



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

"OBTENCION DE LOS VALORES DE REFERENCIA DE  
LAS ENZIMAS ALANINA AMINO TRANSFERASA Y  
ASPARTATO AMINO TRANSFERASA A PARTIR DE UNA  
POBLACION DE DONADORES DE SANGRE"

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P R E S E N T A:

**MARTHA ALICIA MENJIVAR IRAHETA**

MEXICO, D. F.

1986.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

UNAM



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## I N D I C E

	Página
INTRODUCCION . . . . .	1
OBJETIVO . . . . .	2
GENERALIDADES . . . . .	3
I. Teoría sobre Valores de Referencia . . . . .	3
II. Teoría General de Enzimas . . . . .	10
III. Transaminasas . . . . .	15
MATERIAL Y METODO . . . . .	21
I. Método para la obtención de la muestra de referencia . . . . .	21
II. Ensayo para ver el efecto del torniquete y el ejercicio manual sobre ALAT y ASAT . . . . .	22
III. Selección del método para la determinación enzimática de Aminotransferasas . . . . .	23
IV. Métodos estadísticos . . . . .	24
RESULTADOS . . . . .	26
DISCUSION DE RESULTADOS . . . . .	38
CONCLUSIONES . . . . .	42
ANEXO . . . . .	43
BIBLIOGRAFIA . . . . .	45

## I N T R O D U C C I O N

En el presente trabajo se procederá a establecer los valores de referencia para las Enzimas Alanino aminotransferasa (ALAT o TGP) y Aspartato aminotransferasa (ASAT o TGO)\*. Para ello estudiaremos la teoría descrita acerca de los valores de referencia; su importancia, obtención, presentación, finalidad y límites. También vamos a estudiar los aspectos generales de las enzimas, - tales como: nomenclatura, cinética, factores que las alteran en - su determinación y de manera particular, en las enzimas denominadas genéricamente como transaminasas; su actividad en el organismo y primordialmente la importancia que tiene dentro de la química clínica su valoración, con objeto de conocer el estado de salud de un paciente con diversas afecciones, principalmente de origen hepático y cardíaco.

Los valores obtenidos en el estudio, a partir de una población de donadores voluntarios de sangre, servirá para una mejor y más específica interpretación de estas enzimas y, en consecuencia, del estado de salud del paciente.

\* Vamos a nominarlas como Aminotransferasas ALAT y ASAT.

## O B J E T I V O

La Federación Internacional de Química Clínica recomienda a todos los laboratorios establecer sus propios valores de referencia, de acuerdo a la población con la que trabaja, esta recomendación tiene como base la existencia de diferencias entre las poblaciones de los diversos países y aún de los estados de un país, diferencias causadas por factores genéticos, socioeconómicos y de medio ambiente.

Los países en vías de desarrollo como los de América Latina, han aceptado los valores o límites de referencia determinados por países desarrollados que cuentan con otro tipo de tecnología y con una población multiracial (U.S.A.) o bien sajona; esto es un factor de error, al momento de analizar y evaluar el estado de salud de nuestra población.

Por los motivos antes expuestos, nuestro interés al desarrollar este estudio, es obtener los valores de referencia para las enzimas alanina aminotransferasa y aspartato aminotransferasa a partir de una población de donadores de sangre.

Este trabajo unido al que realizan dentro de esta área - otros laboratorios de México, intenta estimular el interés y colaborar con el desarrollo de la química en el país.

## GENERALIDADES

### I. TEORIA SOBRE VALORES DE REFERENCIA.

Para establecer los lineamientos generales que nos llevarán a determinar valores de referencia, hemos tomado como base fundamental los documentos elaborados por la Federación Internacional - de Química Clínica (IFCC)<sup>1</sup> y como primer punto estableceremos la nomenclatura, misma que ha sido recomendada por esta Federación y que pugna para que los términos sean universales, claros, concisos y bien definidos.

#### A. Nomenclatura

1. Individuo de Referencia: Es un individuo seleccionado a partir de criterios bien definidos, en quien se va a llevar a cabo la medición de referencia.

2. Población de Referencia: Compreendida por todos los posibles individuos de referencia.

3. Muestra de Referencia: Grupos de individuos de referencia en número adecuado y seleccionado para representar a la población de referencia.

4. Valor de Referencia: Valor obtenido por observación o medición en un individuo de referencia.

5. **Distribución de Referencia:** Distribución que presentan los valores de referencia.

6. **Límites de Referencia:** Valor derivado de una distribución de referencia. Se emplea con fines descriptivos de los valores de referencia.

7. **Intervalo de Referencia:** Intervalo comprendido entre los límites de referencia.

8. **Valor observado:** Valor cuantitativo que se compara con el valor de referencia, los límites de referencia, o el intervalo de referencia.

9. **Definición de salud o estado de salud de la población de referencia.**

A pesar de que no existe una definición totalmente satisfactoria, con objeto de uniformar criterios tomaremos la definición dada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) la cual enuncia que SALUD es "Un estado de bienestar físico, mental y social; y no meramente la ausencia de enfermedad".

#### B. Producción de Valores de Referencia.

Los valores de referencia tendrán aplicación y un verdadero valor, si se establecen previamente definiciones básicas, como las incluidas en la nomenclatura y descripciones amplias de la metodología que ha de ser empleada en la producción de dichos valores de

referencia.<sup>2</sup> Después de establecida la nomenclatura para la elaboración de los valores de referencia, se tendrán que describir los siguientes aspectos:

1. Características de la población de referencia con respecto a: edad, sexo, factores genéticos, socioeconómicos y otros - más. Esta caracterización de la población será altamente útil al momento de establecer criterios de exclusión y de participación de la población que será empleada para el establecimiento de valores de referencia.

2. Criterios de exclusión y subclasificación de individuos para la muestra de referencia.

2.1. Criterios de exclusión. Estos criterios de exclusión se definen basados esencialmente en la finalidad del estudio que se realiza. Para ello hay muchas variaciones dentro de las - cuales mencionaremos las más usuales y que pueden influir en el - metabolismo de un analito.

a) Sujetos en varios estados patológicos. Estos serán excluidos al conocer el examen médico y los análisis de laboratorio pertinentes.

b) Sujetos que toman agentes farmacológicamente activos (drogas). Se deberán excluir a todas aquellas personas que por tratamiento tomen drogas o que estén en terapia hormonal. También se excluirán a las personas que ingieran bebidas alcohólicas o se



deberá aclarar la frecuencia y volumen de ingesta, esto en razón de que el alcohol puede alterar los metabolitos del suero. Además de los agentes antes mencionados se excluirá a los fumadores y a todos aquellos que tomen drogas enervantes.

c) Sujetos en estados fisiológicos especiales, dentro de este apartado tenemos a las mujeres embarazadas, personas inmediatamente después de hacer ejercicio y gente bajo tensión nerviosa.

d) Sujetos con factores de riesgo. Entre los factores de riesgo tenemos la obesidad, la hipertensión y los resultados de laboratorio y examen médico anormales.

2.2. Criterios para subclasificación. La subclasificación de la muestra de referencia es en ciertos casos necesaria y dependerá del "para qué" serán usados los valores de referencia y del metabolito del que se trate.

Las subclasificaciones más usuales empleadas en valores de referencia son las siguientes:

a) Edad y Sexo. Los rangos de subclasificación de los grupos de referencia no deben ser necesariamente en intervalos iguales, podrán efectuarse en base a la edad cronológica, estado fisiológico y en el caso de los niños se empleará la talla y el peso.

b) Criterios genéticos. En este punto se tomará en cuenta el origen étnico, hábitos, morfotipo, pigmentación, además, podrán emplearse los grupos sanguíneos, antígenos de histocompatibilidad, fenotipos de proteínas plasmáticas y enzimas celulares.

c) Factores socioeconómicos y de medio ambiente. Estos factores son importantes para establecer una subclasificación, pues la relación del individuo con su medio ambiente y su adaptación a él, puede originar diferencias significativas detectables en ciertos casos en análisis químico clínico, que pueden servir para efectuar subdivisiones de la muestra de referencia, como es la de vivir a nivel del mar o no.

Los criterios de subclasificación como vemos son múltiples, pero no todos son de fácil aplicación, es por ello que deberán establecerse criterios en cada caso, dependiendo del uso que se dará a los valores obtenidos.

La selección de los individuos deberá ser de tal forma que toda la población esté representada, para lo cual la muestra podrá ser tomada al azar dentro de la población que se pretende estudiar o bien puede tomarse una muestra que sólo represente a una parte de la población, para lo cual será seleccionada con una finalidad determinada.

Por todo lo anterior, deberá plantearse claramente el objetivo y el uso que se dará a los valores obtenidos, para así establecer previamente todos los criterios de exclusión y

subclasificación de la población, lo cual se hará elaborando un cuestionario en el que se incluyan todas las preguntas pertinentes, que en base a los criterios expuestos llevan a la exclusión o inclusión de los individuos en la muestra de referencia y que además, permitirán efectuar las subclasificaciones necesarias.

3. Condiciones fisiológicas y de medio ambiente bajo las cuales se estudiarán la muestra de referencia.

En este punto se precisarán:

- fecha y hora de la colección de la muestra
- ingesta de alimentos y drogas (incluyendo alcohol)
- postura (tiempo que permaneció en una posición)
- tabaquismo (cantidad y frecuencia)

4. Modo de colección de la muestra, preparación y manejo.

La preservación de la integridad química de las muestras desde el momento en que se recogen hasta el momento en que se analizan, es de máxima importancia para que los resultados tengan un sentido.

Se tendrá que estandarizar el método de obtención de la muestra, por ejemplo: tipo de recipiente, anticoagulante y tiempo de centrifugado (si lo necesita), temperatura, refrigeración, etc.

En el cuestionario de criterios de selección, también - deberá incluirse los datos de postura que mantuvo el individuo, -

tiempo de ayuno, tiempo de torniquete, ejercicio o reposo previos.

Estas variables dependerán lógicamente del analito estudiado y del método a usar para la determinación de éste.

#### 5. Método Analítico.

Para lograr establecer el valor de referencia para cierto metabolito, se indicará el método de determinación de éste, - aclarando todos los detalles de la metodología, pero en particular habrá de hacerse énfasis en las variaciones del mismo, las cuales se obtienen a partir de un programa de control de calidad.

Los laboratorios de química clínica producen datos que se usan como base para decisiones clínicas, por ello es preciso poder evaluar la confiabilidad de los datos por métodos objetivos. Una manera constructiva y económica de estudiar y controlar las variaciones de métodos, es el uso de sueros preanalizados, combinados, en cada análisis de muestras desconocidas, seguido de la tabulación de datos obtenidos sobre gráficas de control y evaluación estadística de los datos. Así, el control de la calidad se efectúa en los laboratorios para asegurar que se mantiene exactitud y precisión en la ejecución cotidiana de análisis químicos clínicos. Y con miras a establecer valores de referencia, éstas variables que se analizan en el control de calidad deberán de expresarse claramente para que puedan ser aceptados unos resultados como "Valores de Referencia".

Dentro del análisis estadístico se establecerán tal como lo indica la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) en sus publicaciones + los límites de Referencia.<sup>3</sup>

A medida que se analizan valores de control se puede observar que, en el caso de ciertos componentes, el intervalo del valor de control es tan grande como el intervalo de valores normales, así que hay necesidad de una guía que pueda usar el laboratorio, para indicar el intervalo permisible en el cual podrían variar de la media los resultados obtenidos y seguir siendo todavía útiles.

Los procedimientos para establecer el límite de referencia, pueden ir desde la valoración intuitiva, hasta el empleo de técnicas estadísticas muy complejas, para lo que es sumamente importante cumplir previamente con todos los requisitos antes mencionados y después de esto, aplicar un método estadístico analizando el tipo de distribución de los valores obtenidos y el número de datos. Generalmente las determinaciones de valores normales no siguen una distribución gaussiana normal, es por esto que debe emplearse métodos de estadística no paramétrica.

## II. TEORIA GENERAL DE ENZIMAS.

### Generalidades.

Fue en época tan reciente como en 1954, cuando Karmen demostró la asociación entre la presencia de una enfermedad aguda (infarto al miocardio) y el aumento súbito en la concentración de --

transaminasa en suero.<sup>4</sup> Hasta esa época sólo se habían usado para fines clínicos una media docena de enzimas y ninguna de ellas era una enzima que interviniera íntimamente en reacciones bioquímicas intracelulares; hoy en día gracias a las investigaciones hechas sobre una gran cantidad de enzimas en busca de la relación entre los cambios en su concentración en suero y la enfermedad en uno o varios tejidos u órganos, los análisis de enzimas representan el 20 a 25% de la carga de trabajo de los laboratorios de grandes hospitales. Esto a su vez ha provocado un gran avance tecnológico del cual se han desarrollado las metodologías adecuadas para determinar cada enzima, hasta el punto que hiciera posible disponer comercialmente de metabolitos complejos y raros, de coenzimas, y de todos los productos utilizados en análisis de enzimas.

Muchas enzimas han sido designadas añadiendo el sufijo -- "asa" al nombre del sustrato, es decir, de la molécula sobre la cual la enzima ejerce su acción catalítica. Esta nomenclatura, sin embargo, no siempre ha resultado práctica, lo cual ha ocasionado que muchas enzimas hayan recibido nombres que químicamente son poco informativos; por ejemplo: la pepsina, la tripsina y la catalasa. Por dicha razón y porque el número de enzimas que se descubren está aumentando rápidamente, se ha adoptado una clasificación sistemática de las enzimas. El nuevo sistema divide a las enzimas en seis clases principales: Oxidorreductasas, Transferasas, Hidrolasas, Liasas, Isomerasas y Ligasas, cada una de las cuales se divide a su vez en subclases, de acuerdo con el tipo de reacción catalizada. Cada enzima es designada por un nombre recomendado, generalmente corto y apropiado para su uso habitual.

por un nombre sistemático, que identifica la reacción que cataliza, y por un número de clasificación, que se emplea cuando se precisa la identificación inequívoca de la enzima.

Factores que afectan la velocidad de reacción enzimática:

Concentración de Substrato.- Si en un sistema de reacción enzimática se aumenta gradualmente la concentración de substrato, manteniendo todos los demás factores constantes, la velocidad de reacción aumentará con el aumento de concentración de substrato - hasta que se alcanza un valor máximo. Todo aumento ulterior de la concentración de substrato, por grande que sea, no provocará ningún aumento más en la velocidad de reacción.<sup>5</sup>

Debido a que la curva que expresa esta relación tiene la misma forma general para la mayor parte de las enzimas (es una hipérbola rectangular), Michaelis y Menten definieron una constante, conocida en la actualidad como  $K_M$ , que es útil para establecer la relación precisa entre la concentración del substrato y la velocidad de la reacción catalizada por la enzima. La constante de Michaelis y Menten,  $K_M$ , puede definirse más sencillamente como la concentración del substrato específico, al que una enzima determinada produce la mitad de su velocidad máxima.

La forma característica de la curva de saturación por substrato para una enzima puede expresarse matemáticamente por la - -

ecuación de Michaelis y Menten:

$$V_o = \frac{V_{m\acute{a}x} [S]}{K_M + [S]}$$

en donde  $V_o$  = velocidad inicial si la concentración de sustrato es  $[S]$

$V_{m\acute{a}x}$  = velocidad máxima

$K_M$  = constante de Michaelis-Menten del enzima para un sustrato particular

Efecto del pH sobre la actividad enzimática.- La relación entre el pH y la actividad de cualquier enzima, depende del comportamiento ácido-base de la enzima y del sustrato, así como de otros muchos factores que son, por lo general, difíciles de analizar cuantitativamente.

La forma de la curva de actividad-pH varía con la concentración del sustrato, ya que el valor de  $K_M$  de muchas enzimas varía con el pH.

El pH óptimo de una enzima no es necesariamente idéntico - al pH de su entorno intracelular normal, el cual puede hallarse a



su vez, en la pendiente ascendente o descendente de su curva de - pH-actividad. Este hecho sugiere que la relación pH-actividad de una curva enzima puede constituir un favor en el control intracelular de su actividad.

Efecto de la temperatura sobre las reacciones enzimáticas.-

Al igual que ocurre con la mayoría de las reacciones químicas, la velocidad de las reacciones catalizadas por enzimas se incrementa en general con la temperatura, dentro del intervalo en que la enzima es estable y permanece totalmente activa. La velocidad de muchas reacciones enzimáticas se duplica, aproximadamente, por cada 10°C de aumento de la temperatura ( $Q_{10} \sim 2.0$ ).

Aunque las reacciones catalizadas por las enzimas parecen, con frecuencia, poseer una temperatura óptima, el pico que se observa al presentar la actividad catalítica frente a la temperatura se produce porque las enzimas, al ser proteínas, se desnaturalizan por la acción del calor y se inactivan cuando la elevación de temperatura sobrepasa un cierto punto.

La gran mayoría de las enzimas intracelulares y del plasma presentan actividad a 37°C, temperatura a la cual funcionan en el cuerpo, se acostumbra efectuar análisis de enzimas a 37°C, sin embargo, hay métodos aceptados para enzimas que se realizan a 25°C y a 30°C.<sup>6</sup>

Las enzimas pueden inactivarse por modificación irreversible de algún grupo funcional esencial para la actividad catalítica. Pueden también ser inhibidos reversiblemente, de modo competitivo o no competitivo. Los inhibidores competitivos que habitualmente tienen estructura parecida a la del sustrato, compiten reversiblemente con él para unirse al sitio activo, pero no son transformados por la enzima. Los inhibidores no competitivos se unen a algún otro sitio del enzima, ya sea sobre la enzima libre o sobre el complejo enzima-sustrato.<sup>7</sup>

### III. TRANSAMINASAS.

Braushtein y Kritzmann, en 1937, demostraron la existencia de unas enzimas que catalizaban la reacción reversible de un grupo amino de un aminoácido a un  $\alpha$  cetoácido. Estos autores denominaron a estas enzimas aminotransferasas.

Aunque se han demostrado un gran número de aminotransferasas o transaminasa de sustrato específico en varios tejidos animales y en el suero, la determinación sérica de alanina aminotransferasa o TGP y aspartato aminotransferasa o TGO, son las de mayor utilidad clínica. El ácido L-glutámico actúa como el donador del grupo amino en la mayoría de las reacciones de transaminación, el fosfopiridoxal y su análogo amino, funcionan como coenzimas en las reacciones de transferencia del grupo amino. La nomenclatura para aminotransferasas o transaminasas, varía y puede basarse en:

- a) los dos aminoácidos que intervienen,
- b) uno de los aminoácidos y
- c) el oxoácido con el cual reacciona o
- d) sólo un aminoácido, con el sobreentendido de que el otro aminoácido es ácido glutámico.

La Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) ha recomendado nominarlos como aminotransferasas, basados en documento existente sobre la nomenclatura de enzimas. Así aminotransferasa de aspartato es conocida comúnmente como transaminasa de glutámico oxalacético (GOT) y aminotransferasa de alanina, cuyo nombre más común es transaminasa de glutámico pirúvico (GPT). Las reacciones son reversibles, pero el equilibrio de ambas reacciones, la catalizada por ASAT y la catalizada por ALAT, favorece la formación de aspartato y alanina, respectivamente.<sup>8,9</sup> (Fig. 1).

Aspartato aminotransferasa. Esta es una enzima de origen citoplasmático que cataliza la reacción reversible de transferencia de un grupo amino del ácido glutámico al oxalacético (Fig. 2). Ha sido demostrada en el suero y tejidos de todos los animales estudiados. En el hombre se encuentra en el tejido cardíaco, hepático, músculo esquelético, tejido renal y cerebral en concentraciones que van de mayor a menor. El conocimiento del alto contenido de esta enzima en el miocardio, condujo en 1963 a la observación de que los pacientes con infarto al miocardio agudo muestran niveles elevados de la enzima en el suero durante días posteriores al infarto. Después de un tiempo, en varios laboratorios se encontraron niveles altos de esta enzima en el suero de pacientes y animales con necrosis hepática.

La actividad de esta enzima se demostró primero mediante una técnica cromatográfica que resultaba demasiado laboriosa para el uso habitual. Los métodos que se han empleado para la determinación rutinaria han incluido el procedimiento espectrofotométrico de Karmen (1955) y varios procedimientos colorimétricos simplificados. Los valores en "Unidades Karmen" varían en sujetos sanos entre 6 y 40 U/ml. La conversión de estas unidades a miliunidades internacionales se consigue dividiendo el valor, entre el factor 1.95.<sup>10</sup>

Alanino aminotransferasa. Esta enzima (TGO o SGPT) cataliza la reacción reversible de transferencia de un grupo amino del ácido glutámico al pirúvico (Fig. 3). El alto contenido de esta enzima en el hígado a nivel de lisosomas, en comparación con la relativamente baja concentración de ésta en el miocardio y otros tejidos, ha conducido a la aplicación de la determinación de ALAT para el estudio de la enfermedad hepática. Los métodos utilizados para la determinación de esta enzima, son similares a los utilizados para la Transaminasa Glutámico Oxalacética. Se han empleado tanto los métodos espectrofotométricos como los colorimétricos. El rango en sujetos sanos expresado en unidades Internacionales es de 6 a 45 UI/L.<sup>11</sup>

Valor clínico de la determinación de Transaminasas. En general el valor clínico de la determinación de transaminasas, radica básicamente en que éstas enzimas se ven afectadas en padecimientos tales como: enfermedades hepáticas, hepatobiliares, cardiovasculares, miopatía y otras más. La elevación del nivel de alanino aminotransferasa, refleja la enfermedad hepática aguda más específicamente que los valores de la aspartato aminotransferasa, la cual está elevada

en pacientes con enfermedades extrahepáticas, generalmente de origen cardíaco. La determinación proporciona así un instrumento valioso en el diagnóstico clínico. A continuación se enunciarán algunos casos particulares en los que se muestra su importancia clínica. - En todos estos casos se encuentran elevadas las aminotransferasas:

- Lesión hepática parenquimatosa
- Infarto agudo del miocardio
- Daño muscular inflamatorio o traumático
- Procesos infecciosos diversos con afección hepática de intensidad variable
- Obstrucción biliar extrahepática
- Colangitis
- Pancreatitis aguda
- Neoplasias diversas con o sin metastasis hepática
- Lesión intestinal vascular o traumática
- Embolia pulmonar con o sin infarto
- Infarto renal
- Infarto cerebral
- Insuficiencia cardíaca congestiva
- Estado de choque
- Toxemia gravídica
- Anemia hemolítica adquirida
- Golpe de calor
- Administración de heparina u opiáceos
- Alcoholismo
- Ejercicio intenso<sup>12, 13, 14</sup>

Figura 1

## MECANISMO DE ACCION DE LAS AMINOTRANSFERASAS

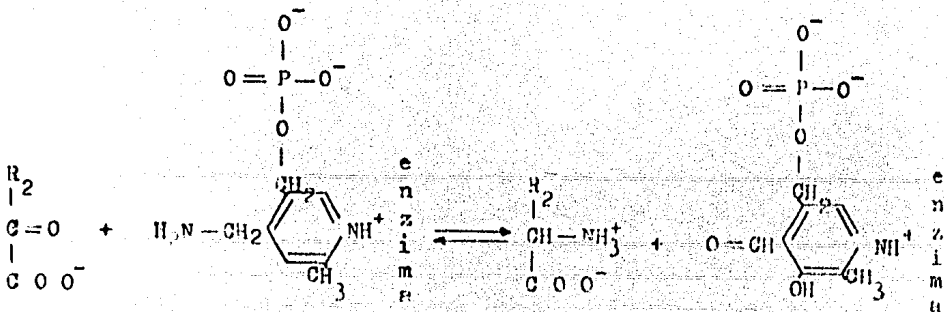
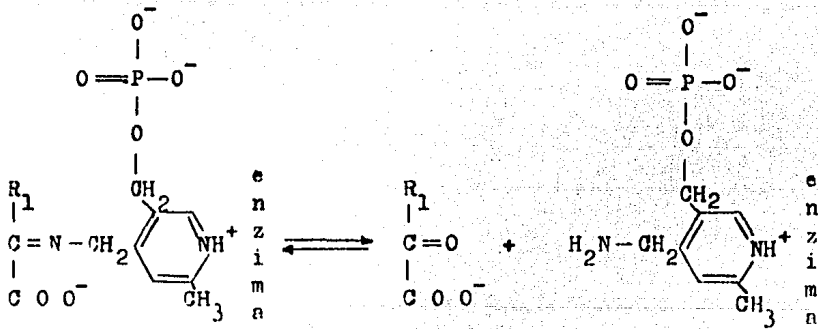
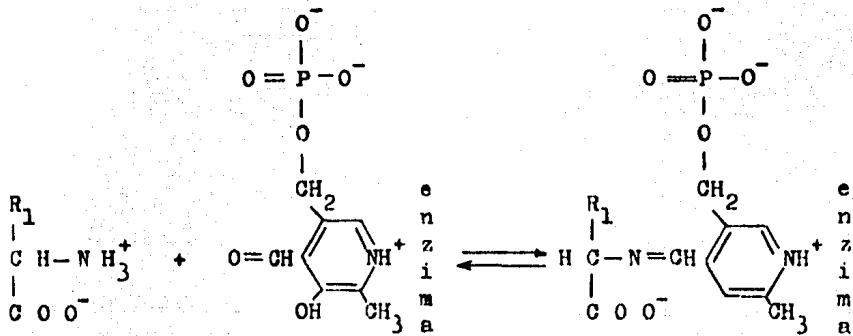
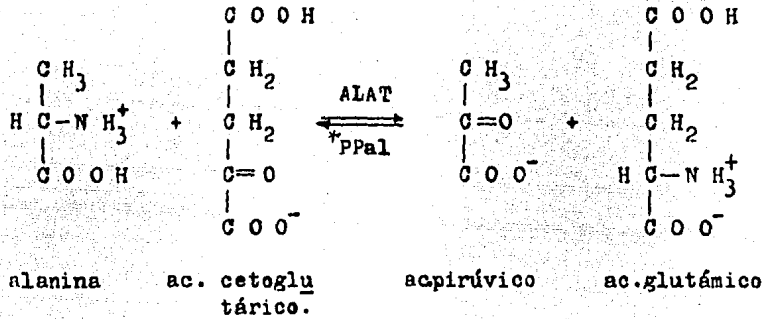
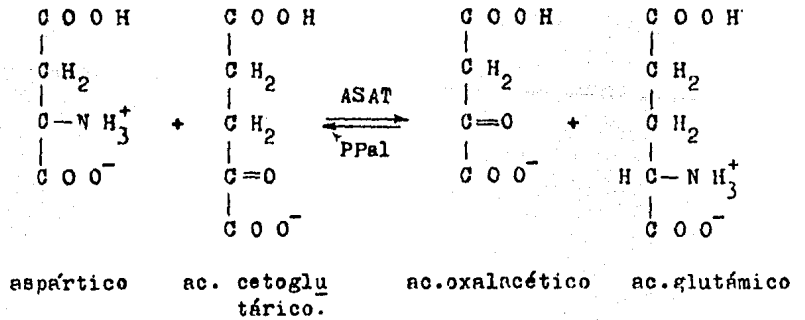


Figura 2

## REACCION de ALAT o TGP

Figura 3

## REACCION de ASAT o TGO



\* PPal = Piridoxal Fosfato

## M A T E R I A L Y M E T O D O

### I. METODO PARA LA OBTENCION DE LA MUESTRA DE REFERENCIA.

En base a lo expuesto en la teoría general sobre valores de referencia, se elaboró un cuestionario (anexo 1) tomando en cuenta como criterios de exclusión, los factores que afectan de manera directa los niveles séricos de las aminotransferasas o condiciones - que afectan al hígado, corazón y músculo. Estos criterios son los - que se enuncian a continuación:

- Personas ictéricas o con problemas hepáticos.
- Personas con problemas cardíacos e hipertensos.
- Personas que emplean anticonceptivos.
- Personas con magullaciones musculares recientes.
- Personas con sobrepeso de acuerdo a su estatura y edad.
- Mujeres en período menstrual.
- Mujeres embarazadas.
- Alcohólicos y todo aquel que haya tomado alguna bebida alcohólica en la última semana.
- Drogadictos y toda persona que esté tomando medicamentos durante la última semana previa a la toma de muestra, - incluyendo vitaminas.
- Personas transfundidas.
- Fumadores.

El cuestionario se aplicó a donadores de sangre voluntarios



junto con un examen médico general; con lo que se aseguró en lo posible y de acuerdo a nuestros criterios establecidos, la obtención de una muestra sana o por lo menos saludable un mes antes de la prueba y que fuera clasificable gracias a la amplia información recopilada en los cuestionarios.

Todos los donadores permanecieron en una postura sedente aproximadamente 10 minutos, durante este tiempo se les aplicó un torniquete y se les pidió que hicieran ejercicio de prehensión con la mano (epsilateral), para facilitar el bombeo de la sangre hacia la bolsa. Al finalizar el llenado de la bolsa, se tomó una muestra de 10 ml de sangre total directamente del lugar de la punción.

Para la separación de la muestra, la retracción del coágulo se llevó a cabo a temperatura ambiente y se centrifugó la sangre a 3000 r.p.m. antes de que transcurrieran 60 minutos; ya separado el suero, se almacenó a 20°C hasta el día de su procesamiento para ALAT y ASAT, por el método de Karmen y Antígeno australiano AgsHB.<sup>15,16</sup>

## II. ENSAYO PARA VER EL EFECTO DEL TORNIQUETE Y EL EJERCICIO MANUAL SOBRE ALAT Y ASAT.

Para ver el efecto del torniquete y el ejercicio manual, en un ensayo paralelo se estudiaron 9 sujetos sanos a los que se les aplicó un torniquete durante 10 minutos, se les tomó a todos una muestra basal a los 5 y 10 minutos después de su aplicación para la determinación de ALAT y ASAT, por el mismo método con el que se procesaron todas las muestras.

### III. SELECCION DEL METODO PARA LA DETERMINACION ENZIMATICA DE AMINO TRANSFERASAS.

La determinación de aminotransferasas utiliza una técnica - de "Velocidad de reacción" de primer orden, muy útil y altamente - específica para medición de cetoácidos, es reducirlos a los hidrox*í*ácidos correspondientes con el uso de la coenzima I reducida - - (NADH), en presencia de una deshidrogenasa específica. El oxalaceta*to* formado en la reacción catalizada por ASAT es reducido a malato en presencia de la deshidrogenasa málica (MDH) (Ver Fig. 2). El pi*ruvato* formado en la reacción catalizada por ALAT, es reducido a - lactato por la deshidrogenasa láctica (LDH) (Ver Fig. 3). El sub*trato*, la MDH, la LDH y el NADH están presentes en exceso, de modo que la velocidad de reacción no tiene otra limitación, que la canti*dad* de ALAT o de ASAT, respectivamente. A medida que transcurre la reacción, NADH es oxidado a  $\text{NAD}^+$ . La desaparición de NADH por uni*dad* de tiempo, puede seguirse a menudo por medición de la disminu*ción* de absorbancia durante varios minutos a 340 nm. El cambio de absorbancia por minuto (A/min) puede relacionarse directamente con los micromoles de NADH oxidados y, a su vez, con los micromoles de su*strato* transformados por minuto (UI).

#### Ensayo para la Elección del Equipo Comercial para la Medi*ción* de Transaminasas.

Previamente a la aplicación del método, se efectuó un estu*dio* para determinar el método a usar. Se emplearon tres equipos de reactivos comerciales, que podrían ser usados para determinar ALAT y ASAT en las muestras problemas, todos ellos basados en el princi*pio* antes enunciado.

a) Método que sigue la escuela escandinava y que marca trabajar a pH 7.40 con amortiguador fosfatos y temperatura de 37°C.

b) Método que marca trabajar según las recomendaciones de la Federación Internacional de Química Clínica o método optimado - que trabaja a temperatura de 30°C.

c) Método que sigue la escuela alemana y que marca trabajar a pH 6.5 con amortiguador de Buffer Tris y temperatura de 25°C.

El aparato empleado en todos los casos fue un espectrofotómetro Beckman DU-8.

Se corrieron 3 ensayos para cada uno de los equipos, empleando 2 sueros controles, para valores normales y patológicos - (Precinorm y Precipath, respectivamente). El número de muestras - usadas fue el siguiente:

Ensayo 1	n = 1
Ensayo 2	n = 2
Ensayo 3	<u>n = 3</u>
Total:	n = 6

No se hicieron más réplicas por no contar con más reactivos.

#### IV. METODOS ESTADISTICOS.

Para analizar la distribución de los resultados de ambas -

aminotransferasas, se procedió a describirlos por la técnica de percentiles. Se estudió el grado de sesgo, el cual nos indica que tan simétrica o asimétrica es nuestra curva de distribución; también fue examinado el grado de curtosis, que es un indicador matemático que nos permite saber si la curva es gaussiana o no, dando idea de que tan acumulados están los datos alrededor del promedio.

Para determinar la posible distribución desigual por cuartiles, se utilizó la prueba Kolmogorov-Smirnoff, a través de la cual encontraríamos la significancia estadística de cada uno de los factores estudiados con el nivel de transaminasas.

El análisis de control de la calidad, se hizo en base a estadística paramétrica convencional. Para determinar el efecto del torniquete y el ejercicio manual, se empleó un análisis de regresión lineal simple con ajuste para mediciones repetidas.

El nivel de la significancia estadística, se fijó convencionalmente en 0.05.<sup>17,18,19</sup>

## RESULTADOS

CARACTERISTICAS DE CADA METODOLOGIA PARA LA DETERMINACION DE ALAT

Método	Suero Control	n	Valor $\bar{x}$ esperado UI/L	Valor $\bar{x}$ obtenido UI/L	S	C.V.	Observado x 100 Esperado	Costo por unidad (peso Mex. octubre 84)	Caducidad del reactivo	Muestra necesaria ml	No. pruebas x frasco
Método a 25°C Escuela Alemana	Medio	6	23	23.66	0.45	1.9	103	187.5	10h 2-8°C	0.5	4
	Patológico	6	64	56	2.47	4.5	88				
Método a 30°C I.F.C.C. optimizado	Medio	6	29.5	28.8	1.61	5.65	99.68	116.7	32h 2-8°C 10h 15-25°C	0.2	1
	Patológico	6	79	68	1.99	2.9	90				
Método a 37°C Escuela escandinava	Medio	6	40.5	43.7	1.25	2.87	107	144.9	24h 2-8°C 10h 15-25°C	0.1	15
	Patológico	6	109	97	1.5	1.6	89				

CARACTERISTICAS DE CADA METODOLOGIA PARA LA DETERMINACION DE ASAT

Método	Suero Control	n	Valor $\bar{x}$ esperado UI/L	Valor $\bar{x}$ obtenido UI/L	S	C.V.	Observado x 100 Esperado	Costo por unidad (peso Mex. octubre 84)	Caducidad del reactivo	Muestra necesaria ml	No. pruebas x frasco
Método a 25°C Escuela Alemana	Medio	6	24	28	1.41	5.2	115.4	187.5	10h 2-8°C	0.5	4
	Patológico	6	74	76	3.0	4.0	102.4				
Método a 30°C I.F.C.C. optimizado	Medio	6	37	33	1.23	3.4	95.2	116.7	32h 2-8°C 10h 15-25°C	0.2	1
	Patológico	6	109	89	5.89	6.6	83				
Método a 37°C Escuela escandinava	Medio	6	56	52	2.55	5.0	93	144.9	24h 2-8°C 10h 15-25°C	0.1	15
	Patológico	6	164	133	4.9	3.7	81				

Se seleccionó el método con las recomendaciones de la Escuela escandinava cuya formulación es:

<u>ASAT</u>	<u>ALAT</u>
- Acido L aspártico 134 mmol/L	- L - alanina 179 mmol/L
- $\alpha$ -cetoglutarato 7.19 mmol/L	- $\alpha$ - cetoglutárico 7.19 mmol/L
- Deshidrogenasa de malato 1000 UI/L (corazón de porcino)	- Deshidrogenasa láctica 2000 UI/L (músculo de conejo)
- Deshidrogenasa de lactato 1800 UI/L (músculo de conejo)	- NADH (levadura) 0.216 mmol/L
- NADH (levadura) 0.232 mmol/L	- Amortiguador PO <sub>4</sub> pH7.4 <sup>±</sup> 0.5
- Amortiguador de PO <sub>4</sub> pH7.4	

Como se trataba de definir una población de donadores mexicanos, se excluyeron a los sujetos que tuvieran más de 3 abuelos extranjeros y a todos los sujetos que de alguna forma podían influir en la medición, como son la de un caso de embarazo, lipemia que presentaron algunas - muestras, aún cuando los sujetos decían estar en ayunas, ingesta alcohólica regular frecuente, sujetos con antecedentes de hepatitis, así como sujetos que habían sufrido transfusiones o intervenciones quirúrgicas.

#### E x c l u s i o n e s

4 Abuelos extranjeros	10	( 5.6%)
Transfusiones y/o intervenciones quirúrgicas en los 6 meses previos.	6	( 3.3%)
Ingesta alcohólica regular con frecuencia mayor de una vez/semana	1	( 0.6%)
Probable embarazo	1	( 0.6%)
Suero lipémico	3	( 1.7%)
Antecedente de hepatitis	1	( 0.6%)
<b>T O T A L :</b>	<b>22</b>	<b>(12.2%)</b>

180 Sujetos captados - 22 Sujetos excluidos = 158 Sujetos estudiados



Características de los sujetos por sexo y por edad de la población estudiada			
	$\bar{x}$	S	Intervalo
Talla	1.65 m.	0.08 m.	1.44 - 1.95 m.
Peso	66.2 Kg.	10.58 Kg.	50 - 124 Kg.

Distribución por índice de Quetelet (Peso/talla <sup>2</sup> )		
Índice de Quetelet	n	%
20	13	8.2
20 - 25	105	65.2
26	42	26.6

El 73.4% fueron hombres, y hubo una gran proporción, del 74.1% con edad de menos de 30 años, en tanto que 25.4% se encontraban en la 4a. y 5a. década de la vida. Sólo un sujeto se encontraba en la 6a. década. La talla osciló entre 1.44 y 1.95 con  $\bar{x}$  de  $1.65 \pm 0.08$  m., el intervalo de peso fue de 50 a 124 kg. con  $\bar{x}$  de  $66.2 \pm 10.58$ . Como índice de peso relativo, se utilizó el descrito por Quetelet<sup>20</sup>, calculado como peso/talla en metros elevados al cuadrado y que varió de 18.3 a 35.8 kg/m<sup>2</sup>.

El tiempo de sangrado y por lo tanto de ligadura, se midió en una submuestra de 53 donadores que osciló de 7 a 15 minutos con  $\bar{x}$  de  $9.25 \pm 1.9$  minutos.

TABLA 1

RELACION DE DIVERSOS FACTORES DETECTADOS EN EL INTERROGATORIO Y NIVELES DE ALAT (UI/L)

Factor:	9 - 23		> 23 - 30		> 30 - 43		> 43 - 102		T O T A L	
	N.Sujeto	%	N.Sujeto	%	N.Sujeto	%	N.Sujeto	%	No.	%
No. total en el intervalo	39	100	40	100	38	100	39	100	156	100
Ingesta alcohólica en los 3 días previos	4	10	7	18	9	24	5	13	25	16
Ingesta alcohólica regular (Semanal o mensual)	9	23	6	15	11	29	6	15	32	21
Hábito tabáquico regular ( $\geq 6$ cigarrillos/día)	7	18	4	10	8	21	2	5	21	14
Uso de medicamentos en el último mes	13	33	10	25	5	13	4	10	32	21
Uso de anovulatorios hormonales	0/12	-	2/14	14	1/6	17	2/9	22	5/41	12
Infecciones o vacunas en los 6 últimos meses	3	8	6	15	4	11	2	5	15	10
Enfermedades agudas en el último mes	2	5	1	3	6	16	4	10	13	8
Traumatismos en los últimos 15 días	1	3	4	10	2	5	3	8	10	6
Deportes extenuantes en los 7 días previos	13	33	9	23	18	47	11	28	51	33
Índice de Quetelet > 25	13	33	12	30	10	26	16	41	51	33
Índice de Quetelet < 20	5	13	2	5	4	11	2	5	13	8

TABLA 2  
RELACION DE DIVERSOS FACTORES DETECTADOS EN EL INTERROGATORIO Y NIVELES DE ASAT (UI/L)

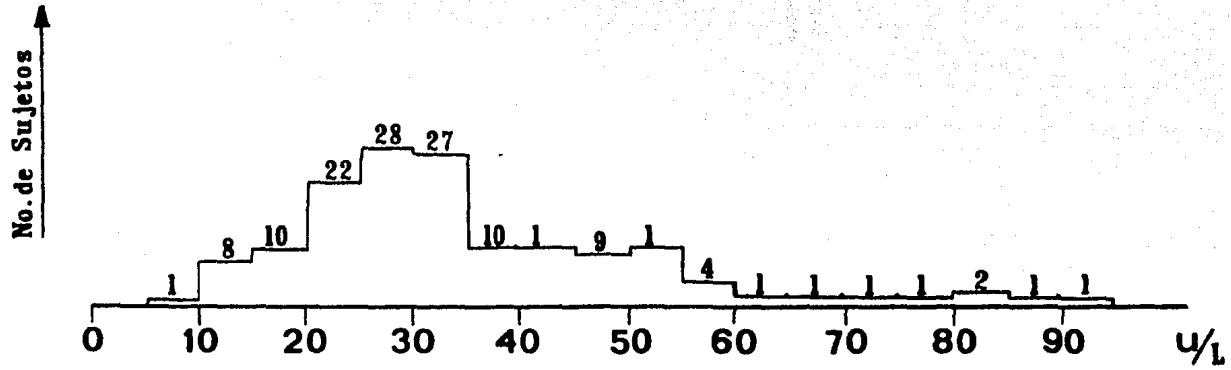
Factor:	15 - 32		> 32 - 39		> 39 - 50		> 50 - 178		T O T A L	
	N.Sujeto	%	N.Sujeto	%	N.Sujeto	%	N.Sujeto	%	No.	%
No. total en el intervalo	41	100	38	100	40	100	39	100	158	100
Ingesta alcohólica en los 3 días previos	5	12	7	18	9	23	4	10	25	16
Ingesta alcohólica regular (semanal o mensual)	9	22	8	21	6	15	9	23	32	20
Hábito tabáquico regular ( $\geq 6$ cigarrillos/día)	10	24	4	11	3	8	5	13	22	14
Uso de medicamentos en el último mes	12	29	8	21	10	25	2	5	32	20
Uso de anovulatorios hormonales	0/11	-	2/10	20	2/13	15	1/8	13	5/42	12
Infecciones o vacunas en los 6 últimos meses	4	10	6	16	2	5	3	8	15	10
Enfermedades agudas en el último mes	2	5	4	11	3	8	4	10	13	8
Traumatismos en los últimos 15 días	2	5	3	8	2	5	3	8	10	6
Deportes extenuantes en los 7 días previos	14	34	13	34	9	23	15	39	51	32
Índice de Quetelet > 25	12	29	12	32	17	43	12	31	53	34
Índice de Quetelet < 20	2	5	3	8	4	10	4	10	13	8

Ningún factor se distribuyó en forma suficientemente desigual para ser estadísticamente significativa.

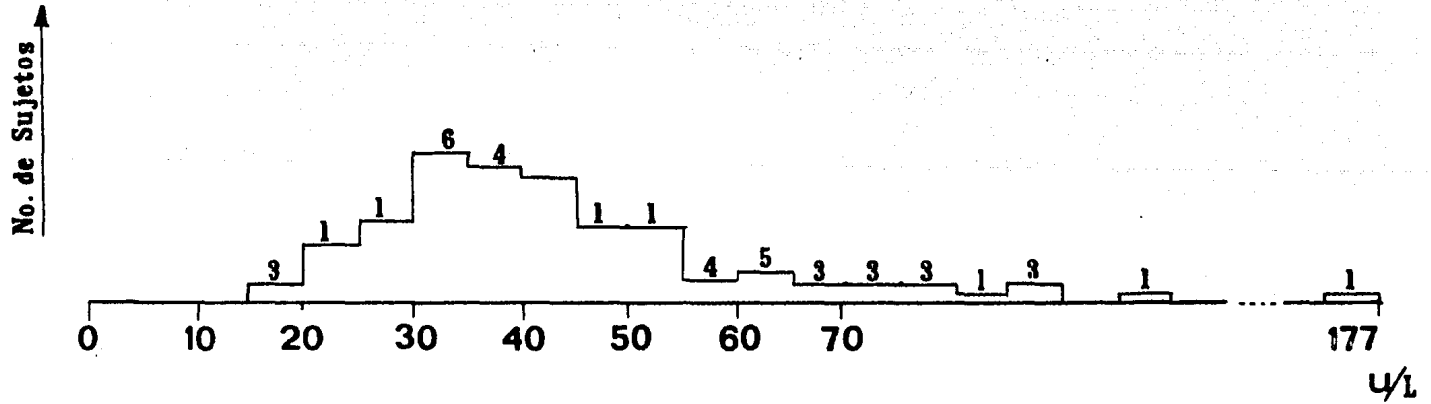
Contra lo esperado el uso de medicamentos se asoció con los niveles bajos de ambas enzimas, alcanzando un valor de  $0.1 > p < 0.05$  en el caso de ALAT.

No hubo diferencias significativas en la distribución de los sujetos con ingesta alcohólica regular (semanal o mensual) o de aquellos que habían ingerido alcohol en los 3 días previos.

Distribución de Valores para ALAT



Distribución de Valores para ASAT



El efecto que produjo el torniquete y el ejercicio manual en los 9 sujetos sanos, puede observarse en la siguiente tabla:

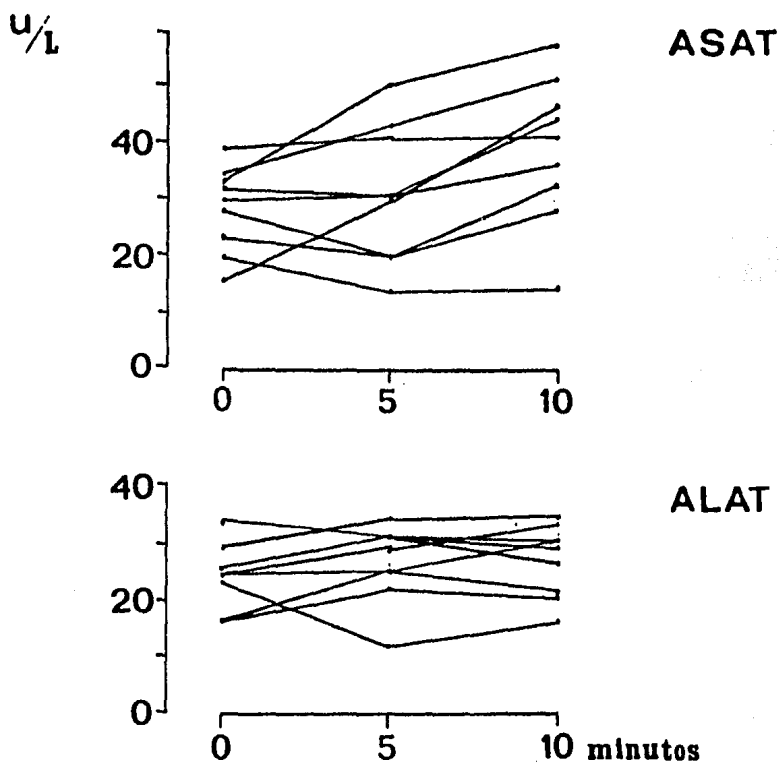
ASAT O TGO

No. Sujeto	Basal UI/L	5 min. UI/L	10 min. UI/L
1	16	30	46
2	20	14	14
3	24	20	32
4	28	20	28
5	30	30	44
6	32	31	36
7	33	50	57
8	34	43	51
9	39	41	41

ALAT O TGP

No. Sujeto	Basal UI/L	5 min. UI/L	10 min. UI/L
1	16	22	20
2	16	26	21
3	23	12	16
4	24	29	33
5	25	31	30
6	25	25	31
7	25	31	29
8	29	34	34
9	33	29	26

Efecto del torniquete y el ejercicio manual sobre ALAT y ASAT  
en 9 sujetos sanos.



Comparando los resultados por medio de un análisis de regresión lineal, se obtuvo un incremento promedio de 8.3 UI/L para ASAT o TGO con  $p < 0.01$  y una elevación promedio de 2.1 UI/L para ALAT o TGP con  $p > 0.05$ .



## D I S C U S I O N

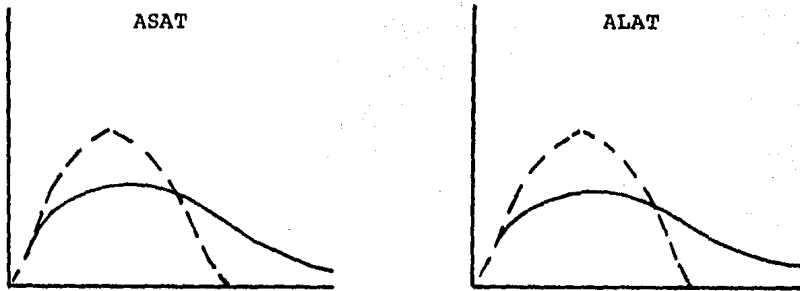
La elaboración de valores normales o de referencia, muestra el gran número de implicaciones que deben tomarse en cuenta, para su elaboración como es en primer lugar, el análisis del método en cuanto a costo, tiempo, cantidad de muestra, precisión y exactitud; lo que en nuestro caso arrojó como resultado final la elección del método con menos obstáculos arancelarios y con el tamaño de muestra menor, datos que son de vital importancia, aunque no contara con las mejores características en cuanto a imprecisión y exactitud.

Por otro lado, la selección de la población hubo de requerir de un grupo en especial que en este caso fue el del grupo de donadores de sangre altruista, con criterios de exclusión para enfermedad hepática y muscular, pero que fue representativa de la población en general, aún así, nuestros resultados muestran un sesgo hacia el sexo masculino, presentando también un predominio de sujetos hacia etapas de la juventud y madurez temprana, así como de complexión robusta, datos inherentes a una población de donadores de sangre.

La distribución de valores mostró una tendencia que se hace asintótica hacia los valores arriba de 30 UI/L y se muestra la diferencia entre nuestra población y la que marca el método por nosotros elegido, para un población de donadores del Sur de California.

- - - - Donadores del Sur de California

———— Donadores Mexicanos



Esta tendencia puede tener diversas explicaciones:

1. Producción de hemolisis por el torniquete aplicado.

El ensayo sobre el torniquete y ejercicio manual arrojó el resultado de un incremento promedio de 8.3 UI/L para ASAT y 2.1 UI/L para ALAT, siendo este incremento estadísticamente significativo sólo para ASAT, esto ciertamente habla de un incremento que tiene para relevancia clínica y que no llega a 10 UI/L, por el lado de ALAT el incremento es aún menor.

2. Incremento sistemático en la valoración de ambas enzimas.

El control de la calidad en los ensayos de ambas enzimas,

para las muestras de los donadores muestran los siguientes parámetros:

		VALOR ESPERADO				VALOR OBTENIDO			
Suero Control		N	$\bar{X}$ UI/L	s	C.V. %	N	$\bar{X}$ UI/L	s	C.V. %
ALAT	Kontrollogen 46-62	-	54	4	7.4	10	53.86	4.63	8.5
	Precinorm 41-59	-	50	4.5	9	7	49.64	1.76	3.5
ASAT	Kontrollogen 58-78	-	68	5	7.3	8	64.4	5.1	7.9
	Precinorm 44.5-63.5	-	54	4.75	8.79	6	55.1	3.17	5.75

Esto nos indica la cercanía de los valores promedios esperados y observados y que se encuentran ligeramente desviados, pero hacia los valores bajos y con una imprecisión aún menor a la que marca nuestro método control, lo cual habla de una adecuada valoración y no una supervaloración de ambas enzimas.

### 3. De carácter genético y/o racial.

Las influencias genéticas y raciales si pueden mostrar diferencias entre diversas enzimas o en sus determinaciones como sucede con la transferasa que interviene en la acetilación de la isoniazide que en su variante rápida se presenta hasta en el 95% de los esquimales y sólo 17% en los egipcios<sup>21</sup>. Los mexicanos, producto de un mestizaje entre la raza india y española pudiera presentar una variación en cuanto a estas transferasas, encontrándose incrementadas en el suero, respecto a la de los donadores sajones de U.S.A.

4. Ocasionada por un tipo de hepatitis.

Todos los sujetos fueron Antígeno Australia negativos - AgsHB y sujetos con más de 50 UI/L presentaron AcsHB, AgeHB, AceHB negativos, lo cual indica que este sesgo no fue originado por Hepatitis A o B, aunque no se excluye que sea debido a la hepatitis - NoA NoB, como se ha sugerido por otros autores<sup>(22)</sup> que han encontrado aumentada la desviación de este tipo de hepatitis en sujetos con valores mayores de 29 UI/L<sup>(23)</sup>.

5. Ingesta de alcohol o ejercicio exhaustivo.

La ingesta reciente de alcohol y los deportes extenuantes no mostraron un efecto sobre los niveles de TGP o TGO, respectivamente, como puede observarse en la tabla 1 y 2 (páginas 30 y 31).

6. También debe considerarse el grado de excitación emocional, previa a la toma de muestra que presentó el 66% de la población.

De los 180 sujetos muestreados 120 estuvieron sometidos al stress durante la toma de muestra, pues ésta se efectuó en una "Campaña de Donación Altruista de Sangre" efectuada por la Cruz - Roja Mexicana en las oficinas de Radio Centro, por lo que estas - personas estuvieron en un ambiente festivo con la presencia de artistas, música y regalos.

CONCLUSIONES

1. Los valores de referencia en donadores mexicanos son superiores a los reportados en general, por la literatura en grupos de sujetos sanos.

	ALAT UI/L	ASAT UI/L
Donadores Mexicanos	13-67	21-77
Donadores U.S.A.	5-27	1-29

2. En nuestro estudio el efecto del torniquete y el ejercicio manual sólo influyen moderadamente en los resultados de ASAT o TGO.
3. La ingesta de medicamentos, el ejercicio exhaustivo no ejercen ningún efecto sobre las determinaciones de ALAT o ASAT.
4. Estos valores pueden encontrarse elevados, debido a que el 66% de nuestros donadores se encontraron en un estado de tensión y excitación, factores que sabemos influyen de manera importante en la determinación de enzimas.
5. Es importante efectuar estudios como el presente, en caso de llevar a cabo la política de excluir a los sujetos con más de 30-40 UI/L de ALAT como prevención para la hepatitis NoA NoB, porque esto produciría la eliminación del 29 al 46% de nuestra población de donadores de sangre.
6. Un cuestionario como el diseñado en nuestro estudio, es útil porque nos ha permitido conocer el comportamiento propio de nuestra muestra, que ha arrojado resultados muy diferentes a los encontrados en otras poblaciones.

**CUESTIONARIO DE SELECCION DE INDIVIDUOS PARA  
DETERMINACION DE VALORES DE REFERENCIA**

Sitio de captación \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

Nombre \_\_\_\_\_ Sexo: M F Edad \_\_\_\_\_

Ocupación \_\_\_\_\_

Lugar de residencia habitual \_\_\_\_\_

1.- Es Mexicano de Nacimiento NO SI  
\_\_\_\_\_

2.- Alguno de sus abuelos nació fuera de México \_\_\_\_\_

Cuántos en total? \_\_\_\_\_

**SI ES MUJER:**

3.- Utiliza algún medio de planeación familiar? NO SI De qué tipo \_\_\_\_\_

4.- Cuando fue su última regla?

5.- Esta Ud. casado o tiene relaciones sexuales? NO SI

6.- Gesta \_\_\_\_\_ Para \_\_\_\_\_ Abortos \_\_\_\_\_ Cesárea \_\_\_\_\_

7.- Cuando fue su último parto? \_\_\_\_\_

**PARA TODOS:**

8.- Alguna vez ha tenido hepatitis o se ha puesto amarillo? NO SI

9.- Alguna vez ha tenido alguna enfermedad del corazón? NO SI

10.- Alguna vez ha tenido alguna enfermedad en los músculos? NO SI

11.- Alguna vez ha tenido tuberculosis? NO SI

12.- Alguna vez le han dicho que sea diabético? NO SI

13.- Alguna vez le han dicho que tiene la presión alta? NO SI

\* Hora de la última ingesta de alimento

\* Postura

En los últimos 6 meses

- 14.- Se le ha practicado alguna operación? NO SI
- 15.- Se le ha puesto una transfusión de sangre o plasma? NO SI
- 16.- Se le ha puesto alguna inyección o vacuna? NO SI

En el último mes

- 17.- Ha tomado o se ha aplicado algún medicamento? NO SI
- incluyendo pastillas para dormir, anticonceptivos,  
vitaminas? Cuál (es)? \_\_\_\_\_

- 18.- Ha tenido calentura, gripa o diarrea por más de 3 días?  
Cuándo inició? \_\_\_\_\_  
Cuándo acabó? \_\_\_\_\_

- 19.- Acostumbra fumar? NO  
SI Cuántos cigarrillos diarios en promedio?
- 1 o menos
  - 2 a 5
  - 6 a 10
  - 11 a 20
  - Más de 20

- 20.- En promedio con qué frecuencia ingiere bebidas alcohólicas?
- diariamente
  - cada tercer día
  - cada semana
  - cada mes
  - menos frecuentemente

- 21.- Ha tomado alguna bebida alcohólica en el curso de los últimos 3 días?  
NO SI Cuánto? \_\_\_\_\_

- 22.- Ha participado en alguna actividad deportiva en las últimas 2 semanas?  
NO SI

- 23.- Ha tenido algún golpe fuerte en el cuerpo en las últimas 2 semanas?  
NO SI

24.- Peso \_\_\_\_\_

25.- Talla \_\_\_\_\_ m.

B I B L I O G R A F I A

1. Grasbeck R., Provisional Recommendation on the Theory of Reference Values, part 1 The concept of reference values. Clinical Chemistry, Acta 87 (1978) pp. 455-465.
2. Petitclerc, The Theory of Reference Values, part 2 Selection of healthy individuals for the production of reference values. International Federation of Clinical Chemistry, Stage 1 Draft 4, 1981, 5, 7.
3. Solberg, H. E., The Theory of Reference Values, part 5, Treatment of collected reference values. Determination of reference limits. International Federation of Clinical Chemistry, document Stage 1 Draft 4, 1981, 5, 13.
4. Félix Wroblewski and John S. LaDue, Serum Glutamic Pyruvic Transaminase in Cardiac and Hepatic Disease. Proceedings of the Society for experimental Biology and Medicine, 91, pp. 569-571, 1986.
5. Tietz, Norbert W., Química Clínica Moderna, Ed. Interamericana, México, 1972, pp. 384.
6. Lenhinger Albert, L., Bioquímica, Ediciones Omega, S. A., 2a. Ed. Barcelona, 1981.
7. Ibid, pp. 393-394.
8. Todd-Sanford, Diagnóstico Clínico por el laboratorio 6. Ed. Editorial Salvat, México, 1982, pp. 845.
9. Tietz, Norbert W., Op. cit., pp. 456.
10. Todd-Sanford, Op. cit., pp. 846.
11. Todd-Sanford, Op. cit., pp. 847.
12. Friedman, R. B., Anderson R. E., Entine, S. M. y Airshberg, S., Effects of Disease on Clinical Laboratory Test. P. Clinical Chemistry, 1980; 26, 26 D y 46 D.



13. Ross, J. A., Attwood, E. C. Atkin, G. E. y Villar, R. N., A Study on the Effects of Severe Repetitive Exercise on Serum Myoglobin, Creatin Kinase, Transaminases and Lactate Deshidrogenase. Ovartely Journal of Medicine, 1983, 52; pp. 268.
14. Olsson, R., Korsan-Bengtson, B. M.; Korsan-Bengtson, K. Serum Aminotransferase After Low Dose Heparin Treatment. Lemmartson J. y Waldertrom, 2. Acta, 1978; pp. 204-229.
15. Karmen Arthur, A Note on the Spectrofotometric Assay of Glutamic Oxalacetic Transaminase in Human Blood Serum. Journal of Clinical Investigation 34, pp. 126-131 (1955).
16. Wisdon, G., Enzyme-Immuno Assay. Clinical Chemistry 1976; 22, pp. 1243.
17. Donner A. and Cunningham D. A. Regression Analysis in Physiological Research: Some Comments on the Problem of Repeated Measurements. Med. Sci. Sports Exerc. 16, pp. 422, 1984.
18. Herrera, L., The Precision of the Percentiles in Stablishing Normal Limits in Medicine. Journal of Laboratories Clinical Medicine 1958; pp. 34-52.
19. Siegel, S., Estadística no Paramétrica, Editorial Trillas, México 1979, pp. 69.
20. Simopenlos, A., Van Itallie, T. B. Body Weight Health and Longevity. Ann International of Medicine 1984, 100; 285.
21. Alford, R. H., Antimicrobial Agents, Ed. Mandell G. L.; Douglas R. G. y Bermett, J. E., New York. John Willey & Sons Inc., 1979, pp. 328.
22. AACH Richardd et. al., Serum Alanine Aminotransferase of Donors Relation to the Risk of Non A Non B Hepatitis in Recipients.
23. Vigas, G. N.; Dienstag, J. L. & Hoofnagle, J. H. Viral Hepatitis and liver Disease. Orlando, Grune & Stratton, inc. 1984: 24; pp. 319-351.