

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

República de Guatemala, Centro América

## TRANSAMINASA OXALACETICA EN ANEMIAS

T E S I S

*Presentada a la Junta Directiva de la Facultad de Ciencias  
Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de  
Guatemala,*

P o r

### DORA FUMAGALLI DE PAZ

En el acto de su Investidura de:

### QUIMICO BIOLOGO

Guatemala, Noviembre de 1963.



JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA  
DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

Decano: . . . . .Lic. Ricardo Antillón M.

Vocal 1º . . . . .Ing. Enrique Molina.

Vocal 2º . . . . .Dr. Francisco Aguirre.

Vocal 3º . . . . .

Vocal 4º . . . . .Br. Fernando Mazariegos.

Vocal 5º . . . . .Br. Augusto Marroquín.

Secretario . . . . .Lic. Rubén Mayorga P.

*Tribunal que practicó el Examen General Privado:*

Decano: . . . . .Lic. Ricardo Antillón M.

Vocal 1º . . . . .Dr. Mario A. Villanueva.

Examinador . . . . .Dr. Eduardo Bregni.

Examinador . . . . .Dr. Leonel Carrillo R.

Secretario . . . . .Lic. Rubén Mayorga.

DEDICO ESTE ACTO:

*A mis Padres:*

HUMBERTO FUMAGALLI M.  
PIEDAD A. DE FUMAGALLI

*A mi Esposo:*

RICARDO PAZ CARRANZA

*A mis Hijos:*

DORA ELISA y RICARDO

*A mis Hermanos:*

AMALIA IRENE  
CLOTILDE  
ASTOLFO

*A mis Cuñados:*

JULIO ALBERTO  
ANA MARIA  
MARIA ELISA  
ANA MERCEDES  
ALEJANDRO

*A mis Tíos y Primos.*

DEDICO ESTA TESIS:

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Al Colegio La Patria de Quezaltenango

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR:

*Someto a vuestra distinguida consideración, previo a obtener el Título de Químico Biólogo, mi trabajo de tesis titulado "TRANSAMINASA GLUTAMICA OXALACETICA EN ANEMIAS".*

*Quiero agradecer la valiosa cooperación de los Drs. Arturo Mendizábal M. y Jaime Cohen, para poder llevar a cabo el presente trabajo.*

## PLAN DE TESIS

- 1) INTRODUCCION
- 2) MATERIAL
- 3) METODO
- 4) RESULTADO
- 5) DISCUSION
- 6) CONCLUSIONES
- 7) BIBLIOGRAFIA

## INTRODUCCION

Estudios efectuados por algunos autores tales como Martín D. Sass y Paul W. Spear, <sup>1</sup> sobre los niveles de Transaminasa Glutámica Oxalacética en glóbulos rojos de pacientes afectados por anemias hemolíticas, fue para nosotros incentivo y guía para investigar estos niveles en pacientes que adolecen de anemias Hipocrómicas Microcíticas, Normocrómicas Macrocíticas, Normocrómicas Normocíticas Hipocíticas, y tratar de encontrar algunos datos interesantes, aunque no definitivos ni estadísticos, pero de indudable valor por tratarse de un trabajo nuevo y de proyecciones futuras.

Trabajos de esta índole son escasos y su inicio es joven, por lo que nuestro interés se agudizó y enfocó hacia este tema, siendo la razón que nos indujo a efectuar el presente trabajo, la escasa literatura que existe acerca del estudio de la Transaminasa Glutámica Oxalacética en glóbulos, en comparación con la abundante literatura que existe de esta transaminasa en suero sanguíneo.

Los niveles de transaminasas glutámica pirúvica y glutámica oxalacética en suero humano, aumentan en ciertos estados patológicos. Se ha demostrado que la transaminasa glutámica oxalacética se encuentra en alta concentración en los tejidos de órganos tales como: corazón, hígado, riñón, músculo y cerebro. Las relaciones entre la alta concentración sérica de esta enzima y procesos necróticos hepáticos y del miocardio, han sido ampliamente estudiadas y constituyen una valiosa ayuda para el diagnóstico médico

La transaminasa glutámica pirúvica, cuya concentración es mayor en la célula hepática que en el músculo cardíaco, se encuentra más consistentemente aumentada en el suero de pacientes con hepatitis, constituyendo un índice muy significativo en estos procesos patológicos, ya que por regla general la transaminasa glutámica pirúvica no se encuentra elevada en el infarto del miocardio.

En la sangre estas transaminasas no se encuentran solamente en el plasma, sino también en los glóbulos rojos donde su concentración es aproximadamente diez veces mayor que en el suero.

La transaminasa glutámica oxalacética se ha encontrado elevada en glóbulos de pacientes afectados por variedad de anemias caracterizadas por hiperplasia de la médula ósea y producción aumentada de glóbulos rojos, que llegan a la sangre periférica sin haber completado su maduración. Investigaciones hechas al respecto, <sup>1</sup> arrojaron datos de una actividad enzimática aumentada que correspondía a un aumento de reticulocitos; lo que unido al hecho anterior, constituyen hallazgos sugestivos para pensar que la actividad aumentada está asociada a la corta edad celular.

La actividad de la transaminasa glutámica oxalacética en glóbulos rojos se encuentra aumentada en pacientes que sufren de anemias hemolíticas y en otros cuyas anemias están bajo tratamiento, este aumento lo podría explicar la presencia de eritrocitos jóvenes en la sangre periférica como consecuencia de la respuesta de los órganos eritropoyéticos.

Investigaciones recientes <sup>2</sup> han demostrado que otras enzimas, entre ellas la Dehidrogenasa Láctica, está aumentada en la anemia perniciosa y sugieren la dosificación de ella como otro medio diagnóstico en personas en las cuales se sospecha esta enfermedad.

## MATERIAL

*Material Clínico:* representado por personas internadas en las diferentes salas del Hospital Roosevelt entre las cuales se escogieron pacientes de distintas edades afectados de las anemias que se estudiaron.

La sangre de estos sujetos fue obtenida por punción venosa —antes de iniciarse su tratamiento específico— y para su estudio se les dividió en las siguientes categorías:

*GRUPO I:* sujetos sanos no hospitalizados y considerados normales desde el punto de vista de anemia, y que sirvieron como control.

*GRUPO II:* pacientes con anemia hipocrómica microcítica.

*GRUPO III:* pacientes con anemia normocrómica macrocítica.

*GRUPO IV:* pacientes con anemia normocrómica normocítica hipocitémica.

En la selección de estos pacientes se desecharon aquellos que tuvieran o hubieran referido historia de ictericia, pérdida aguda de sangre o afecciones hepáticas o cardíacas.

La determinación de la transaminasa glutámica oxalacética se realizó en los glóbulos de cada paciente.

## METODO

El método usado en este trabajo para la determinación de la transaminasa glutámica oxalacética en glóbulos, es el de Reitman y Frankel<sup>3</sup> con reactivos preparados por la casa Dade, método colorimétrico cuyo fundamento es el siguiente: la enzima transaminasa glutámica oxalacética cataliza la conversión de ácido aspártico y ácido alfa queto glutárico en ácido glutámico y ácido oxalacético.

En el método usado, los queto ácidos se hacen reaccionar con dinitrofenil hidrazina para formar las hidrazonas de queto ácidos, las cuales mediante la adición de hidróxido de sodio producen un color pardo intenso.<sup>3</sup>

En el método de Reitman y Frankel, se usan 0.2 ml. de suero y se incuba a 37°C y la curva ha sido ajustada de tal manera que se obtienen resultados comparables a los del método ultravioleta.

La actividad de TGO se expresa en unidades por ml. de suero. Una unidad es aquella cantidad de enzima que a 25°C y 340 mu. produce un descenso en densidad óptica de 0.001 por minuto (método ultravioleta), esta unidad fue determinada por el método de Karmen.<sup>6</sup>

Escogimos este método por las ventajas que presenta en cuanto a economía de tiempo, material y equipo de laboratorio standard se refiere y además por ser usado en la actualidad en los laboratorios del Hospital Roosevelt. Reconocemos que existen otros métodos más exactos como el de Karmen, pero en nuestro medio presenta la desventaja de que es muy elaborado, ya que acopla la reacción de transaminación con otras reacciones enzimáticas (deshidrogenasa málica) y luego mide el cambio de densidad óptica en la región ultravioleta producido por la oxidación del D. P. N. H. (N. A. D. H.) a D. P. N. (N. A. D. H.), lo cual implica la utilización de equipo especial (espectrofotómetro que abarque la región del ultravioleta).<sup>6</sup>

En la sangre completa la actividad de la transaminasa reside en plasma y glóbulos, sin embargo la mayor parte de esta actividad se encuentra en los eritrocitos.

En el presente trabajo los resultados obtenidos en la determinación de TGO en glóbulos, se expresan en unidades TGO por cada 100 mg. de hemoglobina, por unidades TGO/ml. de sangre total y por unidades TGO/ml. de células empacadas.

El procedimiento seguido para la determinación de TGO en los glóbulos, se verificó de acuerdo a la técnica propuesta por Sass y Spear, de la manera siguiente: se obtuvo sangre venosa de cada paciente, recogiendo de 5 a 6 ml. los cuales se dividieron en partes iguales en tubos separados, uno con heparina como anticoagulante y otro sin ella. En el suero obtenido del tubo sin anticoagulante, se dosificó la actividad de la TGO, con el fin de utilizar solamente la sangre de los pacientes que no presentaran alteración de la enzima.

La sangre completa se utilizó para clasificar la anemia —clasificación que se hizo por el método de Wintrobe— y determinar la actividad de la transaminasa en los eritrocitos de acuerdo con el procedimiento siguiente: los glóbulos se lavaron tres veces con solución salina al 0.85% y luego se restituyó su volumen inicial con la misma solución. De esta suspensión se tomó una alícuota y se hizo una dilución 1:20 con agua destilada, dejando en reposo diez minutos para lograr hemolisis total, después de lo cual se centrifugó a 2000 RPM durante diez minutos.

En el sobrenadante se determinó la actividad enzimática por el método de Reitman y Frankel ya indicado, las densidades ópticas se determinaron con un espectrofotómetro Coleman Jr. usando tubos 19 x 150 mm. y una longitud de onda de 505 mμ. de acuerdo con la indicación del procedimiento seguido.

## *RESULTADOS*

Las abreviaturas usadas en la anotación de los resultados son las siguientes:

Hb: Hemoglobina.

Hto: Hematocrito.

U-TGO/ml. cel. emp.: unidades de transaminasa gluta-oxalacética por cada ml. de sangre total.

U-TGO/100 mg. Hb.: unidades de transaminasa glutámica oxalacética por cada 100 mg. de hemoglobina.

U-TGO/ml. cel. epm.: unidades de transaminasa glutámica oxalacética por cada ml. de células empacadas.

D. S.: desviación standard.

C. V.: Coeficiente de variación.

CUADRO N° 1

I GRUPO

INDIVIDUOS NORMALES (CONTROL)

Paciente	Hb. gm%	Hto%	U-TGO/ml.s.t.	U-TGO/100mg.Hb.	U-TGO/ml.cel.emp.
1	16	47	2,420	1,512	5,148
2	15	43	2,500	1,666	5,813
3	15	46	2,760	1,840	6,000
4	15,5	47	2,960	1,908	6,297
5	14,5	43	2,920	2,000	6,790
6	15,6	45	3,000	1,924	6,666
7	15,3	47	1,900	1,240	4,042
8	15,2	45	2,960	1,946	6,577
9	15	43	3,120	2,080	7,255
10	15	44	2,760	1,840	6,272
Promedio	15,21	45	2,730	1,796	6,086
D.S.	—	—	± 236	± 154	± 596
CV.	—	—	8,6	8,6	9,79

CUADRO N° 2

II GRUPO

PACIENTES CON ANEMIA HIPOCROMICA MICROCITICA

Paciente	Hb, gm%	Hto%	U-TGO/ml.s.t.	U-TGO/100mg.Hb.	U-TGO/ml.cel.emp.
1	3.3	13	2,520	7,620	19,385
2	3.1	13	2,680	8,640	20,615
3	6.2	22	3,480	5,600	15,818
4	10	33	2,680	2,680	8,121
5	6.6	24	3,000	4,840	12,500
6	7	29	1,720	2,456	5,931
7	4.3	14	1,780	3,906	12,714
8	8.5	26	2,080	2,440	8,000
9	8.6	32	3,240	3,765	10,125
10	6.6	22	1,360	2,060	6,182
11	4.3	16	1,500	3,488	9,375
12	7	28	3,660	5,220	13,071
13	8.4	24	2,240	2,660	9,333
14	7	15	1,360	1,942	9,067
15	4.5	21	3,000	6,666	14,285
16	9	34	1,900	2,110	5,588
Promedio	6.05	22.8	2,432	4,131	11,256
D.S.	---	---	± 449	± 1,339	± 2,473
C.V.	---	---	18.5	32.2	22

CUADRO N° 3

III GRUPO

PACIENTES CON ANEMIA NORMOCROMICA MACROCITICA

Paciente	Hb.gm%	Hto%	U-TGO/ml.s.t.	U-TGO/100mg.Hb.	U-TGO/ml.cel.emp.
1	7.7	26	2,160	2,800	8,308
2	7.6	25	3,160	4,156	12,640
3	8.9	31	2,540	2,840	8,194
4	4	14	1,240	3,100	8,857
5	5.7	17	1,220	2,140	7,176
Promedio	6.8	22.6	2,064	3,007	9,035
D.S.	—	—	± 378	± 479	± 1354
C.V.	—	—	18.3	15.9	15

---

CUADRO N° 4

IV GRUPO

PACIENTES CON ANEMIA NORMOCROMICA NORMOCITICA HIPOCITEMICA

Paciente	Hb, gm%	Hto%	U-TGO/ml.s.t.	U-TGO/100 mg. Hb.	U-TGO/ml.cel.emp.
1	10.2	35	3,600	3.5 20	10,286
2	10.3	35	3,000	2,900	8,571
3	3.8	11	160	4,200	1,455
4	7.7	31	4,209	5,580	13,671
5	5.7	16	1,360	2,384	8,500
6	9.6	28	1,800	1,874	6,429
7	9.6	26	1,500	1,562	5,769
8	8.4	22	1,360	1,618	6,182
9	9.2	28	1,660	1,804	5,929
10	8.1	23	1,500	1,850	6,522
11	9.3	32	1,900	2,040	5,938
12	10.6	31	1,680	1,584	5,419
13	10.6	33	1,300	1,512	5,455
14	11.9	27	1,660	1,844	6,146
15	7.7	27	1,680	2,180	6,222
16	7.7	26	1,860	2,400	7,154
17	7	27	2,180	3,114	8,074
18	8	27	1,900	2,374	7,037
19	7.8	27	2,360	3,024	8,741
20	9.3	31	1,880	2,020	6,055
Promedio	8.5	27.15	1,957	2,469	± 1,718
D.S.	---	---	± 643	± 766	6,988
C.V.	---	---	32.9	31	24.6

CUADRO Nº 5

RESUMEN

Gru- po	Tipo de Anemia	Nº de Paciente	U-TGO/100 mg. Hb.			U-TGO/ml. s.t. Hto. %				U-TGO/ml. cel.		emp.
					C.V.							C.V.
I	Normal (Control)	10	1,796 ±	154	8.6	2,730 ±	236	8.6	45	6,086 ±	596	9.79
II	Hipocrómica microcítica	16	4,131 ±	1,339	32.2	2,432 ±	449	18.5	22.8	11,256 ±	2,473	22
III	Normocrómica macrocítica	5	3,007 ±	479	15.9	2,064 ±	378	18.3	22.6	9,035 ±	1,354	15
IV	Normocrómica normocítica hipocitémica	20	2,469 ±	766	31.0	1,957 ±	613	32.9	27.15	6,988 ±	1,718	24.6

## DISCUSION

Los resultados sumarizados en el cuadro No. 5, nos muestran claramente que el número de pacientes por grupo, especialmente el III Grupo, es bastante reducido y que el coeficiente de variación, principalmente para los grupos III y IV es bastante elevado. Por lo tanto, las consideraciones estadísticas que intentamos hacer en esta discusión estarán condicionadas a las deficiencias anteriores y su exactitud será relativa.

Es de hacer notar que todos los trabajos de esta naturaleza, están sujetos a una serie de parámetros incontralables por parte de los que llevan a cabo los trabajos experimentales. Entre estos parámetros podemos citar la disponibilidad de un número grande de pacientes, la heterogeneidad de las condiciones nutricionales de los mismos, régimen de vida anterior, historia clínica, etc., además hay que recordar que aún en animales de experimentación (ratas, conejos, cuyos, etc) de una misma camada y sometidos a regímenes idénticos de tratamiento, alimentación etc., se encuentran en la mayoría de los casos, grandes variaciones que sólo se pueden atribuir a la individualidad bioquímica de los mismos.

Los datos obtenidos en el experimento nos indican que en los 3 grupos de anémicos, la actividad de la transaminasa glutámica oxalacética en los glóbulos es mayor que para el grupo control, (I: 1,796  $\pm$  154; II: 4,131  $\pm$  1,339; III: 3,007  $\pm$  479; IV: 2,469  $\pm$  766), sin embargo la desviación standard del II Grupo (1,339), nos indica que hay una variabilidad considerable entre los individuos de este grupo (coeficiente de variación 32), cuadro N° 5, probablemente se debe a la heterogeneidad en cuanto a edad (ya que se tomaron muestras de niños y adultos), condición nutricional etc.

Al comparar los datos obtenidos para los Grupos I y III, tenemos que son los grupos que presentan menor coeficiente de variación, 8.6 para el I y 15.9 para el III. Hay que hacer notar que el Grupo III está constituido por solo 5 pacientes ya que no fue posible encontrar más casos. De éstos

los números 3, 4 y 5 son megaloblásticos pero sin embargo el coeficiente de variación para los 5 pacientes indica que no introducen mayor variación en cuanto a la homogeneidad del grupo. Para los grupos I y IV la desviación standard nos hace pensar que la diferencia de la actividad de la TGO en glóbulos para estos dos grupos probablemente es poco significativa.

Comparando los grupos de anémicos entre sí, podemos notar que si bien varían en cuanto a la media aritmética se necesitaría un estudio estadístico profundo para determinar su significación.

Los datos en U-TGO/100 mg. Hb., que es la forma escogida por Sass y Spear, para informar los resultados de sus experimentos, creemos que no dan una idea de la actividad específica real de la enzima, en el caso de las anemias que estudiamos, ya que al estar reducida la hemoglobina, artificialmente se altera el valor de la relación actividad/Hb.

No es aconsejable expresar la actividad específica de estas enzimas en unidades de actividad/ml. de sangre total.

A nuestro juicio dicha relación adolece del defecto de que si la sangre del paciente anémico presenta un hematocrito bajo, la actividad expresada en las unidades anteriores, dependerá en proporción directa del valor del hematocrito.

Es decir que dos pacientes con la misma actividad globular, diferirán de acuerdo con el hematocrito de sus respectivas sangres.

En nuestra opinión la actividad específica de las enzimas en glóbulos de pacientes que padecen anemias con alteración del índice de color, deben informarse como una relación entre actividad y masa globular.

Examinando los resultados obtenidos al expresar la actividad específica de la TGO en U-TGO/ml. células empacadas, podemos apreciar que la variabilidad de los datos dentro de cada grupo es menor, a excepción del I Grupo. (I: 8.6

contra 9.8; II: 32.2 contra 22; III: 15.9 contra 15; IV: 31 contra 24.6).

Cualitativamente obtenemos el mismo cuadro que cuando se usaron U-TGO/100 mg. Hb., es decir, los valores promedio para los tres tipos de anemia están más elevados que en el grupo normal; (I: 6,036  $\pm$  596; II: 11,256  $\pm$  2,473; III: 9,035  $\pm$  1,354; IV: 6,988  $\pm$  1,718), también la diferencia entre los grupos I y IV es bastante pequeña.

Las U-TGO/ml. sangre total que aparecen en las tablas, fueron determinadas con el propósito exclusivo de que sirvieran como base para los cálculos de la U-TGO/ml. células empaçadas; sin embargo podemos apreciar que, como mencionamos anteriormente, los promedios para las sangres anémicas son menores que los de las sangres normales y creemos que esto es solo un artefacto debido a que las sangres anémicas presentaron hematocritos bajos (I: 45%; II: 22.9%; III: 22.6%; IV: 27.15%).

Se puede observar que en los tres tipos de anemia estudiados se obtuvieron aumentos de TGO respecto a lo normal, siendo éstos más marcados en las anemias hipocrómicas microcíticas, lo que nos induce a pensar de acuerdo con el criterio sostenido por investigadores <sup>1</sup> que la presencia de eritrocitos jóvenes hace aumentar la TGO en los diferentes tipos de anemias; siendo conveniente para el futuro profundizar más estas investigaciones. Los resultados obtenidos nos hacen pensar que la enzima transaminasa glutámica oxalacética juega un papel importante en la eritropoyesis normal.

El trabajo que efectuamos, fue hecho en una fase de la anemia diferente a la de los estudios que han sido publicados. es decir, nosotros determinamos la transaminasa glutámica oxalacética en pacientes recién ingresados al centro hospitalario y cuyas muestras fueron tomadas antes del inicio de un tratamiento adecuado a su estado, mientras que las investigaciones que nos orientaron hacia este trabajo, fueron echas durante un período del tratamiento en el cual el paciente había empezado a reaccionar por el estímulo de las drogas administradas. Sin embargo, nuestro

trabajo y los publicados al respecto, demuestran claramente un hecho: que la elevación de la transaminasa glutámica oxalacética en hemolizado de la sangre de sujetos anémicos es notoria, y concordamos con los trabajos de los autores mencionados en la sugerencia que hacen de que la actividad de la TGO puede ser útil como indicador de la actividad eritropeyética. Es de interés continuar la investigación de esta enzima y necesario un estudio efectuado antes, durante y después del tratamiento, para poder emitir una opinión basada en un trabajo completo en lo que respecta al control de la respuesta medular del paciente.

Queremos dejar constancia de que el objeto de esta tesis ha sido informar los resultados de nuestros experimentos, y no pensamos que deban tomarse como patrón o re-

gla general, ya que el número de casos fue reducido y los resultados obtenidos no han sido sometidos a un análisis estadístico riguroso, sin embargo presentamos los datos individuales obtenidos, para que puedan ser estudiados por personas más capacitadas en el campo de la estadística, y también para que puedan ser comparados en futuros trabajos en esta área que personas interesadas puedan llevar a cabo.

## CONCLUSIONES

- 1) En los tipos de anemia estudiados, se encontraron valores altos de Transaminasa Glutámica Oxalacética en glóbulos rojos.
- 2) Es de interés profundizar el estudio de esta enzima en los diferentes tipos de anemia, ya que se han obtenido resultados muy interesantes que sugieren una relación directa de la Transaminasa Glutámica Oxalacética con la actividad eritropoyética medular.
- 3) La determinación cuantitativa de la Transaminasa Glutámica Oxalacética puede ser un medio para controlar la respuesta eritropoyética al tratamiento.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) Sass, M., and Spear P. W.: Whole Blood Transaminase Levels in Anemia, *J. Lab & Clin. Med.*, 51: 926 (1958).
- (2) Gold Farb, T., and Papp, B. J.: Excessively high levels of Lactic acid Dehydrogenase activity in pernicious anemia, *The Am. J. of Med.*, 34: 578 (1963).
- (3) Reitman, S., and Frankel, S., *Am. J. Clin Path.*, 28: 56-63 (1957).
- (4) Sass, M., and Spear, P. W.: Red Cell transaminase levels in anemia. II. Thalassemia minor. *J. Lab. & Clin. Med.*, 58: 580 (1961).
- (5) Sass, M., and Spear, P. W.: Red Cell Transaminase levels in anemia. III. Acute and cronic blood loss. *J. Lab. & Clin. Med.*, 58: 586 (1961).
- (6) Karmen, A.: *J. Clin. Invest.*, 34: 131 (1955).

BR. DORA FUMAGALLI DE PAZ

Vo. Bo.

*Dr. J. Arturo Mndizábal M.*  
Asesor.

Imprimase

*Lic. Ricardo Antillón Matta*  
Decano.

Guatemala, Noviembre 1, 1963.