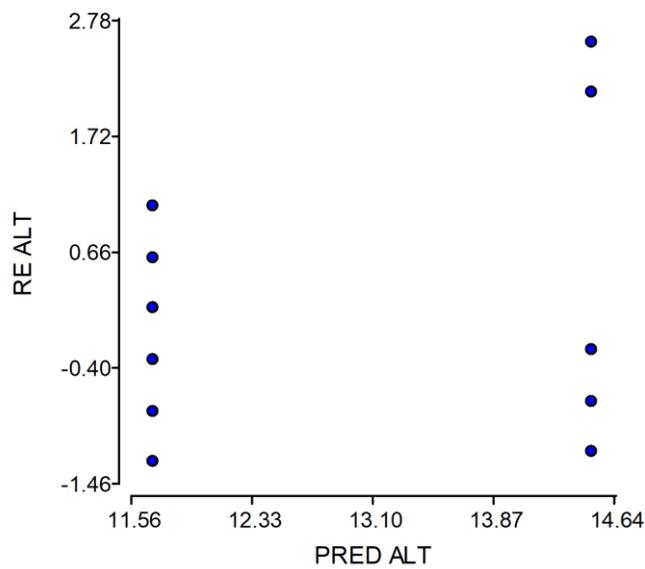
<b>CONDICIÓN</b>	<b>Amilasa (UI/L)</b>	<b>Alanina transaminasa (ALT) (UI/L)</b>	<b>Fosfatasa alcalina (ALP) (UI/L)</b>
CON APO	60.0	14.0	126.0
CON APO	72.0	19.0	89.0
CON APO	65.0	14.0	85.0
CON APO	66.0	13.0	126.0
CON APO	66.0	13.0	92.0
CON APO	96.0	13.0	120.0
CON APO	66.0	14.0	118.0
CON APO	59.0	12.0	123.0
CON APO	98.0	20.0	92.0
CON APO	75.0	13.0	75.0
SIN APO	69.0	9.0	53.0
SIN APO	43.0	14.0	55.0
SIN APO	60.0	10.0	46.0
SIN APO	49.0	13.0	75.0
SIN APO	47.0	12.0	79.0
SIN APO	45.0	11.0	79.0
SIN APO	69.0	11.0	71.0
SIN APO	47.0	11.0	77.0
SIN APO	44.0	14.0	56.0
SIN APO	58.0	12.0	68.0

**ANEXO 3:** Prueba de normalidad Q-Q plot (prueba de Shapiro-Francia) para ALT en ovinos Corriedale del C.E. Carolina



$R > 0,94$ . Por lo tanto, tiene distribución normal

**ANEXO 4:** Prueba de homogeneidad de varianzas para para ALT en ovinos Corriedale del C.E. Carolina





## ANEXO 5: Análisis de la varianza y prueba de Tukey para para ALT en ovinos Corriedale del C.E. Carolina

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
ALT	20	0.30	0.26	17.13

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

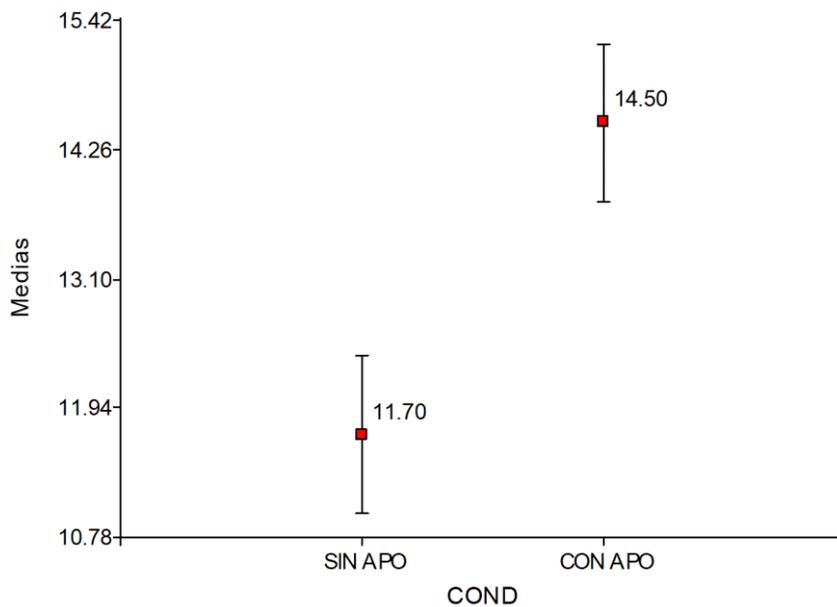
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	39.20	1	39.20	7.79	0.0121
COND	39.20	1	39.20	7.79	0.0121
Error	90.60	18	5.03		
Total	129.80	19			

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=2.10791

Error: 5.0333 gl: 18

COND	Medias	n	E.E.	
SIN APO	11.70	10	0.71	A
CON APO	14.50	10	0.71	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )





### Independent Samples T-Test

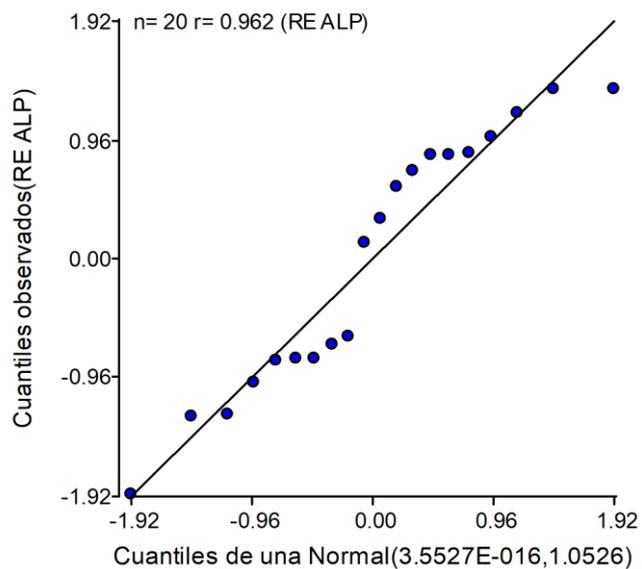
	<b>t</b>	<b>df</b>	<b>p</b>
ALT	2.791	18	0.012

*Note.* Student's t-test.

### Descriptive Statistics

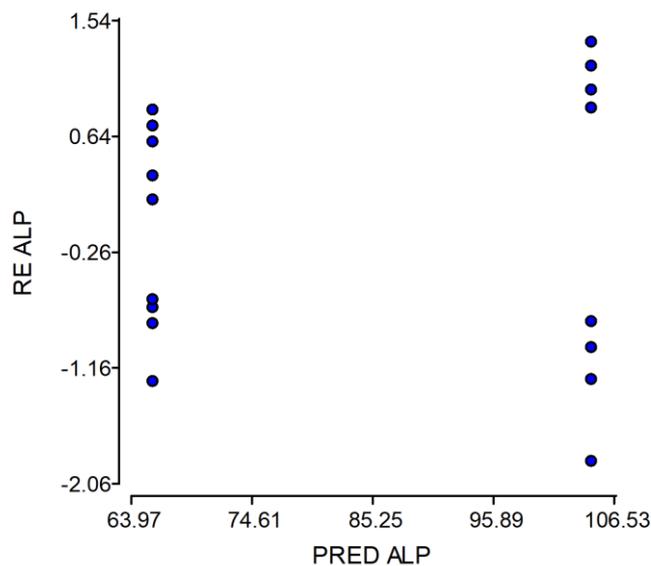
	<b>ALT</b>	
	<b>CON</b>	<b>APOSIN APO</b>
Valid	10	10
Mean	14.500	11.700
Std. Error of Mean	0.860	0.517
Coefficient of variation	0.187	0.140
Minimum	12.000	9.000
Maximum	20.000	14.000

**ANEXO 6:** Prueba de normalidad Q-Q plot (prueba de Shapiro-Francia) para ALP en ovinos Corriedale del C.E. Carolina



$R > 0,94$ . Por lo tanto, tiene distribución normal

**ANEXO 7:** Prueba de homogeneidad de varianzas para ALP en ovinos Corriedale del C.E. Carolina





## ANEXO 8: Análisis de la varianza y prueba de Tukey para ALP en ovinos Corriedale del

C.E. Carolina

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
ALP	20	0.61	0.59	19.26

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

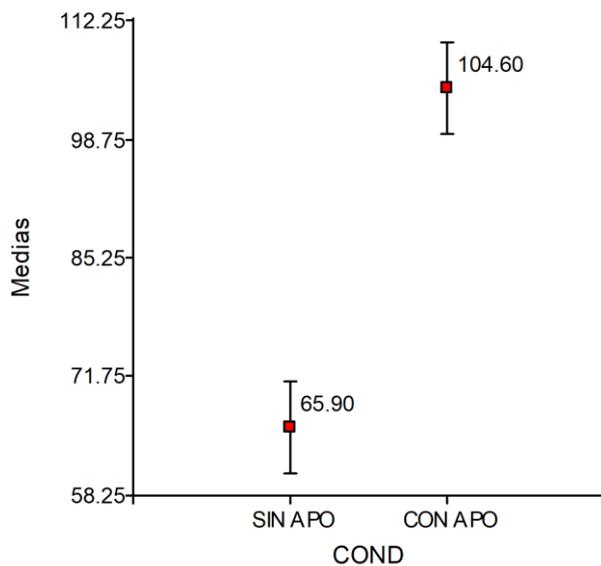
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7488.45	1	7488.45	27.78	0.0001
COND	7488.45	1	7488.45	27.78	0.0001
Error	4851.30	18	269.52		
Total	12339.75	19			

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=15.42474

Error: 269.5167 gl: 18

COND	Medias	n	E.E.	
SIN APO	65.90	10	5.19	A
CON APO	104.60	10	5.19	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )





### Independent Samples T-Test

	t	df	p
ALP	5.271	18	< .001 <sup>a</sup>

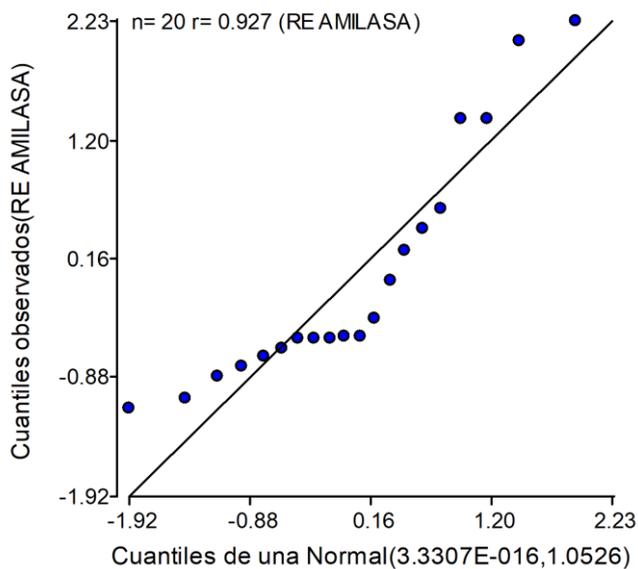
*Note.* Student's t-test.

<sup>a</sup> Levene's test is significant ( $p < .05$ ), suggesting a violation of the equal variance assumption

### Descriptive Statistics

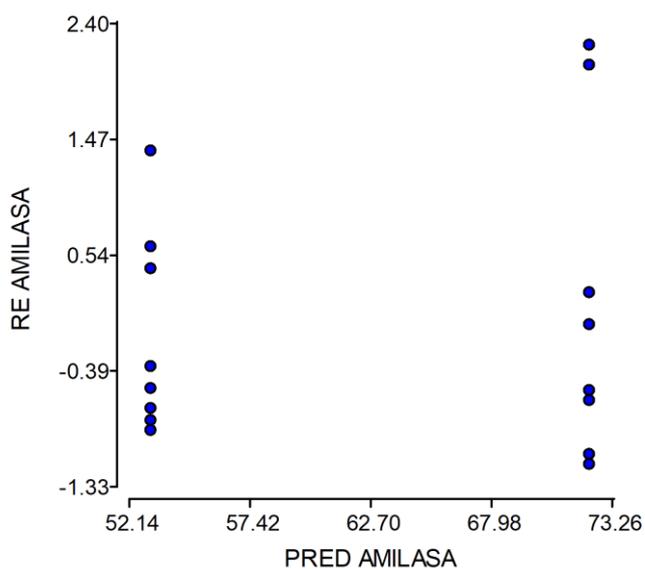
	ALP	
	CON APO	SIN APO
Valid	10	10
Mean	104.600	65.900
Std. Error of Mean	6.229	3.886
Coefficient of variation	0.188	0.186
Minimum	75.000	46.000
Maximum	126.000	79.000

**ANEXO 9:** Prueba de normalidad Q-Q plot (prueba de Shapiro-Francia) para amilasa en ovinos Corriedale del C.E. Carolina



$R > 0,92$ . Por lo tanto, tiene distribución normal

**ANEXO 10:** Prueba de homogeneidad de varianzas para para amilasa en ovinos Corriedale del C.E. Carolina





## ANEXO 11: Análisis de la varianza y prueba de Tukey para para amilasa en ovinos

Corriedale del C.E. Carolina

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
AMILASA	20	0.41	0.38	19.35

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

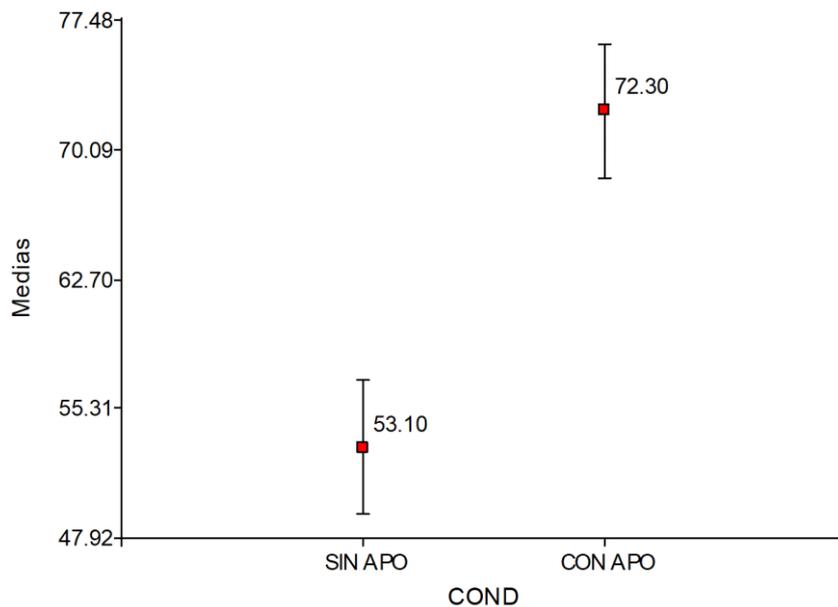
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1843.20	1	1843.20	12.52	0.0023
COND	1843.20	1	1843.20	12.52	0.0023
Error	2649.00	18	147.17		
Total	4492.20	19			

### Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=11.39803

Error: 147.1667 gl: 18

COND	Medias	n	E.E.	
SIN APO	53.10	10	3.84	A
CON APO	72.30	10	3.84	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )





### Independent Samples T-Test

	t	df	p
AMILASA	3.539	18	0.002

*Note.* Student's t-test.

### Descriptive Statistics

	AMILASA	
	CON APOSIN	APO
Valid	10	10
Mean	72.300	53.100
Std. Error of Mean	4.384	3.195
Coefficient of variation	0.192	0.190
Minimum	59.000	43.000
Maximum	98.000	69.000

### CORRELACIONES

#### Pearson's Correlations

Variable		AMILASA	ALT	ALP
1. AMILASA	Pearson's r	—		
	p-value	—		
2. ALT	Pearson's r	0.430	—	
	p-value	0.058	—	
3. ALP	Pearson's r	0.381	0.295	—
	p-value	0.098	0.207	—



## ANEXO 12: Medidas resumen de parámetros hematológicos

### Serie Roja

CONDICION	Variable	n	Media	E.E.	CV	Mín	Máx
CON APO	RBC	10	12.42	0.29	9.03	10.41	14.24
CON APO	HGB	10	15.47	0.30	7.53	12.30	16.80
CON APO	HCT	10	36.81	0.56	5.91	33.80	40.14
SIN APO	RBC	10	12.71	0.17	5.18	11.55	13.74
SIN APO	HGB	10	15.69	0.27	6.65	14.20	17.40
SIN APO	HCT	10	37.04	0.69	7.19	31.43	40.61

RBC = Recuento de glóbulos rojos ( $\times 10^{12}$ )

HGB = Hemoglobina (g/dL)

HCT = Hematocrito (%)

### Serie Blanca

CONDICION	Variable	n	Media	E.E.	CV	Mín	Máx
CON APO	WBC	10	14.63	0.58	15.32	11.48	18.51
CON APO	%LYM	10	73.65	0.96	5.05	68.10	82.60
CON APO	%MON	10	0.50	0.01	7.56	0.40	0.60
CON APO	%NEU	10	25.87	0.96	14.44	16.80	31.40
SIN APO	WBC	10	10.43	0.52	19.18	7.85	14.33
SIN APO	%LYM	10	78.46	0.76	3.75	73.90	82.80
SIN APO	%MON	10	0.49	0.02	16.19	0.40	0.70
SIN APO	%NEU	10	21.03	0.75	13.89	16.80	25.50

WBC = Recuento de glóbulos blancos ( $\times 10^9$ )

LYM = Linfocitos

MON = Monocitos

NEU = Neutrófilos

## PROTOCOLOS



# GPT(ALT)

LINEA LIQUIDA



AA

Método UV optimizado (IFCC) para la determinación de alanina aminotransferasa (GPT/ALT) en suero o plasma

### SIGNIFICACION CLINICA

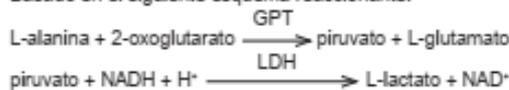
La alanina aminotransferasa (ALT o GPT) es una enzima unilocular (citoplasmática) cuya mayor actividad se localiza en el tejido hepático. La destrucción o cambio de permeabilidad de las membranas celulares provoca la liberación de ALT a la circulación sanguínea.

Los mayores aumentos de actividad ALT en suero, se producen como consecuencia de alteraciones hepáticas. En el caso de hepatitis virales, el aumento de ALT precede a la aparición de ictericia, alcanzando un máximo luego de la observación de dicho síntoma. Si los valores permanecen elevados luego de 8 semanas, debe pensarse en la posibilidad de una hepatitis activa o en el comienzo de una hepatitis crónica, por lo que es de utilidad las determinaciones seriadas de la enzima.

La determinación de ALT adquiere importancia diagnóstica cuando sus valores se comparan con los de otras enzimas de similar origen tisular, permitiendo así completar el perfil enzimático de órganos como el hígado.

### FUNDAMENTOS DEL METODO

Basado en el siguiente esquema reaccionante:



### REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de buffer TRIS pH 7,5 conteniendo L-alanina.

B. Reactivo B: solución conteniendo 2-oxoglutarato, nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH) y lactato deshidrogenasa (LDH).

### Concentraciones finales

TRIS .....	100 mmol/l; pH 7,5
L-alanina.....	500 mmol/l
NADH .....	0,18 mmol/l
LDH .....	≥ 1,5 UI
2-oxoglutarato.....	15 mmol/l

### INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar. Estos pueden usarse separados o como Reactivo único, mezclando 4 partes de Reactivo A con 1 parte de Reactivo B (ej.: 4 ml Reactivo A + 1 ml Reactivo B).

### PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

### ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez abiertos, no deben permanecer fuera del refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminaciones.

Reactivo único (premezclado): estable 2 meses en refrigerador (2-10°C) a partir de la fecha de su preparación.

### INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia del Reactivo único inferiores a 0,900 D.O. o superiores a 1,800 D.O. (a 340 nm) son indicio de deterioro del mismo.

### MUESTRA

Suero o plasma

- Recolección: se debe obtener de la manera usual.
- Aditivos: en caso de que la muestra a utilizar sea plasma, se puede usar heparina o EDTA como anticoagulantes.
- Sustancias interferentes conocidas:

- Las muestras provenientes de pacientes hemodializados o con hipovitaminosis o patologías asociadas con deficiencia de piridoxal fosfato producen valores falsamente disminuidos.
- No se observan interferencias por bilirubina hasta 25 mg/dl, ni triglicéridos hasta 1000 mg/dl. La hemoglobina interfiere significativamente aumentando los resultados, a partir de hemólisis moderada, debido a la presencia de GPT en los eritrocitos.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

- Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la GPT en suero es estable hasta 3 días en refrigerador, sin agregado de conservantes. No congelar.

### MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas capaces de medir los volúmenes indicados.
- Baño de agua a la temperatura indicada en el procedimiento a seguir.
- Cronómetro.



#### CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 340 nm
  - Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.
  - Tiempo de reacción: 4 minutos
  - Volumen de muestra: 100 ul
- Los volúmenes de Muestra y de Reactivo pueden variarse proporcionalmente, sin que varíen los factores de cálculo.

#### PROCEDIMIENTO

##### A) 30 ó 37°C

##### I- TECNICA CON REACTIVO UNICO

En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:

Reactivo único	1,0 ml
----------------	--------

Preincubar unos minutos. Luego agregar:

Muestra	100 ul
---------	--------

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 90 segundos y leer la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ( $\Delta A/\text{min}$ ), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

##### II- TECNICA CON REACTIVOS SEPARADOS

En una cubeta mantenida a 30-37°C, colocar:

Reactivo A	0,80 ml
------------	---------

Muestra	100 ul
---------	--------

Preincubar unos minutos. Luego agregar:

Reactivo B	0,20 ml
------------	---------

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 90 segundos y leer la absorbancia inicial (ver LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO) y luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de absorbancia/min ( $\Delta A/\text{min}$ ), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

##### B) 25°C

Emplear 250 ul de Muestra siguiendo el procedimiento indicado en A).

#### CALCULO DE LOS RESULTADOS

$GPT (UI) = \Delta A/\text{min} \times \text{factor}$

En cada caso deberá emplearse el factor de cálculo correspondiente de acuerdo a la temperatura de reacción seleccionada:

factor<sub>(25-37°C)</sub> = 1.746

factor<sub>(25°C)</sub> = 794

#### VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	25°C <sup>(1)</sup>	30°C <sup>(1)</sup>	37°C
Hombres	hasta 22 UI/l	hasta 29 UI/l	hasta 41 UI/l
Mujeres	hasta 17 UI/l	hasta 22 UI/l	hasta 31 UI/l

<sup>(1)</sup> Calculados

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

#### CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

$GPT (UI) \times 0,017 = GPT (ukat/l)$

#### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (Standatrol S-E 2 niveles) con actividades conocidas de GPT, con cada determinación.

#### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Absorbancia inicial baja: cuando una vez agregado el suero la primera lectura (tiempo 0) es inferior a 0,900 D.O., estando el Reactivo B en condiciones, indica una muestra con muy alta actividad de GPT (que consume el NADH aún antes de esta lectura) o con una concentración de cetóácidos endógenos particularmente elevada. En este caso, repetir la determinación con muestra diluida con solución fisiológica y multiplicar el resultado por la dilución efectuada.

#### PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente replicas de una misma muestra, se obtiene:

Nivel	D.S.	C.V.
43,35 UI	± 1,31 UI	3,02 %
119,70 UI	± 2,18 UI	1,82 %

b) Sensibilidad: el mínimo cambio de actividad detectable de GOT que puede distinguirse de cero es de 2 UI.

c) Rango dinámico: el rango útil de lectura se extiende hasta 0,345  $\Delta A/\text{min}$  (a 340 nm). Si la  $\Delta A/\text{min}$  es superior a 0,345, se debe repetir la determinación con muestra diluida (1:5 ó 1:10) con solución fisiológica, corrigiendo los resultados según el factor de dilución empleado.

#### PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

#### PRESENTACION

100 ml: - 4 x 20 ml Reactivo A

- 2 x 10 ml Reactivo B

(Cód. 1009812)

180 ml: - 4 x 36 ml Reactivo A

- 4 x 9 ml Reactivo B

(Cód. 1008112)

200 ml: - 4 x 40 ml Reactivo A

- 1 x 40 ml Reactivo B

(Cód. 1762360)



250 ml: - 4 x 50 ml Reactivo A  
- 4 x 12,5 ml Reactivo B  
(Cód. 1009322)

250 ml: - 4 x 50 ml Reactivo A  
- 4 x 12,5 ml Reactivo B  
(Cód. 1009263)

250 ml: - 4 x 50 ml Reactivo A  
- 4 x 12,5 ml Reactivo B  
(Cód. 1009620)

250 ml: - 4 x 50 ml Reactivo A  
- 4 x 12,5 ml Reactivo B  
(Cód. 1009928)

#### BIBLIOGRAFIA

- IFCC - Clin. Chim. Acta 70/2:F19 (1976).
- SSCC - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33:291 (1974).
- DGKC - Z. Klin. Chem. 10:281 (1972).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCC Press, 4<sup>th</sup> ed., 2001.
- Bergmeyer H.V., Horder, M., Rej R. - J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 24:497, 1986.
- Dufour, D.R.; Lott, J.A.; Nolte, F.S.; Gretch, D.R.; Koff, R.S. and Seeff, L.B. - Clin. Chem. 46/12:2027, 2000.
- "Tietz textbook of Clinical Chemistry" - Burtis and Ashwood Editors, 3<sup>rd</sup> Ed. - Saunders Co., 1999.

#### SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

-  Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"
-  Representante autorizado en la Comunidad Europea
-  Uso diagnóstico "in vitro"
-  Contenido suficiente para <n> ensayos
-  Fecha de caducidad
-  Límite de temperatura (conservar a)
-  No congelar
-  Riesgo biológico
-  Volumen después de la reconstitución
-  Contenido
-  Número de lote
-  Elaborado por:
-  Noctivo
-  Corrosivo / Caustico
-  Irritante
-  Consultar Instrucciones de uso
-  Calibrador
-  Control
-  Control Positivo
-  Control Negativo
-  Número de catálogo



LINEA LIQUIDA

# ALP 405

AA

Método cinético optimizado (DGKC y SSCC) a 405 nm,  
para la determinación de fosfatasa alcalina

## SIGNIFICACION CLINICA

La fosfatasa alcalina es una enzima ampliamente distribuida en el organismo. Hidroliza los monoésteres del ácido ortofosfórico en medio alcalino.

En el adulto proviene en parte del hígado (fracción termoestable) y en parte del hueso, sistema reticuloendotelial y vascular (fracción termolábil), dando lugar a distintas isoenzimas. La actividad sérica de fosfatasa alcalina ósea, en condiciones normales, alcanza su mayor actividad en los niños en edad de crecimiento (llegando a triplicar los niveles del adulto) debido a que esta isoenzima se localiza en los osteoblastos (relacionados con la calcificación y formación de estructuras óseas). También es fisiológico el aumento que se produce al final del primer trimestre del embarazo, a expensas de la isoenzima placentaria que en este período alcanza niveles máximos (aproximadamente el doble de los valores normales).

Entre las patologías que afectan la actividad sérica de fosfatasa alcalina, se pueden citar: carcinomas metastásicos en hígado y en hueso (productores de enzima), colestasis biliar, fenómenos osteoblásticos, trastornos de malabsorción acompañados de lesiones ulcerosas (donde la deficiencia de vitamina D produce osteomalacia con el consecuente aumento de fosfatasa alcalina ósea) e incluso lesiones en vías de reparación tales como infarto agudo de miocardio, infarto pulmonar o renal.

## FUNDAMENTOS DEL METODO

La fosfatasa alcalina (ALP o monoéster ortofosfórico fosfohidrolasa, EC. 3.1.3.1.) hidroliza al p-nitrofenilfosfato (p-NFF), que es incoloro, produciendo fosfato y p-nitrofenol a pH alcalino. La velocidad de aparición del anión p-nitrofenolato (amarillo) a 405 nm, es proporcional a la actividad enzimática de la muestra.

## REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de buffer DEA (dietanolamina), conteniendo sales de magnesio.

B. Reactivo B: solución conteniendo p-nitrofenil fosfato (p-NFF).

### Concentraciones finales

DEA.....	1,0 mol/l
Mg.....	0,5 mmol/l
p-NFF.....	10 mmol/l

## INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar. Estos pueden usarse separados o como Reactivo único, mezclando 4 partes de

Reactivo A con 1 parte de Reactivo B (ej.: 4 ml Reactivo A + 1 ml Reactivo B).

## INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Cuando el espectrofotómetro es llevado a cero con agua destilada, lecturas de absorbancia del Reactivo único (premezclado) superiores a 0.900 D.O. son indicio de deterioro del mismo.

## PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

## ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez abiertos, no deben permanecer destapados y fuera del refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminaciones. Reactivo único (premezclado): estable 1 mes en refrigerador (2-10°C) a partir de la fecha de su preparación.

## MUESTRA

Suero o plasma heparinizado

a) Recolección: se debe obtener suero de la manera usual.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a emplear sea plasma, debe usarse heparina como anticoagulante.

c) Sustancias interferentes conocidas:

- No se observan interferencias por bilirrubina hasta 16 mg/dl, lípidos hasta 1000 mg/dl de triglicéridos, ni heparina hasta 50 UI/ml.

- Hemólisis moderadas (hasta 200 mg/dl) no producen interferencias pero hemólisis muy intensas pueden producir variaciones en los resultados.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: emplear suero preferentemente fresco. En caso de no efectuarse el ensayo dentro de las 8 horas posteriores a su obtención, la muestra debe conservarse congelada (-20°C).

## MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.

- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.

864119524 / 02 p. 1/12

- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Baño de agua a la temperatura de reacción seleccionada.
- Cronómetro.

#### CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 405 nm
- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C. Ver los VALORES DE REFERENCIA correspondientes a cada temperatura.
- Tiempo de reacción: 3 minutos y 20 segundos
- Volumen de muestra: 10  $\mu$ l

Los volúmenes de muestra y de Reactivo pueden variarse proporcionalmente, sin que se alteren los factores de cálculo.

#### PROCEDIMIENTO I

##### TECNICA CON REACTIVO UNICO

En una cubeta mantenida a la temperatura de reacción seleccionada colocar:

Reactivo único	1,0 ml
Preincubar unos minutos. Luego agregar:	
Muestra	10 $\mu$ l

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 20 segundos y leer la absorbancia inicial. Registrar la absorbancia luego de 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de Absorbancia/min ( $\Delta A/min$ ), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

#### CALCULO DE LOS RESULTADOS

Fosfatasa alcalina (UI) a 405 nm =  $\Delta A/min \times 5.460$

#### PROCEDIMIENTO II

##### TECNICA CON REACTIVOS SEPARADOS

En una cubeta mantenida a la temperatura de reacción seleccionada colocar:

Reactivo A	1,0 ml
Muestra	10 $\mu$ l
Preincubar unos minutos. Luego agregar:	
Reactivo B	0,25 ml

Mezclar inmediatamente y disparar simultáneamente el cronómetro. Esperar 20 segundos y leer la absorbancia inicial. Registrar la absorbancia luego de 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Determinar la diferencia promedio de Absorbancia/min ( $\Delta A/min$ ), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores. Utilizar este promedio para los cálculos.

#### CALCULO DE LOS RESULTADOS

Fosfatasa alcalina (UI) a 405 nm =  $\Delta A/min \times 6.812$

<sup>19</sup> Marca registrada de Ciba Corning Diagnostics

#### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (Standatrol S-E 2 niveles) con actividades conocidas de fosfatasa alcalina, con cada determinación.

#### VALORES DE REFERENCIA

En adultos normales (edades entre 20 y 60 años) se observan los siguientes rangos:

Temperatura	25°C	30°C	37°C
Valores en adultos (UI)	40-190	45-213	65-300

Debido al proceso osteoclastico, la isoenzima ósea se encuentra aumentada en la niñez y adolescencia (hasta los 18 años, aproximadamente) proporcionando valores de fosfatasa alcalina más elevados que en los adultos. En condiciones normales se consideran los siguientes valores límites:

Temperatura	25°C	30°C	37°C
Valores en niños y adolescentes (UI)	hasta 400	hasta 450	hasta 645

La IFCC recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia eligiendo grupos de personas en base a criterios establecidos, acorde con el contexto de su población.

#### CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

ALP (UI)  $\times 0,017 =$  ALP (ukat/l)

#### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Los anticoagulantes comunes (tales como EDTA disódico, oxalato, citrato o fluoruro) producen inhibición de la actividad de fosfatasa alcalina.

El reactivo puede colorearse en presencia de trazas de soluciones de limpieza a base de hipoclorito. Asegurarse de enjuagar abundantemente con agua desmineralizada todo el material que pueda estar en contacto con hipoclorito, incluyendo las agujas y conexiones de los analizadores, cuando se emplea la técnica automática.

#### PERFORMANCE

Los ensayos fueron realizados en analizador Express Plus<sup>19</sup>

a) Reproducibilidad: procesando de acuerdo al documento EP15-A del CLSI (ex-NCCLS), se obtuvo lo siguiente:

##### Precisión intraensayo

Nivel	D.S.	C.V.
119 UI	$\pm 2,6$ UI	2,2 %
347 UI	$\pm 2,6$ UI	0,7 %

##### Precisión total

Nivel	D.S.	C.V.
119 UI	$\pm 2,9$ UI	2,4 %
347 UI	$\pm 3,2$ UI	0,9 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 1.500 UI. Para

valores superiores debe repetirse la determinación, previa dilución del suero 1/5 ó 1/10 con solución fisiológica. Corregir los cálculos multiplicando por el factor de dilución empleado.  
c) Límite de detección: el mínimo cambio de actividad detectable de ALP que puede distinguirse de cero es de 18 U/l.

#### PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

#### PRESENTACION

90 ml (Cód. 1008110):  
- 2 x 36 ml Reactivo A  
- 2 x 9 ml Reactivo B

100 ml (Cód. 1361402):  
- 4 x 20 ml Reactivo A  
- 1 x 20 ml Reactivo B

100 ml (Cód. 1009241):  
- 4 x 20 ml Reactivo A  
- 1 x 20 ml Reactivo B

100 ml (Cód. 1009809):  
- 4 x 20 ml Reactivo A  
- 2 x 10 ml Reactivo B

125 ml (Cód. 1009301):  
- 5 x 20 ml Reactivo A  
- 2 x 12,5 ml Reactivo B

200 ml (Cód. 1361403):  
- 4 x 40 ml Reactivo A  
- 1 x 40 ml Reactivo B

200 ml (Cód. 1009602):  
- 8 x 20 ml Reactivo A  
- 2 x 20 ml Reactivo B

200 ml (Cód. 1009909):  
- 8 x 20 ml Reactivo A  
- 2 x 20 ml Reactivo B

#### BIBLIOGRAFIA

- Bessey, O.; Lowry, O.; Brock, M. - J. Biol. Chem. 164, 231 (1948).
- Bowers, G.N. Jr.; Mc Comb, R.B. - Clin. Chem. 12:70 (1966).
- Mc Comb, R.B.; Bowers, G.N. Jr - Clin. Chem. 18:2-97 (1972).
- D.G.K.C. - Z. Clin. Chem. u. Klin. Biochem. 8: 658 (1970); 9: 484 (1971); 10: 182 (1972).
- S.S.C.C. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33/4:291 (1974).
- I.F.C.C. - Clin. Chem. 22/3: 384 (1976).
- International Union of Biochemistry Nomenclature Committee - Clin. Chim. Acta 96/1-2: 157 (1979).
- Young, D.S. - Clin. Chem. 21/5: 248 D (1975).
- I.F.C.C. - Clin. Chim. Acta 87/3: 459F (1978).
- Demaría, I.; Setta, F.; Lorenzo, L. - Rev. Asoc. Bioq. Arg. 54/3 (1990).
- Schlebusch, H.; Rick, W.; Lang, H. and Knedel, M. - Dtsch. Med. Wschr. 99:765 (1974).
- Rick, W. - Klinische Chemie und Mikroskopie, p.294, 6ª ed., Springer Verlag, Berlin (1990).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", EP5-A (1999).
- NCCLS document "Evaluation of Linearity of Quantitative

Analytical Methods", EP5-A (1988).

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4ª ed., 2001.

#### SÍMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea

 Uso diagnóstico "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos

 Fecha de caducidad

 Límite de temperatura (conservar a)

 No congelar

 Riesgo biológico

 Volumen después de la reconstitución

 Contenido

 Número de lote

 Elaborado por:

 No plomo

 Corrosivo / Cáustico

 Irritante

 Consultar Instrucciones de uso

 Calibrador

 Control

 Control Positivo

 Control Negativo

 Número de catálogo



LINEA LIQUIDA

# Amilasa 405

## AA

Método cinético a 405 nm para la determinación de amilasa en suero, plasma u orina. Sustrato CNPG3

### SIGNIFICACION CLINICA

La amilasa, producida principalmente en el páncreas exocrino y en las glándulas salivales, escinde los enlaces  $\alpha$ -1-4 glucosídicos de los polisacáridos (almidón y glucógeno).

Se encuentra elevada en el suero de pacientes con pancreatitis aguda alcanzando los valores más elevados entre las 24 y 30 horas posteriores al ataque, declinando luego para volver a los niveles normales entre las 24 y 48 horas siguientes.

También se ve aumentada en este caso la excreción urinaria de la enzima, persistiendo la hiperamilasuria 3 a 5 días, luego de que la actividad sérica ha alcanzado los niveles normales. También es posible encontrar valores aumentados en cualquier caso de "abdomen agudo" o intervención quirúrgica en regiones próximas al páncreas.

La parotiditis bacteriana y paperas se asocian también con elevaciones en los niveles de amilasa sérica.

### FUNDAMENTOS DEL METODO

La  $\alpha$ -amilasa hidroliza el sustrato definido 2-cloro-p-nitrofenil- $\alpha$ -D-maltotriósido (CNP-G3) para liberar 2-cloro-p-nitrofenol (CNP), formándose 2-cloro-nitrofenil- $\alpha$ -D-maltósido (CNP-G2), maltotriosa (G3) y glucosa. El CNP absorbe a 405 nm y la velocidad de aparición del color es directamente proporcional a la actividad enzimática.

### REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** solución conteniendo CNP-G3 2,25 mmol/l, cloruro de calcio 5 mmol/l, cloruro de sodio 70 mmol/l, tiosulfato de potasio 900 mmol/l y buffer MES pH 6, 100 mmol/l.

### INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivo A:** listo para usar.

### PRECAUCIONES

El Reactivo A es para uso diagnóstico "in vitro".

El Reactivo A es irritante. H319: Provoca irritación ocular grave. P262: Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

### ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

**Reactivo Provisto:** estable en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

### INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

El Reactivo A puede presentar una coloración amarillenta que no afecta su funcionamiento.

Cuando el espectrofotómetro ha sido llevado a cero con agua destilada, las lecturas de absorbancia del Reactivo A superiores a 0,500 D.O. (a 405 nm) son indicio de deterioro del mismo.

### MUESTRA

Suero, plasma heparinizado u orina

**a) Recolección:** si se utiliza suero, obtener de la manera usual. Separar el suero del coágulo lo más rápidamente posible. En caso de usar plasma éste debe ser heparinizado. Si se emplea orina, la determinación puede efectuarse en una muestra de orina ocasional.

**b) Aditivos:** en caso de usar plasma, debe utilizarse heparina para su obtención. Si se usa orina ver d).

**c) Sustancias Interferentes conocidas:** no se observan interferencias por bilirrubina hasta 22 mg/dl (220 mg/l), hemoglobina hasta 180 mg/dl, triglicéridos hasta 1400 mg/dl (14 g/l), ni heparina hasta 50 U/ml.

En el caso de orina no debe agregarse ácido clorhídrico como conservador.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

**d) Estabilidad e Instrucciones de almacenamiento:** en suero la amilasa es estable durante una semana a temperatura ambiente (si se evita la contaminación bacteriana) o varios meses refrigerada.

En orina, si la muestra no se procesa en el día, es conveniente ajustar el pH aproximadamente a 7 (con hidróxido de sodio) dado que el pH ácido inactiva la enzima irreversiblemente. A pH 7 puede conservarse refrigerada por lo menos 10 días sin pérdida de actividad, si no existe contaminación bacteriana.

### MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Baño de agua a la temperatura de reacción seleccionada.
- Cronómetro.

#### CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 405 nm
- Temperatura de reacción: 25, 30 ó 37°C
- Tiempo de reacción: 2 minutos

#### PROCEDIMIENTO

##### A) 25-30°C

En una cubeta mantenida a la temperatura seleccionada, colocar:

Reactivo A 2 ml

Preincubar 3-4 minutos. Luego agregar:

Muestra 100 ul

Mezclar inmediatamente y leer absorbancia luego de 1 y 2 minutos. Determinar la diferencia entre la segunda y la primera lectura. Utilizar este valor para los cálculos. Se pueden disminuir proporcionalmente los volúmenes usando 1 ml de Reactivo A y 50 ul de Muestra.

##### B) 37°C

Como la actividad a esta temperatura es mayor, emplear 50 ul de Muestra. Seguir el procedimiento según A). Se pueden disminuir los volúmenes usando 1 ml de Reactivo A y 20 ul de Muestra.

#### CALCULO DE LOS RESULTADOS

Amlasa (U/l) =  $\Delta A/\text{min} \times \text{factor}^*$

Temperatura	Reactivo A	Muestra	Factor
25-30°C	2 ml	100 ul	1.628
	1 ml	50 ul	1.628
37°C	2 ml	50 ul	3.178
	1 ml	20 ul	3.953

\*los factores están calculados de acuerdo a la siguiente fórmula general:

$$\text{Factor} = \frac{VT}{VM \times b \times \epsilon_{\text{CNP}} \times 10^{-3}}$$

donde:

VT: volumen total

VM: volumen de muestra

b: paso óptico

$\epsilon_{\text{CNP}}$ : coeficiente de absorptividad milimolar del CNP

$10^{-3}$ : factor de conversión (absorptividad milimolar a micromolar)

#### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Si la muestra a ensayar es suero, procesar 2 niveles de un material de control de calidad (Standatrol S-E 2 niveles) con actividades conocidas de amilasa, con cada determinación.

#### VALORES DE REFERENCIA

Temperatura	25°C	30°C*	37°C
Suero hasta	84 U/l	100 U/l	125 U/l
Orina ocasional hasta**	455 U/l	540 U/l	680 U/l

\* Calculados

\*\* Estos valores de referencia se obtuvieron de una población sana (n = 40), de ambos sexos, con edades comprendidas entre 17 y 40 años, con una dieta mixta normal, sin síntomas de enfermedad aparente.

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

#### CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Amlasa (U/l) x 0,017 = Amlasa (ukat/l)

#### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

No pipetear con la boca.

Constituye una causa de resultado erróneo la contaminación del Reactivo A con saliva, dada la elevada actividad amilásica de la misma. En tal caso, descartar el Reactivo.

Evitar el contacto con elementos de goma (tapones, contratapas) que deterioran el Reactivo A.

#### PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente replicados de una misma muestra en un mismo día se obtiene:

Nivel	D.S.	C.V.
51 U/l	± 0,978 U/l	1,9 %
467 U/l	± 2,139 U/l	0,46 %

b) Sensibilidad: depende del fotómetro empleado. En espectrofotómetro a 405 nm con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un  $\Delta A/\text{min}$  de 0,001 el mínimo cambio de actividad detectable será de 4 U/l (a 37°C).

c) Linealidad: la reacción es lineal hasta una actividad de amilasa de 2000 U/l. Para valores superiores, usar muestra diluida con solución salina, repetir la determinación y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

#### PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

#### PRESENTACION

- 1 x 37 ml (Cód. 1008142)
- 3 x 10 ml (Cód. 1021404)
- 3 x 10 ml (Cód. 1009326)
- 4 x 20 ml (Cód. 1009243)
- 4 x 20 ml (Cód. 1009603)
- 4 x 20 ml (Cód. 1009910)

#### BIBLIOGRAFIA

- Rauscher, E. et al - Clin. Chem. 31/1:14, 1985.
- Tietz, N. - Clinical Guide to Laboratory Tests - W.B. Saunders Co., 1983.
- Lorenzo, L.; Demaria, I.; Setta, F.; Taborda, M. - 44th National Meeting, AACC, 19-23 julio, 1992, Chicago, Illinois. Clin. Chem. 38/6:935, Abs. 3, 1992.
- Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular - Química Clínica 15/1:51, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- NCCLS document "Evaluation of the Linearity of Quantitative Analytical Methods", EP6-P (1986).



## FOTOGRAFÍAS



**Foto 1:** Centro Experimental Carolina



**Foto 2:** Prueba del levantamiento de los cuartos traseros



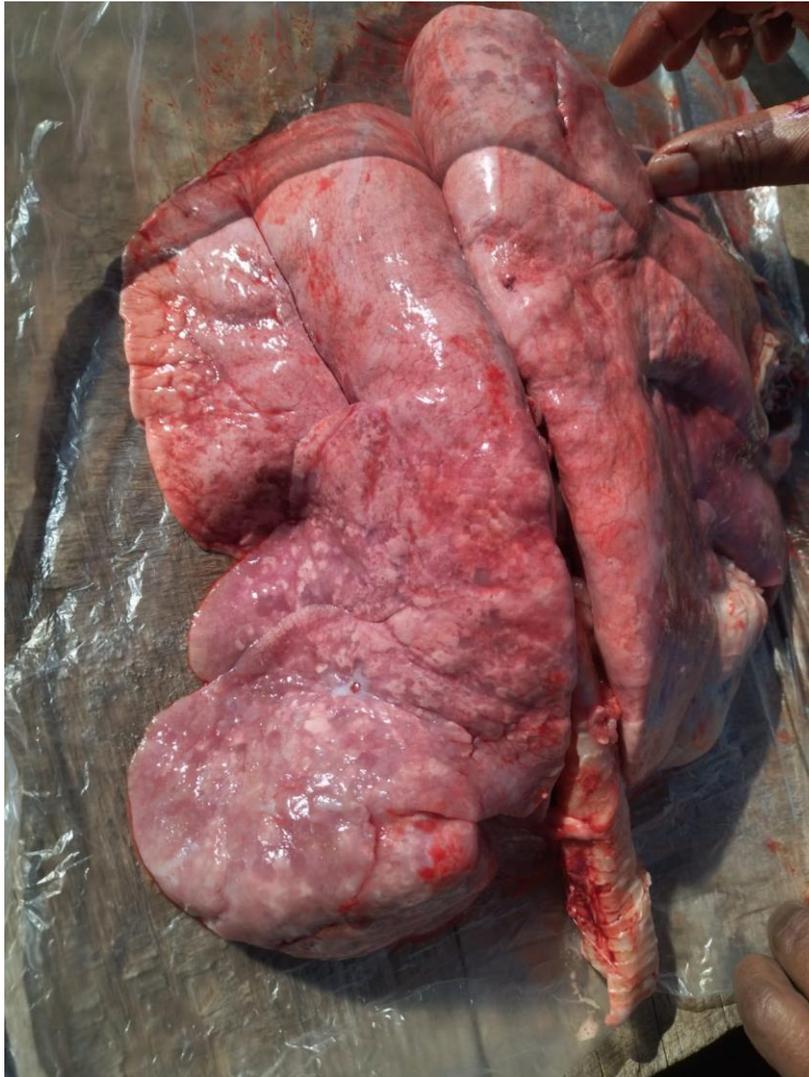
**Foto 4:** Secreción de las fosas nasales



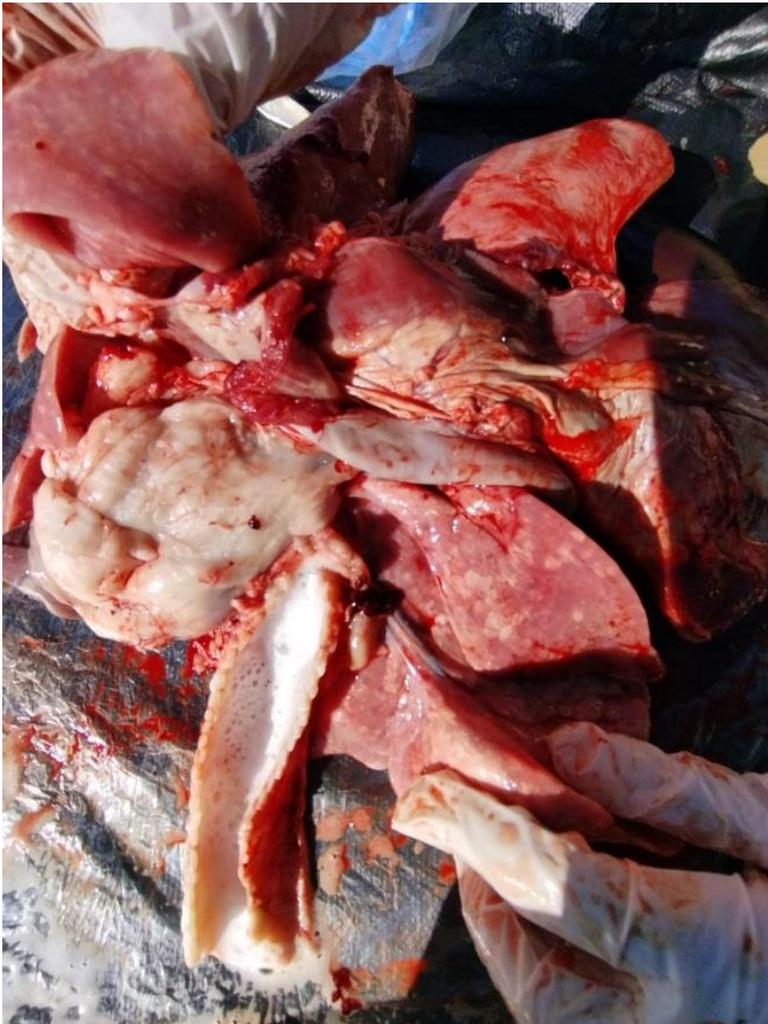
**Foto 5:** Desinfección y extracción de sangre



**Foto 6:** Secreción espumosa en la sangría



**Foto 7:** Pulmón de ovino con APO



**Foto 8:** Secreción espumosa en tráquea de ovino con APO



## ANEXO 13: Declaración jurada de autenticidad



Universidad Nacional  
del Altiplano Puno



Vicerrectorado  
de Investigación



Repositorio  
Institucional

### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo DAVID MARINO BELIZARIO BELIZARIO,  
identificado con DNI 40923218 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado  
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:  
" ACTIVIDAD ENZIMÁTICA SANGUÍNEA EN EL  
ADENOCARCINOMA PULMONAR QUÍMICO (APO) DEL CENTRO  
EXPERIMENTAL CAROLINA DE LA UNA-PUNO (4,000 M.S.N.M.)"

Es un tema original.

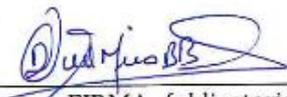
Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 21 de MAYO del 2024

  
FIRMA (obligatoria)



Huella



## ANEXO 14: Autorización para el depósito de tesis o trabajo de investigación en el Repositorio Institucional



Universidad Nacional  
del Altiplano Puno



VRI  
Vicerrectorado  
de Investigación



Repositorio  
Institucional

### AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo DAVID MARINO BELIZARIO BELIZARIO,  
identificado con DNI 40923218 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

“ ACTIVIDAD ENZIMÁTICA SANGUÍNEA EN EL  
ADENOCARCINOMA PULMONAR QUIÑO (APO) DEL CENTRO  
EXPERIMENTAL CAROLINA DE LA UNA-PUNO (4,000 M.S.N.M.) ”

para la obtención de  Grado,  Título Profesional o  Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 21 de MAYO del 20 24

FIRMA (obligatoria)



Huella