

BIOQUÍMICA CLÍNICA

PARA CIENCIAS DE LA SALUD

CAPÍTULO V

PERFIL HEPÁTICO



EDICIONES **MAWIL**

Este perfil está constituido por pruebas que indican trastornos hepáticos como hepatitis viral, hepatitis tóxica, cirrosis, hiperplasias, entre otros. Está constituido por las enzimas transaminasas (TGO, TGP, GGT), la fosfatasa alcalina, la bilirrubina y sus fracciones directa e indirecta, y las proteínas totales junto con sus fracciones, albúmina y globulinas. Todos estos parámetros se alteran, aumentando o disminuyendo, en variadas combinaciones, según el tipo de patología hepática presente, de allí que es imprescindible evaluarlas en su conjunto si se quiere pensar en un diagnóstico (27).

En este capítulo se describirán las pruebas más fundamentales: la bilirrubina, las transaminasas y la fosfatasa alcalina.

La Bilirrubina

La bilirrubina es un compuesto de desecho que surge de la degradación de la hemoglobina luego de la muerte natural de los eritrocitos, al cumplir su vida útil. Para poder ser transportada por la sangre existen diferentes mecanismos que permiten la unión de la bilirrubina a la albúmina. En condiciones fisiológicas normales, la bilirrubina se excreta por vía intestinal mediante las heces; para ello requiere pasar por el hígado y posteriormente a la vesícula biliar. Al pasar por el hígado, es captada por los hepatocitos para su conjugación y posterior excreción por la bilis. Así pues, al efectuar mediciones de la bilirrubina, esta deberá determinarse en sus formas: Total, directa e indirecta.

Bilirrubina indirecta o bilirrubina no conjugada. Es la bilirrubina que aún se encuentra unida a la albúmina, y no se ha conjugado al ácido glucurónico, en el hígado, para su eliminación.

Bilirrubina directa o bilirrubina conjugada. Es la bilirrubina que, al pasar por el hígado, se conjuga con el ácido glucurónico para, posteriormente, acumularse en la vesícula biliar y ser excretada hacia el intestino.

Bilirrubina total constituye el conjunto que suma la bilirrubina conjugada y la no conjugada.

Las alteraciones del hígado con inflamaciones agudas o crónicas (hepatitis), y las obstrucciones biliares, pueden provocar elevaciones de las concentraciones de las diferentes bilirrubinas en sangre (28).

Otras condiciones importantes para la presencia de una hiperbilirrubinemia, son, por un lado la anemia hemolítica del recién nacido. Se trata de una patología ocasionada por la incompatibilidad materno/fetal, donde se produce una hemólisis masiva de los eritrocitos. Asimismo, otros procesos hemolíticos como la anemia drepanocítica, devienen en un severo aumento de la bilirrubina. Lo que se teme de la hiperbilirrubinemia es la difusión de la bilirrubina dentro del sistema nervioso central, produciendo toxicidad a las células cerebrales.

Un marcador biológico potencial ha sido la bilirrubina sérica, la cual se ha encontrado en pacientes con apendicitis asociada a la liberación de toxinas de *Escherichia coli* y *Bacteroides fragilis* (29)

Determinación de la Bilirrubinas

Objetivos

1. **Propósito preventivo:** A individuos que con antecedentes familiares de anemia drepanocíticas o con comprobada heterocigocidad y homocigocidad para este tipo de anemia. Individuos con riesgo de contraer hepatitis virales.
2. **Propósito reactivo:** Personas que manifiesten coluria y/o ictericia, dolores abdominales asociados a hepatomegalia.
3. **Propósito de control:** Pacientes diagnóstico de hepatitis, cirrosis, y obstrucciones biliares en tratamiento.

Fundamentos

El ácido sulfanílico diazotado transforma la bilirrubina en azobilirrubina coloreada que se determina fotométricamente. De las dos fracciones de bilirrubina presentes en suero, glucuronato de bilirrubina y bilirubi-

na libre asociada a albúmina, sólo reacciona directamente la primera, mientras que la bilirrubina libre precisa ser disociada de la proteína por un acelerador para que reaccione. La bilirrubina indirecta se calcula por diferencia entre la bilirrubina total (con acelerador) y la directa (sin acelerador). Los conceptos «directa» e «indirecta» se refieren exclusivamente a las características de reacción en presencia o ausencia de aceleradores o solubilizantes y equivalen sólo de forma aproximada a las dos fracciones de bilirrubina citadas (30).

ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



Por lo general, se determinan bioquímicamente, las bilirrubinas total y directa, en tanto que la bilirrubina indirecta es la diferencia entre las anteriores.

Método 1: Colorimétrico.

La bilirrubina reacciona de manera específica con el ácido sulfanílico diazotado, generando un pigmento color rojo-violáceo (azobilirrubina) que se cuantifica por colorimetría. La bilirrubina conjugada o directa, puede reaccionar directamente con el diazorreactivo, pero, la bilirrubina no conjugada o indirecta necesita la intervención de un desarrollador acuoso que coadyuve la reacción. Así pues, para obtener la reacción de la bilirrubina total presente en la muestra, debe agregarse benzoato de cafeína al medio de reacción.

Condiciones

- Suero o plasma obtenidos de la manera convencional. Una vez separado del taco, proteger de la luz, para evitar la degradación de la bilirrubina. La luz es capaz de degradar hasta un 50% de la bilirrubina presente, en tan sólo una hora.



- Se puede determinar bilirrubina en líquido amniótico.
- Se recomienda heparina como anticoagulante.
- No debe hacerse la prueba con muestras hemolizadas.
- Estabilidad y almacenamiento: Preferiblemente muestra fresca.

Opcional, conservar un máximo de 48 h de 2 a 10 °C. Si es sangre completa, no más de 24 horas en refrigerador o 12 horas a temperatura ambiente.

- El líquido amniótico es conveniente mantenerlo congelado hasta el momento de efectuar el ensayo. Es por tal motivo que debe protegerse cuidadosamente.

Valores de referencia

- Total: 0,3 a 1,0 mg/dL
- Directa o conjugada: 0 - 0,3 mg/dL en adultos.
- Indirecta o no conjugada: 0,1 a 0,5 mg/dL adultos.

Diagnóstico

Hiperbilirrubinemia es el aumento de la concentración de bilirrubina en la sangre. Cuando ésta sobrepasa los 2 mg/dL, se puede observar coloración amarilla (ictericia) de la piel y las mucosas donde este pigmento suele acumularse. La hiperbilirrubinemia se produce porque hay una obstrucción en los conductos hepáticos, a consecuencia de una severa inflamación, o bien, a nivel biliar. Esto acarrea un retorno en dirección a la circulación sanguínea, de las diferentes formas de bilirrubina. De este modo, la proporción de las diferentes fracciones de bilirrubina, junto con las otras pruebas del perfil hepático, y la clínica del paciente, permiten establecer un diagnóstico.

Hiperbilirrubinemia con aumento de la bilirrubina indirecta no conjugada. La bilirrubina indirecta no ha llegado aún al hígado para conjugarse, y luego pasar a la vesícula. El predominio de ésta indica que el aumento de la bilirrubina se está produciendo por causas hemáticas, sin obstrucciones hepatobiliares. Las causas más frecuentes, suelen ser



las anemias hemolíticas, como la del recién nacido y la drepanocitosis.

Hiperbilirrubinemia con aumento de la bilirrubina directa, conjugada. En condiciones normales, la bilirrubina conjugada debería pasar directamente del hígado a la vesícula para constituir la bilis y poder ser excretada. Así pues, una alta concentración en sangre de este tipo de bilirrubina, indica que existe una obstrucción hepatobiliar. Si el aumento de la bilirrubina directa se presenta acompañado con valores elevados de las transaminasas (TGO y TGP), se presume que la obstrucción es a nivel hepático, sugiriendo hepatitis o cirrosis. Si los valores de las transaminasas se encuentran dentro del rango de la normalidad, se presume que la obstrucción es a nivel vesicular, sugiriendo que se está en presencia de una colestasia.

Para diagnosticar hepatitis viral, es necesario realizar las tipificaciones de los virus de hepatitis más comunes y de relevancia clínica: A, B y C. Por su parte, la hepatitis tóxica, suele ir acompañada de elevaciones de la Gammaglutamiltransferasa (GGT), muy sensible a las exposiciones con químicos.

Transaminasas



Fotografía 14. La Docente Nancy Sorroza Rojas, explica la lectura que arroja el equipo, luego de 1 minuto lee la absorbancia inicial de las transaminasas y después de 3 minutos realiza otra lectura. Determina la diferencia promedio de $\Delta A/\text{min}$ de los valores y obtiene el resultado del analito.

Tomada por Jean Pool Jinez Sorroza. Cortesía Laboratorio de Bioquímica, Facultad de Ciencias Médicas UEES

Las transaminasas son enzimas tipo transferasas, o sea que transfieren grupos amino desde un compuesto orgánico a otro, por lo general entre aminoácidos. Los nombres de cada transaminasa vienen dados por el aminoácido desde el cual se transfiere el grupo amino. Las transaminasas de interés bioquímico son la TGO, la TGP y la GGT.

TGP o transaminasa glutámico-pirúvica, también llamada alanina aminotransferasa (ALT), se encuentra principalmente en el citoplasma del hepatocito.

TGO o transaminasa glutámico oxalacética, también llamada aspartato aminotransferasa (AST), se localiza tanto en el citoplasma como en

la mitocondria. No sólo se encuentra en hígado, sino también en el miocardio, el músculo esquelético, los riñones, el cerebro, el páncreas, el pulmón, los leucocitos y los eritrocitos (31).

La elevación de las transaminasas, con frecuencia, se asocia con rupturas de las membranas de los hepatocitos por muerte celular ya que, esto, libera a estas enzimas a la circulación.

No toda elevación de las transaminasas se debe a daños hepáticos, no obstante, se considera que la TGP es mucho más específica del hígado que la TGO, quien llega a sufrir elevaciones importantes en casos de infarto al miocardio o en atletas, luego de un ejercicio intenso.

La TGO tiene una vida media en sangre menor a la TGP. Lo cual explica por qué, luego de un daño muscular agudo, hay una elevación inicial de la TGO, y al cabo de unos días predomina la TGP (32).

La Gammaglutamiltransferasa. Se localiza principalmente en riñón, vesículas seminales, páncreas, hígado, bazo y cerebro. Su actividad es influenciada por cualquier factor que afecte a las membranas celulares de los órganos que la contienen. En el caso de alteraciones hepáticas es índice de agresión tóxica. El análisis conjunto de GGT, fosfatasa alcalina, transaminasas y bilirrubina, amplía significativamente el panorama del diagnóstico diferencial de las enfermedades hepáticas primarias y secundarias, formando parte del hepatograma.

Objetivos

- 1. Propósito preventivo:** Individuos a riesgo de contraer hepatitis virales o tóxicas.
- 2. Propósito reactivo:** Personas que manifiesten coluria y/o ictericia, dolores abdominales asociados a hepatomegalia.
- 3. Propósito de control:** Pacientes con diagnóstico de hepatitis, cirrosis, y obstrucciones biliares en tratamiento. Pacientes de infarto al miocardio. Pacientes con tratamiento de quimioterapia o radioterapia, para evaluar si hay daño renal (33).

Fundamentos

La aspartato aminotransferasa (AST/GOT) cataliza la transferencia del grupo amino del L-Aspartato + 2-cetoglutarato con la formación de L-glutamato y oxalacetato. Este último (oxalacetato) es reducido a L-malato por la malato deshidrogenasa (MDH) en presencia de nicotinamido adenin dinucleótido reducido (NADH).

La reacción se controla cinéticamente a 340 nm a través de la disminución de la absorbancia resultante de la oxidación del NADH a NAD⁺, proporcional a la actividad AST en la muestra (34).

La TGO cataliza la siguiente reacción:

ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA

L-Aspartato + 2-cetoglutarato $\xrightarrow{\text{AST/GOT}}$ L-glutamato + oxalacetato.

Oxalacetato + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{MDH}}$ L- Malato + NAD⁺

En laboratorio se han desarrollado dos métodos para la cuantificación de la actividad de las transaminasas, con la misma calidad de exactitud y precisión. Existe un método enzimático/colorimétrico cuya duración de reacción es de poco más de una hora. Y también hay una prueba enzimática/cinética cuya duración oscila entre 3-4 min. Por la diferencia de los tiempos de reacción, se ha generalizado el uso de la prueba cinética por encima de la colorimétrica.

La alanina aminotransferasa (ALT o GPT) cataliza la transferencia del grupo amino de la L-alanina + 2-oxoglutarato, formando piruvato y glutamato. El piruvato formado es reducido a lactato en presencia de lactato deshidrogenasa (LDH) y NADH, generándose un compuesto coloreado que se mide por espectrofotometría a 340 nm.

La ALT/TGP cataliza la siguiente reacción:

ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



La actividad de la TGP se determina midiendo el valor total de la oxidación de la NADH leyendo la absorbancia de la reacción a los 60, 120 y 180 segundos (35).

Condiciones

- Solo suero, recolectado de la manera usual.
- No requiere anticoagulantes ni aditivos.
- Evitar sueros hemolizados.
- Las transaminasas son viables en suero por un máximo de 5 días entre 2-4 °C.

Valores de referencia

- TGO: 0-35 UI
- TGP: 1-30 UI

Diagnóstico

- **Elevaciones leves:** hasta tres veces el valor máximo normal, sugiere hepatitis crónica.
- **Elevaciones moderadas:** desde 3 a 10 veces el valor máximo normal, sugiere hepatitis alcohólica o hepatitis viral crónica. La hepatitis alcohólica frecuentemente se asocia a elevaciones proporcionalmente mayores de SGOT que SGPT (relación SGOT/SGPT > 1).
- **Elevaciones Graves:** Por encima de 10 veces el valor máximo normal, sugiere hepatitis viral aguda (hepatitis A o hepatitis B).
- **Elevaciones muy graves,** por encima de 2000 UI/L, se ven casi



exclusivamente en isquemia hepática, intoxicación por medicamentos, y hepatitis viral aguda.

Fosfatasa alcalina

También llamada ALP (por sus siglas en inglés), es una enzima hidrolasa responsable de eliminar grupos fosfatos de diversos tipos de compuestos como los nucleótidos, las proteínas, entre otras. Las fosfatasas alcalinas cumplen su función con mayor efectividad en un medio alcalino. Esta enzima se encuentra en casi todos los tejidos del cuerpo, presentando sus mayores concentraciones en el hígado, los huesos, el riñón y el intestino (36).

En condiciones fisiológicas normales es común encontrar aumentos en niños, mujeres embarazadas y ancianos. En los niños, por tener los procesos osteoblásticos activos, por el contrario, en el embarazo y en los ancianos se debe al aumento de los procesos osteoclasticos. En las edades entre 12 y 40 años (37).

Algunas enfermedades que producen aumento de la fosfatasa alcalina son las obstrucciones hepáticas, las hepatitis, la hepatotoxicidad por medicamentos, la enfermedad ósea de Paget, las mononucleosis, la osteomalacia; así como el cretinismo y el déficit de ácido ascórbico.

Objetivos

- 1. Propósito preventivo:** Individuos a riesgo de contraer hepatitis virales o tóxicas, mujeres embarazadas, personas mayores de 45 años, niños con problemas del crecimiento.
- 2. Propósito reactivo:** Personas que manifiesten coluria y/o ictericia, dolores abdominales asociados a hepatomegalia, personas con descalcificación ósea, malabsorción del calcio.
- 3. Propósito de control:** Pacientes con diagnóstico de hepatitis, cirrosis, y obstrucciones biliares en tratamiento. Pacientes con osteoporosis.

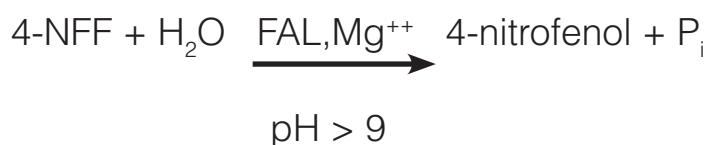


Método 1: Enzimático/cinético

Fundamentos

Las fosfatasa alcalinas (FAL) catalizan la hidrólisis del 4-nitrofenil-fosfato (4-NFF) formando 4-nitrofenol y fosfato inorgánico, actuando el tampón alcalino como aceptor del grupo fosfato. La reacción se controla cinéticamente a 405 nm a partir de la velocidad de formación del 4-nitrofenol, proporcional a la actividad FAL presente en la muestra.

ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



Se miden dos absorbancias, una al instante de introducir la muestra en el lector y otra a los 2 minutos. El promedio de la lectura ofrece la actividad de la enzima (38).

Condiciones

- Pacientes con al menos ocho horas de ayuno.
- Muestra: Suero o plasma obtenidos por métodos estándar.
- Anticoagulantes: Heparina. Los anticoagulantes con fluoruros, el oxalato y el EDTA son inhibidores de la enzima porque forman complejos con el magnesio.
- Evitar muestras con hemólisis, ictericia y lipemia intensa.
- Viabilidad de suero o plasma estable por 7 días en refrigerador.
- Almacenamiento a temperatura ambiente produce resultados falsamente elevados.

Valores de referencia

- Adultos: 27-100 U/L
- Niños: 75-390 UL



Diagnóstico

Vista sola, la fosfatasa alcalina, puede ser un buen indicador precoz de osteoporosis y otros problemas con la descalcificación ósea.

Para el diagnóstico de enfermedades hepáticas, la fosfatasa alcalina debe ser evaluada en conjunto a las otras pruebas del perfil hepático. Se puede encontrar que las fosfatasas alcalinas se elevan en presencia de obstrucciones biliares, para lo cual es recomendable medir también la gamma-glutamil transferasa (GGT).

En la Colestasia extrahepática, obstrucción de la vía biliar en cualquier nivel, muestra alta concentración de las fosfatasas alcalinas. Algunos de los factores causales de este tipo de obstrucción son los cálculos biliares, el carcinoma pancreático, el colangiocarcinoma, la colangitis esclerosante y otros tumores.

La Colestasia intrahepática son aquellas condiciones que producen daño de la vía biliar intrahepática. Las principales son la cirrosis biliar primaria, y las obstrucciones segmentarias de la vía biliar y algunos fármacos.

Finalmente, las Enfermedades infiltrativas que pueden presentarse con muy altas concentraciones o actividad muy marcada de la fosfatasa alcalina: Entre éstas tenemos: los Linfomas, los procesos metastásicos, la TBC, entre otras (39).

Proteínas sanguíneas

Las proteínas son compuestos orgánicos macromoleculares, fundamentales para la vida y presentes en todo el organismo. Cumplen funciones estructurales (en membranas, estructuras de hormonas, enzimas y anticuerpos), de transporte; y una gama inmensa de funciones.

La proteína más abundante en plasma es la albúmina cuya función principal es la de transportar diferentes tipos de moléculas y compues-



tos a lo largo del organismo. También contribuye con la manutención de la presión coloidsmótica en la sangre.

Se producen disminuciones de las proteínas en sangre, en condiciones como pérdidas renales, desnutrición, infecciones, entre otras. Las hiperproteinemias, se producen en casos como mieloma múltiple, endocarditis bacteriana y hemoconcentraciones, entre otras; sin embargo los aumentos anormales de albúmina son ocasionales y se relacionan casi siempre con deshidratación.

La albúmina es la proteína más abundante de la sangre y se produce únicamente en el hígado, por esto es un excelente marcador de la función hepática, además de que la capacidad del hígado de formar las proteínas, se ve afectada por diversas patologías.

Las proteínas más abundantes en sangre, después de la albumina, son las globulinas, encargadas de constituir la estructura de las inmunoglobulinas, proteínas que forman parte de la respuesta humoral del sistema inmune.

Cuando se mide las proteínas en sangre, se cuantifican por técnicas bioquímicas las proteínas totales y la albumina; la diferencia entre estos parámetros ofrece la concentración de globulinas. Es usual calcular la razón Albúmina: Globulina, que ofrece datos en relación al predominio de una u otra, cuya expresión puede ser orientadora para el diagnóstico o para el control del tratamiento (40).

Objetivos

1. **Propósito preventivo:** Individuos con riesgo de contraer hepatitis virales o tóxicas, mujeres embarazadas, personas mayores de 45 años.
2. **Propósito reactivo:** Personas que manifiesten coluria y/o ictericia, dolores abdominales asociados a hepatomegalia, presencia de proteínas en un examen de orina simple, síndrome nefrótico,



insuficiencia renal, entre otros.

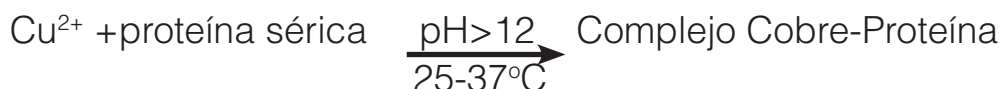
- 3. Propósito de control:** Pacientes con diagnóstico de hepatitis, cirrosis, y obstrucciones biliares en tratamiento, pacientes renales, con mieloma múltiple, cáncer, entre otros.

Método para Proteínas Totales:

Fundamentos

En la reacción del biuret se forma un quelato entre el ión Cu^{2+} . Los enlaces peptídicos reaccionan con iones de cobre del reactivo de Biuret, en medio alcalino, para generar un compuesto color violeta, cuya intensidad es directamente proporcional a la concentración de proteínas totales presente.

ESQUEMA DE LA REACCION QUIMICA



Método para Albúmina:

El método está basado en la unión específica del verde de bromocresol (VBC), un colorante aniónico, y la proteína a un pH ácido con el consiguiente desplazamiento del espectro de absorción del complejo. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de albúmina en la muestra (41).



Condiciones

- Sólo suero, recolectado de la manera estándar, sin anticoagulante.
- La hemolisis, la ictericia y la lipemia, leves, no afectan los ensayos.
- El suero se conserva por 3 días a $2-10^{\circ}\text{C}$) o una semana en congelador.



Valores de referencia

- Proteínas totales: 6,1 a 7,9 g/dL
- Albúmina: 3,5 a 4,8 g/dL
- Relación A/G: 1,2 a 2,2

Diagnóstico

La hipoalbuminemia puede indicar un daño hepático crónico como cirrosis hepática de larga data, y también problemas renales como síndrome nefrótico o insuficiencia renal crónica. Otras enfermedades crónicas producen disminuciones de la albumina en sangre por ejemplo, neoplasias, insuficiencia cardíaca, enfermedades intestinales (malabsorción), entre otras.

La hiperalbuminemia, aunque no se han descrito enfermedades que se asocien a altas concentraciones de albúmina, se le ha encontrado asociadas a condiciones extraordinarias de buena nutrición en jóvenes. No obstante, elevaciones moderadas se han encontrado en hiperplasias del hígado que luego disminuyen si se instala un proceso cancerígeno franco.

Las globulinas aumentan con los procesos inflamatorios agudos. Relaciones A/G con cifras bajas son indicativas de hipoalbuminemia, y un aumento dramático de las globulinas a expensas de la albúmina, podría indicar procesos autoinmunes importantes como el lupus (42).