

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE LAS
ENZIMAS SERICAS: TRANSAMINASA GLUTAMICO-
OXALACETICA, TRANSAMINASA GLUTAMICO-
PIRUVICA Y FOSFATASA ALCALINA EN LA
CODORNIZ JAPONESA.
(coturnix, coturnix japonica)

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

MARTHA ADRIANA NATHAL VERA

Asesor: Q.F.B. Carmen Yolanda Partida Ortiz

GUADALAJARA, JAL. 1986

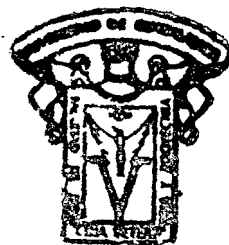
DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE LAS ENZIMAS SERICAS:
TRANSAMINASA GLUTAMICO-OXALACETICA, TRANSAMINASA GLUTAMI-
CO-PIRUVICA Y FOSFATASA ALCALINA EN LA CODORNIZ JAPONESA.
(COTURNIX, COTURNIX JAPONICA).

A LA MEMORIA DE MIS PADRES

MARTHA Y GILBERTO

A mi jurado:

M.V.Z. Rodolfo J. Barba López
M.V.Z. Roberto F. Campos Hurtado
M.V.Z. Arturo Ceseña Cayeros
M.V.Z. Gustavo Corona Cuellar
M.V.Z. Rubén Loeza Elgueros



OFICINA DE
ESTUDIOS CIENTÍFICOS

A mi asesor:

Q.F.B. C. Yolanda Partida Ortiz

A mi familia y amigos.

A Luz Consuelo

De forma especial para:

Silvia, Alejandro, J. Antonio
Fernando, J. Guadalupe, Jesús
Waldina, Lilia Gpe., Celina,
Salvador.



OFICINA DE
SELECCIÓN CIENTÍFICA

A V.R.L.

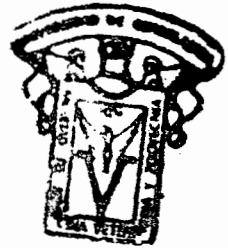
Mi agradecimiento a los
señores:

Alfredo Soto Alcalá
Quinicio Padilla G.

A quienes hayan contribuido
a la realización de este
trabajo.

CONTENIDO

PROLOGO.....	2
INTRODUCCION.....	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	10
HIPOTESIS.....	11
OBJETIVOS.....	12
MATERIAL Y METODOS.....	13
RESULTADOS.....	21
DISCUSION.....	31
CONCLUSIONES.....	32
RESUMEN.....	33
BIBLIOGRAFIA.....	34
ABREVIATURAS.....	36



OFICINA DE
BIBLIOTECA CIENTIFICA

PROLOGO

El presente trabajo forma parte de un proyecto de investigación que se lleva a cabo en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de -- Guadalajara.

Dicho proyecto tiene como objetivo cuantificar los principales componentes químicos sanguíneos normales de la codorniz japonesa (*C. coturnix japonica*) durante su etapa de máxima postura y consta de varios estudios interrelacionados, como son:

- B. Determinación de proteínas séricas.
- C. Determinación de calcio y fósforo plasmáticos.
- D. Determinación de urea, nitrógeno ureico y nitrógeno residual en suero.
- E. Determinación de citología hemática.
- F. Determinación de amilasa, lipasa y glucosa sérica.
- G. Cuantificación de microelementos séricos.
- H. Determinación de colesterol y bilirrubina.
- I. Cuantificación de inmunoglobulinas.
- J. Otros.

METAS.

El conocimiento de la composición química cuantitativa normal de esta especie tiene la finalidad de:

- Detectar estados patológicos que se manifiesten con cambios en la concentración de componentes sanguíneos.
- Evaluar los efectos de fármacos, aditivos alimentarios, etc.
- Determinar en cuales componentes pudiera radicar la resistencia de la codorniz japonesa a enfermedades infecciosas a las cuales son muy susceptibles las gallinas domésticas.

INTRODUCCION

El problema de la alimentación del hombre ha sido una de las principales preocupaciones de la humanidad, por ello corresponde al Médico Veterinario y Zootecnista como tarea primordial - promover la producción de una mayor cantidad de alimento de origen animal a un bajo costo y así hacerlo más accesible a toda la población.

Resolver este problema plantea la organización técnica para el mejor aprovechamiento de los recursos disponibles, elevando la producción pecuaria, mediante sistemas de explotación más avanzados, proporcionando alimentos de origen animal, los cuales en una adecuada combinación permitan una equilibrada nutrición - garantizando con ello el pleno desarrollo de los individuos ya que desafortunadamente en nuestro país la dieta promedio tiene profundas deficiencias nutricionales.

La industria avícola ha contribuido desde el punto de vista económico y social, con su aportación de carne y huevo que en la actualidad siguen siendo de los productos pecuarios más económicos proporcionando una buena fuente nutricional, ya que las aves domésticas son capaces de transformar más eficientemente el alimento consumido en proteína de origen animal. (9,11)

La cría y explotación de la codorniz (coturnicultura) a pesar de ser relativamente reciente en nuestro país se ha ido popularizando cada vez más en el mercado.

La descripción filogénica de esta ave es la siguiente:

ESPECIE:	Aves
ORDEN:	Gallináceas
FAMILIA:	Faisánidas
GENERO:	Coturnix
VARIEDAD:	Coturnix, coturnix japónica o codorniz japonesa

El género Coturnix comprende las especies europeas: C. communis Bonn Modern y C. coturnix coturnix japónica.

Las razas más difundidas de codornices son: la Japonesa, Inglesa, Tuxedd y Manchuri Golden. Sus características de rendimiento, manejo y alimentación son casi idénticas y solo hay variaciones en el color, tamaño, plumaje. (5)

La cría de la codorniz japonesa tiene las siguientes ventajas:

- 1) Ocupan un espacio reducido.
- 2) El consumo de alimento es proporcionalmente bajo, ya que tiene una conversión alimenticia alta.
- 3) Su madurez sexual se alcanza rápidamente.
- 4) Tiene una buena producción de huevo (300/año promedio).
- 5) Posee elevado nivel metabólico.
- 6) Los huevos de codorniz superan proporcionalmente al de la gallina en su contenido proteico, en algunas vitaminas y microelementos.
- 7) La carne de la codorniz tiene un sabor agradable y es muy apreciada.

(4,6)

PARAMETROS FISIOLÓGICOS DE LA CODORNIZ Y LA GALLINA

CARACTERÍSTICAS	GALLINA	CODORNIZ
Duración de la incubación	21 días	16-18 días
Temperatura de incubación	41 °C	37.5 °C
Densidad de población-animales	1 pollito	5 codornices
Edad a la madurez sexual	150-180 días	50 días
Postura por animal/año	240 huevos	300 huevos
Vida útil	2 años	2 años
Peso del huevo en relación con el peso corporal= 100 %	3 %	8 %
Alimento consumido por kilogramo de huevo producido	3.5 kg	2 kg
Peso del huevo	50 g	10 g

CUADRO 1 (8)

El ciclo de producción de huevo es variable dependiendo de la forma de crianza y del productor, variando desde 50 días hasta 12 meses en su mayoría, el máximo de postura se alcanza después de los 100 días de edad, alcanzando un peso corporal de 95-120 g entre la 6ª y 8ª semana.

Para una buena producción requieren de 14-16 horas/día de luz, si se desea exclusivamente la producción de carne es recomendable restringir el período de luz a solo 8 horas/día y así retardar el alcance de la madurez y actividad sexual.

El consumo diario de alimento por ave es de 20-25 g y su conversión alimenticia es de 2.5 %. (21,5,16)

La carne de la codorniz es más delicada, en la hembra, aunque en los criaderos generalmente son los machos los que se destinan para consumo.

El músculo de esta ave posee escasa infiltración grasa y está constituido por proteína de alto valor biológico, el color de la carne de la codorniz es muy similar al de la liebre aunque en ocasiones puede ser más clara.

La explotación de la codorniz japonesa no reemplaza a la cría avícola tradicional, pero constituye un alimento que puede competir también con la producción de carne roja.

Para contribuir a un mejor conocimiento de la codorniz japonesa respecto a su perfil metabólico y establecer parámetros promedio, ya que hasta este momento encontramos relativamente poca información acerca de esta especie, lo cual fue un incentivo para la realización del presente trabajo, puesto que se tienen referencias sobre valores enzimáticos séricos en otras especies (mamíferos principalmente), pero en aves es escasa. (24,26,1,17)

PRUEBAS ENZIMATICAS.

Las enzimas son proteínas que catalizan reacciones químicas esenciales para la vida, actúan en pequeñas cantidades y tienen una capacidad de activación específica que resulta de la combinación de la enzima con el sustrato sobre el que actúa,

modificando la configuración electrónica del enlace en el que ejerce su acción.

Muchos aspectos de la regulación metabólica y la diferenciación celular se pueden explicar en términos de los mecanismos que controlan la amplia variedad y cantidad de enzimas sintetizadas por una célula viva o su actividad reguladora.

Las enzimas se producen intracelularmente en las células vivas, son liberadas en el plasma y los líquidos corporales. Su actividad puede ser medida por su capacidad para catalizar las reacciones químicas.

la actividad catalítica de una enzima se expresa en "Unidades Internacionales", que como lo define la Comisión sobre enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica: una enzima es la cantidad que puede catalizar la transformación de un micromol de sustrato por minuto bajo condiciones definidas. Generalmente se relacionan con un volumen de un mililitro, expresándose en miliunidades (mU/ml). (20)

Las enzimas se denominan y clasifican de acuerdo con el tipo de reacción y la especificidad del sustrato. Las enzimas objeto del presente estudio se clasifican de la siguiente forma:

TRANSFERASAS:

Enzimas que catalizan la transferencia de grupos químicos.

- A. Transaminasa glutámico-oxalácetica (GOT).
- B. Transaminasa glutámico-pirúvica (GPT).

HIDROLASAS:

Enzimas que catalizan el desdoblamiento del sustrato con la fijación de agua.

- A. Fosfatasa alcalina sérica (FAS).

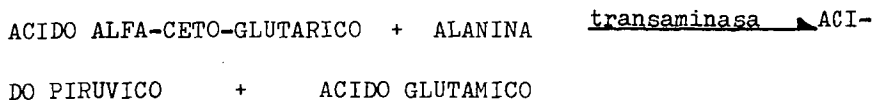
DISTRIBUCION DE LAS ENZIMAS EN LOS TEJIDOS

ENZIMA	FUENTES PRINCIPALES
TRANSAMINASA GLUTAMICO PIRUVICA	HIGADO
TRANSAMINASA GLUTAMICO OXALACETICA	HIGADO, CORAZON, MUSCU- LO ESQUELETICO
FOSFATASA ALCALINA	HIGADO, HUESO MUCOSA IN TESTINAL, RIÑON

CUADRO 2 (19)

La determinación de estas enzimas está estrechamente relacionada principalmente cuando se efectúan pruebas de funcionamiento hepático. Las lesiones hepatocelulares pueden manifestarse por hiperbilirrubinemia con aumento predominante de las enzimas de origen parenquimatoso como la GOT y GPT, en estos casos los aumentos de la fosfatasa alcalina pueden ser mínimos y una obstrucción más completa se manifiesta por el aumento tanto de la bilirrubina como de la fosfatasa alcalina.

Las transaminasas catalizan la transferencia de un grupo amino (NH_2) de un ácido alfa amino a ácido alfa ceto glutárico produciendo la formación de ácido pirúvico y glutámico respectivamente.



La transaminasa glutámico pirúvica cataliza la transferencia del grupo alfa amino de ácido aspártico a ácido cetoglutárico produciendo la formación de ácido oxalácetico y ácido glutámico respectivamente.

ACIDO ALFA-CETOGLUTARICO + ACIDO ASPARTICO transaminasa
 ACIDO OXALACETICO + ACIDO GLUTAMICO

Se han propuesto los términos de alanino aminotransferasa para la GPT y aspartato aminotransferasa para la GOT, pero la terminología anterior se ha generalizado en la práctica clínica.

La fosfatasa alcalina sérica (FAS), constituye un grupo enzimático que participa en la hidrólisis de los monoésteres del fosfato a un pH alcalino (aproximadamente 9). La fosfatasa alcalina es importante para el transporte del azúcar y los fosfatos en la mucosa intestinal, túbulos renales y huesos. (19,14).

ALTERACIONES ENZIMATICAS Y SU SIGNIFICADO PARA EL
 DIAGNOSTICO DE CUADROS PATOLOGICAS.

PATOLOGIA	GOT	GPT	FAS
Enfermedad hepatocelular	↑	↑	↑
A. Ictericia prehepática (Sin patología hepática)	N	N	N
B. Ictericia intrahepática (Daño hepatocelular)	↑	↑	↑
C. Ictericia posthepática (Obstrucción conducto biliar)	N*	N*	↑
Necrosis músculo esquelético	↑	N	N
Necrosis músculo cardiaco	↑	N	N
Raquitismo	N	N	↑
Osteomalacia	N	N	↑
Tumores óseos	N	N	↑

CUADRO 3

(19,7)

↑ Aumento actividad

N Normal

N* Si la obstrucción ha estado presente varios días la GOT y GPT pueden incrementarse como resultado de una necrosis.

La transaminasa glutámico oxalacética es una de las enzimas más ampliamente usada en determinaciones de enfermedades neuromusculares, principalmente en casos donde se presenta necrosis y lisis de fibras musculares, por ejemplo en la distrofia muscular hereditaria en pollos, donde se presenta un incremento de actividad.

La actividad de la GOT es más alta en pollos que en otras especies pero en contraste la GPT no tiene una actividad muy perceptible. (28, 13, 18, 10)

La mayoría de los casos en que aparece aumentada la fosfatasa alcalina se relaciona con enfermedades hepáticas, óseas o de ambos tejidos a la vez. Por consiguiente, estos órganos deben tomarse en cuenta en primer lugar en un diagnóstico diferencial.

El incremento de la fosfatasa alcalina se debe particularmente a una respuesta en lesiones coléstaticas, y sirve de indicador sensible de la existencia de lesiones obstructivas, neoplásicas ó infiltrativas.

Las enfermedades óseas que se acompañan de aumento de fosfatasa alcalina en suero se limitan sobre todo a las que presentan actividad osteoblástica.

Se observa un incremento también como consecuencia de fracturas. Existe una correlación entre los niveles de fosfatasa alcalina y el incremento de la actividad celular en varios órganos y tejidos, particularmente en los huesos, en aves jóvenes hay un elevado nivel de actividad enzimática, el nivel de fosfatasa en sangre es más bajo en aves adultas que en animales en crecimiento. Durante la formación del huevo se presentan algunas diferencias en los niveles de fosfatasa el cual se explica por el decremento simultáneo del número de osteoblastos.

(14, 26, 2, 4, 25, 23).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

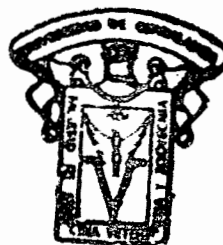
Tomando como base la escasa información en aves y menos aún en codorniz japonesa existente sobre este tema, se pretende con este trabajo contribuir a la determinación del valor promedio de las enzimas séricas: transaminasa glutámico oxalacética, transaminasa glutámico pirúvica y fosfatasa alcalina; para establecer parámetros que nos permitan una interpretación de las alteraciones del equilibrio fisiológico de la codorniz japonesa.



OFICINA DE
INVESTIGACION CIENTÍFICA

HIPOTESIS

No existe diferencia significativa entre los niveles de las enzimas séricas: Transaminasa glutámico oxaláctica, transaminasa -- glutámico pirúvica y fosfatasa alcalina entre la gallina y la codorniz japonesa.



OFICINA DE
FISIOLÓGIA GENTÍFICA

OBJETIVO GENERAL:

Cuantificar los niveles de enzimas séricas en codorniz japonesa adulta durante su etapa de mayor porcentaje de postura.

OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Determinar valores de referencia de Transaminasa glutámico oxalacética y Transaminasa glutámico pirúvica en suero de codorniz japonesa de 15 a 30 semanas de edad.
2. Conocer los valores promedio de Fosfatasa alcalina en suero de codorniz japonesa de 15 a 30 semanas de edad.

MATERIAL Y METODOS

EQUIPO DE LABORATORIO:

1. Material usual en laboratorio de analisis clínicos.
2. Espectrofotómetro.
3. Centrifuga para tubos de ensayo.

MATERIAL BIOLÓGICO:

100 codornices japonesas hembras entre las 15-30 semanas de edad con un promedio de 110 g de peso corporal. Las aves fueron tomadas al azar de un lote de 2000 codornices, las cuales tenían un porcentaje de postura entre 80-85 %.

El muestreo se llevó a cabo durante los meses de abril, mayo y junio de 1986.

Las condiciones a que estuvieron sometidas las aves son las siguientes:

Alojamiento: Las codornices se encontraban en jaulas metálicas con capacidad para 10-12 animales y colocadas en forma de batería. Ubicadas en una caseta cerrada con ventilación controlada mediante cortinas.

Alimentación: Consumían un alimento comercial para iniciación de pollitas con un 21.5 % de proteína y complementado con carbonato de calcio.

Agua: Potable.

Luz: Las aves estaban sometidas a un período de 18 horas de luz por 8 de oscuridad.

Previamente a la toma de sangre para el muestreo las aves fueron sometidas a una dieta de alimento de un mínimo de 12 horas, proporcionándoles únicamente agua.

A cada una de las aves se le efectuó punción intracardiaca con una guja calibre 21 x 35 mm de longitud, obteniendo aproximadamente

5 ml de sangre, después del sangrado se sacrificaron los animales mediante dislocación cervical.

La sangre obtenida se depositaba en un tubo de ensayo de 10 ml - para promover la coagulación (25 min), el suero se separaba mediante centrifugación de la sangre coagulada a 1 500 rpm durante 10 minutos. Mediante este procedimiento fue posible aislar alrededor de 1.5 ml de suero el cual se empleó para la determinación de las enzimas séricas.

REACTIVOS:

A. TRANSAMINASA GLUTAMICO-OXALACETICA (GOT):*

1. Solución amortiguadora de sustrato (amortiguador de fosfatos 100 mM a pH 7.4; L-aspartato 100 mM; o -cetoglutarato 2 mM).
2. Reactivo de coloración (2,4-dinitrofenilhidracina 1,5 mM)
3. Patrón (concentrado, piruvato sódico 2 mM).
4. Solución de hidróxido de sodio 0.4 N.

B. TRANSAMINASA GLUTAMICO-PIRUVICA (GPT):*

1. Solución amortiguadora de sustrato (amortiguador de fosfatos 100 mM a pH 7.4; DL-alanina 200 mM; o -cetoglutarato 2 mM).
2. Reactivo de coloración (2,4-dinitrofenilhidracina 1.5 mM)
3. Patrón (concentrado, piruvato sódico 2 mM).
4. Solución de hidróxido de sodio 0.4 N.

C. FOSFATASA ALCALINA (FAS):*

1. Amortiguador (glicina y NaOH 50 mmol/l a pH 10.5 $MgCl_2$ 0.5 mM).
2. Sustrato-amortiguador (Glicina y NaOH 50 mmol/l a pH 10.5 $MgCl_2$ 0.5 mM p-Nitrofenilfosfato 5.5 mmol/l).
3. Hidróxido de sodio 0.02 N.

* Reactivos de diagnóstico MERCK, según fórmula de E. Merck, Darmstadt, R.F. de Alemania.

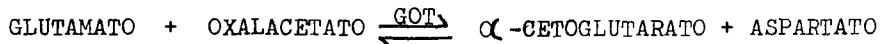
TECNICA DE SANGRADO:

1. Sujetar el ave sobre una mesa en posición decúbito dorsal, sosteniéndola firmemente de sus extremidades podálicas y con las alas extendidas.
2. Localizar el hueco formado a nivel del quinto espacio intercostal, eliminando las plumas del área.
3. Desinfectar la región con una torunda impregnada de alcohol.
4. Colocar el pulgar izquierdo en el hueco localizado e insertar la aguja inmediatamente por debajo del dedo, hasta $3/4$ partes de su longitud y en forma perpendicular a la línea que sigue el esternón.
5. Hacer tracción del émbolo hasta tener un fluido constante de sangre. Si esto no sucede avanzar o sacar lentamente la aguja según sea el caso.
6. Extraer la cantidad de sangre deseada mediante tracción del émbolo en forma lenta para evitar la lisis de los eritrocitos.
7. Retirar la aguja mediante un movimiento firme y rápido. Separar la aguja de la jeringa y depositar la sangre en un tubo de centrifuga dirigiendo el flujo hacia las paredes del tubo, para evitar hemólisis.
8. Esperar a que coagule la sangre en los tubos, después separar el coágulo con un palillo de madera de las paredes del tubo.
9. Mediante centrifugación separar el suero y colocarlo en tubos de ensayo.

TECNICA PARA DETERMINAR LA TRANSAMINASA
GLUTAMICO-OXALACETICA.

FUNDAMENTO:

La transaminasa glutámico oxalácetica cataliza la transferencia del grupo amino del glutamato al oxalacetato según la siguiente ecuación.



Para la determinación de GOT según Reitman y Frankel se deja actuar el suero problema en solución amortiguadora sobre cetoglutarato y aspartato y se mide la cantidad producida de oxalacetato. El producto de reacción puede determinarse fotométricamente en forma de 2,4-dinitrofenilhidrazona, en solución alcalina. Puesto que también el α -cetoglutarato que se produce de la reacción forma una hidrazona, se mide en el intervalo de 500 a 560 nm, dentro del cual las extinciones de las hidrazonas se distinguen en máximo grado. Se mide a una concentración subóptima de α -cetoglutarato, para no obtener valores blancos demasiado elevados.

(22)

TECNICA:

PREPARAR PARA CADA ANALISIS UNA PRUEBA EN BLANCO.

PIPETEAR EN TUBOS DE ENSAYO:		
	PROBLEMA	BLANCO
Solución amortiguadora de sustrato(1)	0. ml	0.5 ml
Colocar 5 min en baño de agua a 37°C		
Suero(reciente, no hemolítico)	0.2 ml	-
Mezclar, incubar exactamente 30 min a 37°C		
Reactivo de coloración (2)	0.5 ml	0.5 ml
Suero	-	0.2 ml
Mezclar, dejar en reposo exactamente 20 min a temperatura ambiente.		
Hidróxido de sodio 0.4 N	5.0 ml	5.0 ml
Mesclar, después de 5-30 min, medir la extinción del problema contra la prueba en blanco.		

Filtro entre 500 y 560 nm, p.ej. 546 nm

Espesor de la cubeta
1 cm.

CALCULO:

Los valores relativos a la actividad de GOT pueden deducirse de la tabla siguiente, mediante las extinciones medidas a 546 nm. - Se obtienen por comparación con el método UV convencional (MDH como enzima indicadora).

TABLA PARA LA OBTENCION DE LA ACTIVIDAD POR VOLUMEN
(utilizable solamente para mediciones efectuadas a 546 nm)

Extincio- nes	Método UV convencional mU/ml	Extincio nes	Método UV convencional mU/ml
0.02	3	0.16	34
0.04	6	0.18	41
0.06	10	0.20	50
0.08	14	0.22	60
0.10	18	0.24	72
0.12	23	0.26	86
0.14	28		

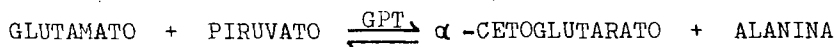


OFICINA DE
IDENTIFICACION

TECNICA PARA DETERMINAR LA TRANSAMINASA
GLUTAMICO-PIRUVICA.

FUNDAMENTO:

La glutamato-piruvato-transaminasa cataliza la transferencia del grupo amino del glutamato al piruvato según la siguiente ecuación



Para la determinación de GPT según Reitman y Frankel se deja actuar el suero problema en solución amortiguadora sobre cetoglutarato y alanina y se mide la cantidad de piruvato producida. El producto de reacción puede determinarse fotométricamente en forma de 2,4-dinitrofenilhidrazona, en solución alcalina. Puesto que también el α -cetoglutarato que se produce en la reacción forma una hidrazona se mide en el intervalo de 500 a 560 nm, dentro del cual las extinciones de las hidrazonas se distinguen en máximo grado. Se mide a una concentración subóptima de α -cetoglutarato, para no obtener valores blancos demasiado elevados. (22)

TECNICA:

Preparar para cada análisis una prueba en blanco.

PIPETEAR EN TUBOS DE ENSAYO:		
	PROBLEMA	BLANCO
Solución amortiguadora de sustrato (1)	0.5 ml	0.5 ml
Colocar 5 min en baño de agua a 37°C		
Suero (reciente, no hemolizado)	0.1 ml	-
Mezclar, incubar exactamente 30 min a 37°C		
Reactivo de coloración (2)	0.5 ml	0.5 ml
Suero	-	0.1 ml
Mezclar, dejar reposar exactamente 20 min a temperatura ambiente.		
Hidróxido de sodio 0.4 N	5.0 ml	5.0 ml
Mezclar, después de 5-30 min medir la extinción del problema contra la prueba en blanco.		

Filtro entre 500 y 560 nm, p.ej. 546 nm Espesor de la cubeta: 1 cm

CALCULO:

Los valores relativos a la actividad de GPT pueden deducirse de la tabla siguiente, mediante las extinciones medidas a 546 nm. Se obtienen por comparación con el método UV convencional (LDH como enzima indicadora).

TABLA PARA LA OBTENCION DE LA ACTIVIDAD POR VOLUMEN
(Utilizable solamente para mediciones efectuadas a 546 nm)

Extinciones	Método convencional mU/ml	Extinciones	Método convencional mU/ml
0.005	0.75	0.18	22
0.01	1.50	0.20	26
0.02	3.0	0.22	29
0.04	5.0	0.24	32
0.06	8.0	0.26	36
0.08	10.0	0.28	39
0.10	13.0	0.30	43
0.12	16.0	0.32	46
0.14	19.0	0.34	50
0.16	22.0	0.36	53



OFICINA DE
MEDICINA GENERAL

TECNICA PARA DETERMINAR LA FOSFATASA ALCALINA

FUNDAMENTO:

Las fosfatasas catalizan la hidrólisis de los ésteres del ácido fosfórico. En función de los valores pH a que logran su actividad máxima, se distinguen dos tipos de fosfatasas: ácida y alcalina.

Para la determinación de las fosfatasas según Bessey, Lowry y Brock, se utiliza como sustrato el p-nitrofenilfosfato, que por la acción de la enzima se escinde en p-nitrofenol y ácido fosfórico. Añadiendo hidróxido de sodio se interrumpe la reacción. El nitrofenol liberado se encuentra en forma de anión de color amarillo, que puede determinarse fotométricamente. La cantidad de p-nitrofenol liberado en la unidad de tiempo es directamente proporcional a la actividad de la fosfatasa.

TECNICA:

Para cada análisis se prepara un blanco.

Pipetear en un tubo de ensayo :		
	PROBLEMA	BLANCO
Sustrato amortiguador (2)	1.0 ml	1.0 ml
Dejar 5 minutos en baño de agua a 37 °C.		
Suero (reciente)	0.1 ml	-
Mezclar, dejar exactamente 30 minutos en baño de agua a 37°C		
NaOH 0.02 N (3)	10.0 ml	10.0 ml
Suero	-	0.1 ml
Mezclar y medir la extinción del problema contra el blanco.		

Máximo de extinción: 400 nm Espesor de la cubeta: 1 cm
 Filtro: entre 390 y 420 nm, p.ej. 405 nm.

CALCULO

$$\text{ACTIVIDAD POR VOLUMEN} = E_{405} \times 200 \text{ (mU/ml) U/l}$$

Aplicando esta ecuación cuando la extinción es medida a 405 nm.

RESULTADOS

Al finalizar el presente estudio se ha podido observar que los valores individuales resultaron con poca variación entre sí.

(Tabla 1)

El promedio de la transaminasa glutámico oxalácetica fue de 16.96 mU/ml, con límites de normalidad de 11.17 - 22.75 mU/ml.

(Tabla 2)

El promedio de la transaminasa glutámico pirúvica fue de 1.55 mU/ml, con un límite de normalidad de 0.80-2.30 mU/ml.

(Tabla 2)

El promedio de la fosfatasa alcalina fue de 20.61 mU/ml con un límite de normalidad de 15.13-26.09 mU/ml.

(Tabla 2)



FACULTAD DE
CIENCIAS

VALORES INDIVIDUALES DE LAS MUESTRAS DE CODORNIZ JAPONESA

R E S U L T A D O S

No. DE MUESTRA	FOSFATASA mU/ml	GOT mU/ml	GPT mU/ml
1	11.9	23.0	1.5
2	11.0	23.0	1.5
3	15.6	23.0	1.5
4	14.0	23.0	1.5
5	23.0	20.5	3.0
6	18.6	18.0	0.75
7	17.0	10.0	0.75
8	17.2	18.0	0.75
9	16.2	18.0	1.5
10	17.8	12.0	1.5
11	17.2	14.0	1.5
12	17.2	12.0	1.5
13	17.5	8.0	6.5
14	17.0	14.0	1.5
15	17.0	12.0	1.5
16	16.1	20.5	1.5
17	22.1	8.0	0.75
18	18.3	8.0	1.5
19	20.5	10.0	1.5
20	21.0	6.0	0.75
21	22.2	16.0	0.75
22	17.2	20.5	1.5
23	30.7	20.5	1.5
24	34.1	20.5	0.75
25	21.6	20.5	1.5
26	19.1	18.0	0.75
27	33.5	20.5	1.5
28	18.0	18.0	1.5
29	23.3	28.0	1.7
30	26.2	14.0	1.5
31	29.7	10.0	1.3
32	15.1	16.0	2.2

No. DE MUESTRA	FOSFATASA mU/ml	G O T mU/ml	G P T mU/ml
33	37.4	28.0	2.2
34	28.2	28.0	1.0
35	16.4	25.5	1.3
36	21.6	28.0	1.0
37	16.2	23.0	1.6
38	19.4	20.5	1.6
39	17.2	20.5	1.0
40	19.4	8.0	0.5
41	19.9	6.0	2.2
42	17.8	8.0	1.0
43	18.0	6.0	2.2
44	20.5	8.0	1.5
45	14.6	12.0	1.6
46	16.2	8.0	1.6
47	7.2	10.0	2.6
48	15.6	16.0	2.1
49	16.7	12.0	1.3
50	17.0	14.0	1.6
51	19.3	10.0	2.1
52	13.1	8.0	1.6
53	20.5	18.0	1.0
54	22.7	20.5	2.6
55	16.2	20.5	1.2
56	23.3	18.0	1.6
57	22.7	20.5	1.3
58	13.9	18.0	1.3
59	21.3	18.0	1.6
60	23.0	12.0	1.3
61	20.5	16.0	1.0
62	22.7	23.0	1.6
63	14.6	16.0	1.0
64	22.7	14.0	3.3
65	18.0	18.0	1.3
66	23.8	20.5	1.6

No. DE MUESTRA	FOSFATASA mU/ml	G O T mU/ml	G P T mU/ml
67	13.6	14.0	1.0
68	11.1	14.0	3.8
69	20.5	12.0	1.6
70	20.5	14.0	1.3
71	21.0	14.0	1.6
72	20.5	14.0	1.3
73	24.4	28.0	1.0
74	29.1	18.0	1.3
75	31.6	25.5	1.0
76	22.7	20.5	1.3
77	25.0	18.0	1.0
78	34.8	28.0	1.6
79	27.0	25.5	1.3
80	28.5	23.0	1.3
81	24.7	23.0	1.3
82	21.6	12.0	3.0
83	23.5	12.0	1.6
84	22.4	6.0	2.2
85	23.8	14.0	1.6
86	19.9	23.0	1.6
87	27.4	25.5	1.6
88	19.9	6.0	1.6
89	22.7	14.0	1.6
90	23.8	18.0	1.6
91	14.1	23.0	2.2
92	18.6	23.0	2.2
93	17.0	16.0	2.6
94	16.2	14.0	1.3
95	13.1	28.0	1.0
96	14.1	18.0	0.5
97	17.2	20.5	1.6
98	22.1	14.0	1.0
99	17.2	23.0	1.3
100	20.5	18.0	1.0

TABLA I

CONCENTRACION DE LA TRANSAMINASA GLUTAMICO OXALACETICA, TRANSAMINASA GLUTAMICO PIRUVICA Y FOSFATASA ALCALINA EN LA CODORNIZ JAPONESA.

ENZIMA	\bar{X}	S	ln	E s
G O T	16.96	5.79	11.17-22.75	0.58
G P T	1.55	0.75	0.8 - 2.5	0.075
F A S	20.61	5.48	15.13-26.09	0.55

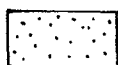
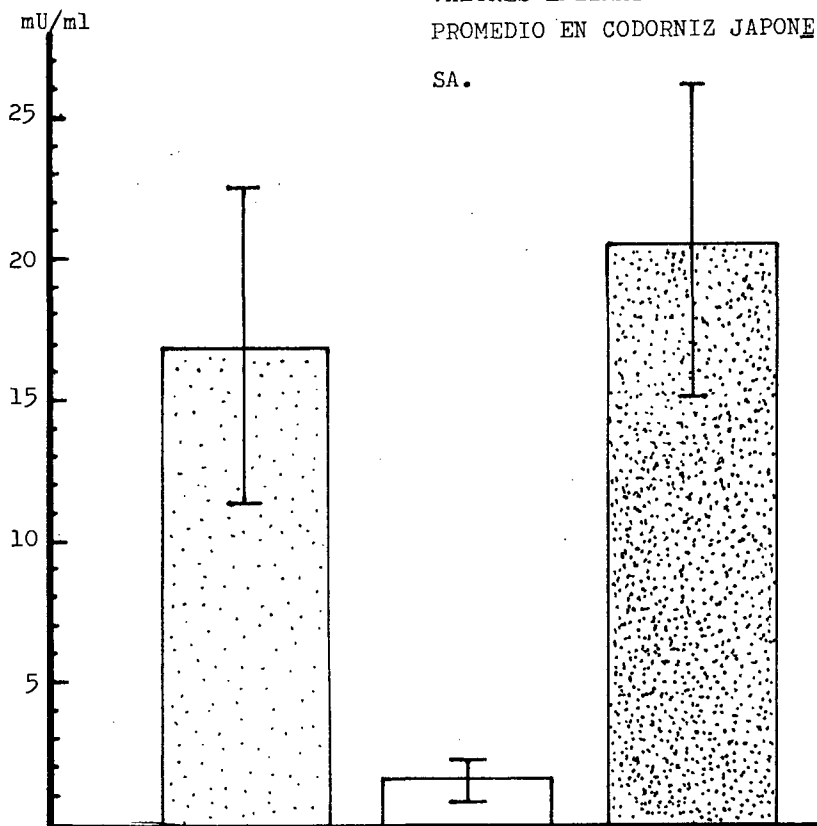
TABLA 2

\bar{x} = Promedio
 S = Desviación estándar
 ln = Límite de normalidad
 E s = Error estándar

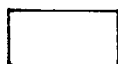
GRAFICA I

VALORES ENZIMATICOS SERICOS
PROMEDIO EN CODORNIZ JAPONE

SA.



G O T



G P T



F A S

Limite de norma-
lidad.

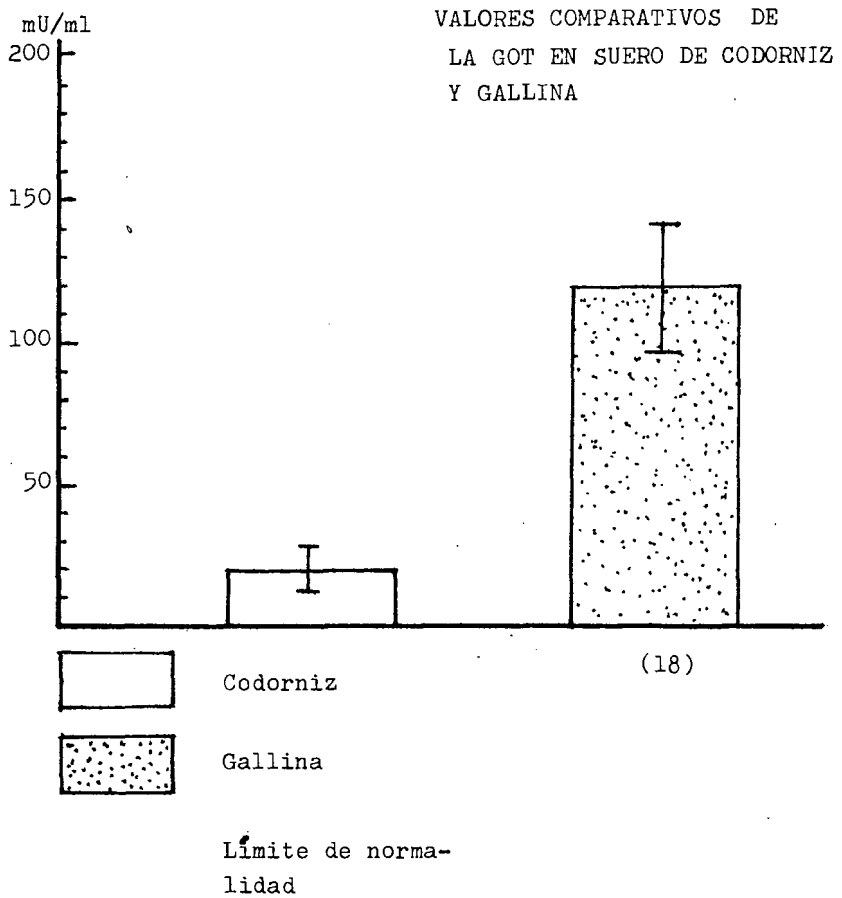
TABLA COMPARATIVA DE LOS VALORES PROMEDIO DE LAS
 TRANSAMINASAS GLUTAMICO OXALACETICA, GLUTAMICO
 PIRUVICA Y FOSFATASA ALCALINA EN CODORNIZ JAPONE
 SA Y GALLINA.

ENZIMA	mU/ml	CODORNIZ	GALLINA
G O T		16.96	117.37
G P T		1.55	14.56
F A S		20.61	130.00

TABLA 3

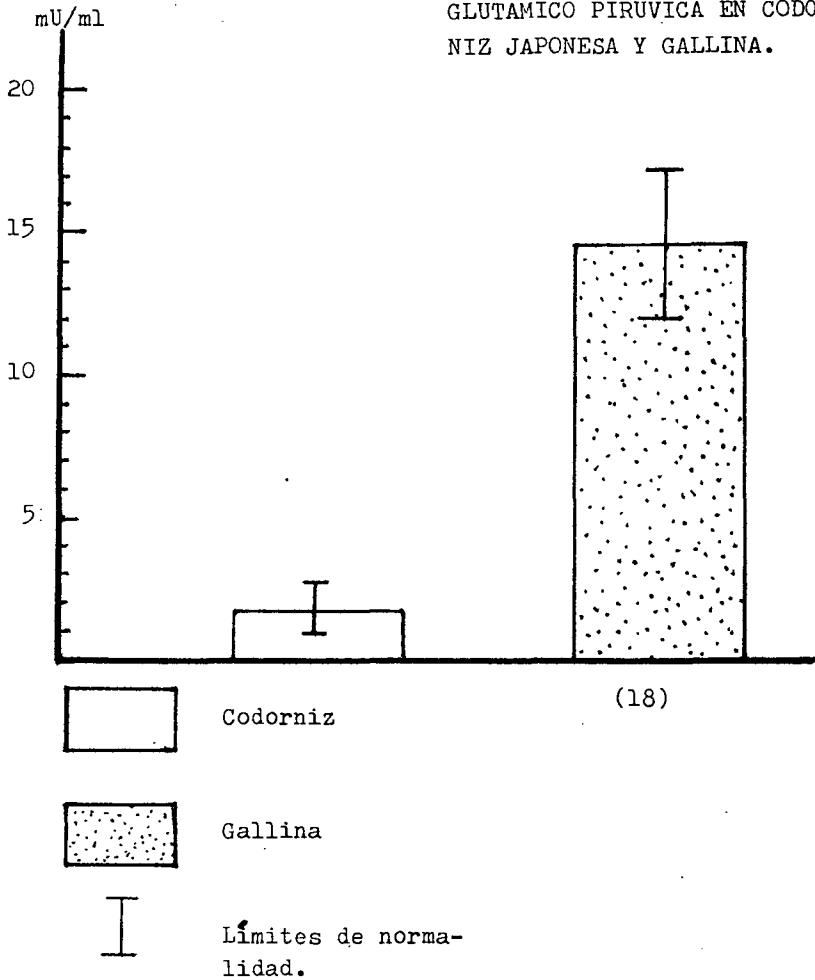
(18,2)

GRAFICA 2



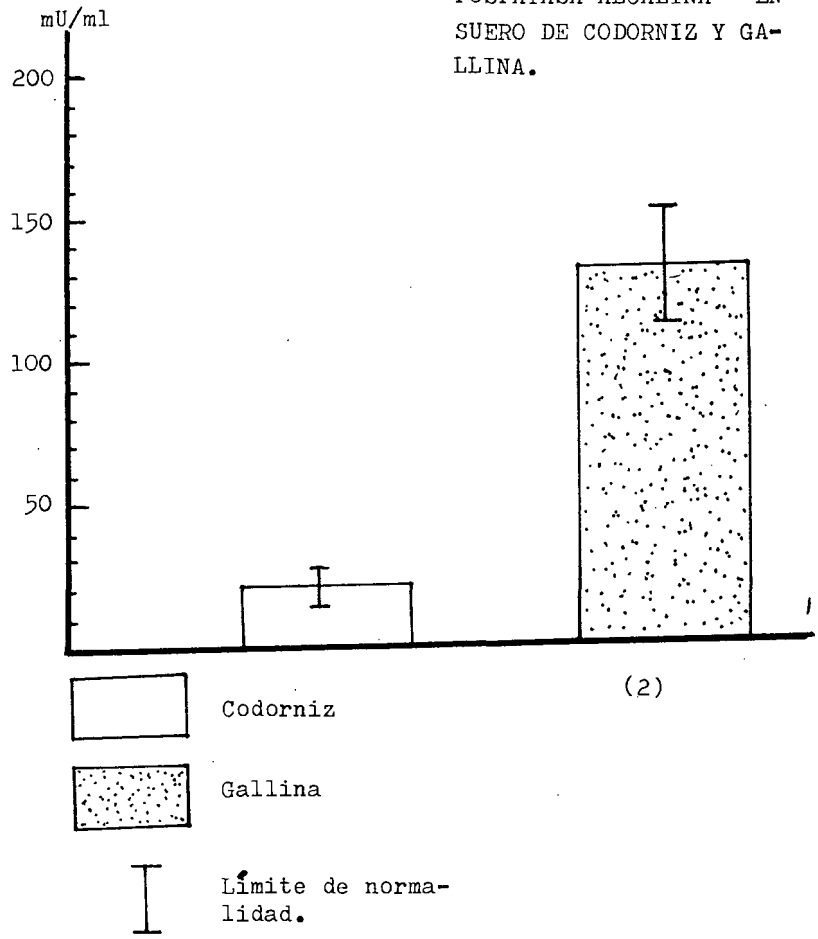
GRAFICA 3

VALORES PROMEDIO TRANSAMINASA
GLUTAMICO PIRUVICA EN CODOR--
NIZ JAPONESA Y GALLINA.



GRAFICA 4

VALORES COMPARATIVOS DE FOSFATASA ALCALINA EN SUERO DE CODORNIZ Y GALLINA.



DISCUSION

Tanto el objetivo general como los particulares se han cumplido y se obtuvieron los valores promedio de las 100 muestras, determinando la concentración de las enzimas séricas GOT, GPT y FAS en codorniz japonesa.

En gallinas se han reportado valores promedio de 117.37 mU/ml y 14.56 mU/ml para la transaminasa glutámico oxalacética y la glutámico pirúvica respectivamente (E. Maglione, 1962). (18)

Para la fosfatasa alcalina los valores reportados por Beljan, - Madley, et al. (1970), tiene un promedio de 130 mU/ml para la gallina a los 6 meses de edad.

Los valores determinados en las muestras de codorniz japonesa - son de 16.96 mU/ml para la GOT, 1.55 mU/ml de la GPT y 20.61 - mU/ml en fosfatasa alcalina.

Los resultados obtenidos demuestran que existe una marcada diferencia entre los valores reportados en gallina y los valores determinados en la codorniz japonesa. Siendo mayores en la gallina que en la codorniz japonesa.

El muestreo fue probado estadísticamente mediante la prueba t' Student para probar las medias aritméticas poblacionales y se encontró una diferencia significativa entre los valores de la GOT, GPT y FAS de la gallina y la codorniz japonesa.



CONCLUSIONES

1. El valor promedio de la transaminasa glutámico oxalacética en suero de codorniz es de 16.96 mU/ml.
2. El Valor promedio de la transaminasa glutámico pirúvica en suero de codorniz japonesa es de 1.55 mU/ml.
3. El valor promedio de la fosfatasa alcalina sérica en la codorniz japonesa es de 20.61 mU/ml.
4. Se rechaza la hipótesis. Si existe diferencia significativa entre los niveles de transaminasa glutámico oxalacética, - transaminasa glutámico pirúvica y fosfatasa alcalina séricas de la codorniz japonesa y la gallina.



RESUMEN

Con el propósito de conocer los valores promedio de la transaminasa glutámico oxalacética, y glutámico pirúvica y de la fosfatasa alcalina en suero de codorniz japonesa, se analizaron 100 muestras de sangre de estas aves.

Los animales objetos de estudio, fueron hembras productoras de huevo entre las 15 y 30 semanas de edad, las aves fueron obtenidas de un mismo proveedor y bajo un sistema de crianza aceptable.

A cada ave se le efectuó punción intracardiaca para obtener una muestra de sangre, y mediante centrifugación se separó el suero para realizar pruebas colorimétricas para determinar los valores promedio de las enzimas citadas.

Las pruebas se efectuaron mediante reacciones químicas colorimétricas y con lectura en espectrofotómetro para determinar su actividad.

Se obtuvieron valores individuales, y fueron analizados estadísticamente con la finalidad de obtener valores promedio de la GOT, GPT y FAS y establecer una comparación entre los valores de la codorniz japonesa y la gallina.

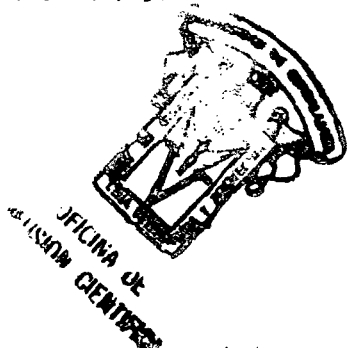
Los valores obtenidos fueron diferente a los de la gallina-doméstica.



BIBLIOGRAFIA

1. Al-Khateeb, G.H. and Hansen, M.F.: Plasma glutamic oxalacetic transaminase as related to liver lesions from histomoniasis in turkeys. Avian diseases 17,2 (1973)
2. Beljan, J.; Madley Thomas; Hellewell: Determination of selected avian blood plasma chemistry values using the technicon autoanalyser. Poultry Sci 50,1 229-232 (1971)
3. Bessey, O.A.; Frankel, S. Amer. J. Clin. Phat. (1957)
4. Bide, R.W. and Dorward W.: Plasma alkaline phosphatase in the fowl: changes with starvation. Poultry Sci. 49 - 108-113(1970)
5. Bissoni Eduardo. Cría de la codorniz Ed. Albatros Argentina 5-117 (1975).
6. Bobilev, Pigarev, Potokin. Ganadería; Ed. Mir Moscú 410-435 (1979)
7. Butrille; Pérez Villaseñor; Química de la vida I. Annuies México 102-111 (1976)
8. Cercos Augusto. La codorniz japonesa. Sria Agricultura y ganadería; Ministerio de Agricultura, Argentina, 56-61 (1978)
9. Coplamar, Necesidades esenciales en México: Alimentación I Siglo XXI Ed., México 2ª edición 70-82 (1983)
10. Cornelius, Charles; Bishop et al. : Serum and tissue transaminase activities in domestic animals. Cornell Vet. 49: 116(1959)
11. Cuca Manuel; Avila Ernesto; Alimentación de las aves, Colegio de graduados Centro de ganadería INIP México (1982)
12. Ernst, Ralph; Japanese quail, Division of agricultural sciences, University of California. 1-7 (1978)
13. Hirsch, Robert.: Dynamics of protozoan population density - plasma glutamic oxalacetic transaminase and plasma bilirubin concentration during histomoniasis in turkeys. Intern. J. for parasitology, 9: 395-399 (1979)
14. Kaneko, J.J. and Cornelius, C.E., Clinical biochemistry of - domestic animals, Academic Press, N.Y. 166-171 (1970)
15. Erich, Kolb. Fisiología veterinaria, Ed. Acribia, España 2ª ed. 438-439 (1976)
16. Lucotte, G. La codorniz, cría y explotación, España 13-105 (1976)

17. Lucotte, G.; Kaminski, M. : Biochemical polymorphism of different functional categories of proteins in the Japanese quail (*Coturnix, coturnix japonica*), Experientia 31:7 782-783 (1975)
18. Magliones Enrico: Sul comportamento delle transaminasi glutamico ossalacetica e glutamico piruvica nel siero di sangue di polli sperimentalmente infettati con *pasteurella multocida*, Annali Fac Med Vet Torino 12: 11-28 (1962)
19. Maxine M. Benjamin. Manual de patologia clínica veterinaria Ed. Limusa, México 269-275, 284-288, 303, 342-344 (1984)
20. Morris J., Fisicoquímica para biólogos, Ed. Reverte 277-279 (1976)
21. Pérez y Pérez F. Coturnicultura Ed. Médico-científica España 1-40 (1974)
22. Reitman, S.; Frankel.; Amer. J. Clin. Path. 28,56 (1957)
23. Sanger, V.L.; Burmester, R.; Morrill C. : Serum alkaline phosphatase levels in avian osteopetrosis, Avian Diseases 10(3) 364-371 (1966)
24. Savage, T.F.; Collins, W.M., Poultry Sci 49: 1662-1664 (1970)
25. Solomon Sarah: Variations in phosphatases in plasma and uterine fluid and in uterine epithelia of the domestic fowl Poultry Sci 49: 1243-1248 (1970)
26. Sturkie, Paul. Avian physiology, Ed. Cornell University Press N.Y. 2° ed. 68-99 (1965)
27. Töre, I. Ruhi : Enzyme test and their use in clinical veterinary medicine, J. Fac Vet Med Univ Istanbul 4(@), 36-62 (1978)
28. Walken, H.K.; Hall, N.D. and Hurst, J.W. Métodos clínicos, Ed. Interamericana 2° ed. México 971-975 (1983)



ABREVIATURAS

G P T	:	Transaminasa glutámico pirúvica
G O T	:	Transaminasa glutámico oxalacética
F A S	:	Fosfatasa alcalina sérica
mmol	:	milimoles
mU/ml	:	miliunidades por mililitro
nm	:	nanómetro (longitud de onda)
rpm	:	revoluciones por minuto