

## Valores de referencia de enzimas séricas en una población pediátrica\*

Uno de los papeles más importantes del bioquímico dentro del equipo de salud es colaborar en la interpretación de los resultados de laboratorio mediante la provisión de intervalos de referencia adecuados. La mayor parte de los metabolitos séricos y urinarios medidos en el laboratorio clínico varían, en gran medida, según la edad, el sexo, las diferencias genéticas de los individuos, los factores ambientales y los métodos empleados para su determinación. Es por ello que para correlacionar adecuadamente el cuadro clínico de cada paciente con los resultados de los diversos parámetros bioquímicos analizados, es necesario interpretar estos últimos en función del rango de referencia propio de cada población. Esto resulta especialmente crítico en poblaciones pediátricas, dadas las variaciones fisiológicas de los metabolitos en las distintas etapas del crecimiento.

*Yamina Pirosanto, Paula Scaglia, Vanesa Galera, Sandra Ayuso, Nélica Fernández, Eugenia Osinde - Laboratorio Central Hospital de Niños «Ricardo Gutiérrez» - Buenos Aires, Argentina*

\*Extraído de Revista del Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez - Vol. 44, N° 196, Marzo 2002

**S**e sabe que los valores de referencia proporcionados por los equipos comerciales utilizados para medir la actividad de las enzimas séricas han sido establecidos en poblaciones de adultos voluntarios, y existen escasas publicaciones sobre estos valores en niños. Esto se debe fundamentalmente a las dificultades que plantea obtener muestras de sangre en niños sanos. Asimismo, es importante destacar que las determinaciones de actividades enzimáticas dependen particularmente de la temperatura y la metodología empleadas, lo cual dificulta aún más la comparación de los resultados que surgen de la práctica diaria con los intervalos de referencia provistos por otros autores.

De lo expuesto anteriormente, resulta evidente la utilidad e importancia de establecer rangos de referencia propios para cada analito medido en el laboratorio bioquímico clínico.

### Objetivo

El objetivo de este trabajo fue establecer intervalos de referencia para las enzimas séricas solicitadas con mayor frecuencia en la población pediátrica que concurre a nuestro hospital. Se analizaron las siguientes enzimas: alaninoaminotransferasa, EC 2.6.1.2 (GPT); aspartato-aminotransferasa, EC 2.6.1.1 (GOT); fosfatasa alcalina, EC 3.1.3.1 (FAL); gammaglutamil transpeptidasa,

EC 2.3.2.2 (GGT); 5'Nucleotidasa, EC 3.1.3.5 (5N); pseudocolinesterasa, EC 3.1.1.8 (CHE); creatinfosfoquinasa, EC 2.7.3.2 (CK); aldolasa, EC 4.1.2.13 (ALD), lactato deshidrogenasa, EC 1.1.1.27 (LDH) y amilasa EC 3.2.1.1 (AMI).

### Material y métodos

Se estudiaron 307 niños (rango de edad, de 30 días a 19 años), de los cuales 195 eran varones, que concurren en ayunas al Laboratorio Central del Hospital de Niños «Ricardo Gutiérrez» para exámenes prequirúrgicos de diversas cirugías menores: plásticas, oculares, hernias, extracción de lunares o verrugas, frenillo, extirpación de amígdalas, hidrocele, varicocele, dedos supernumerarios, etc. Para este estudio se utilizó el suero remanente luego de realizar los análisis solicitados por orden médica, previo consentimiento oral de los padres o adultos responsables a cargo de los niños.

Los antecedentes personales y familiares fueron evaluados de acuerdo con un cuestionario confeccionado previamente, que se utilizó con el fin de excluir aquellos pacientes que padecieran enfermedades sistémicas y desórdenes fisiopatológicos, como enfermedad renal, hepática o cardíaca, fiebre reciente, etc., así como aquellos niños que recibieran alguna medicación y no pudieran, por lo tanto, asumirse como sanos.

Se midió GPT y GOT según la metodología normatizada por la Federación Internacional de Química Clínica (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC), FAL utilizando p-nitrofenilfosfato como sustrato según las recomendaciones de la Sociedad Alemana de Química Clínica (Deutsche Gesellschaft für Klinische, DGKC), GGT

por método de Szasz (sustrato L-gamma-glutamil-3-carboxi-4nitroanilida), 5N con sustrato 5-inosina-monofosfato y CHE con sustrato butiriltiocolina. Para la determinación de CK y de LDH, se utilizaron los métodos recomendados por la DGKC y AMI se midió por un método cinético con sustrato de bencilideno bloqueado con p-nitrofenil-maltoheptaósido (Pnpg7). Se trabajó con equipos comerciales en un autoanalizador CCX Spectrum Abbott a 37°C. ALD se midió en forma manual con un método cinético a 37°C utilizando fructosa-1,6-difosfato como sustrato.

La precisión de los métodos es evaluada diariamente en nuestro laboratorio mediante un control de calidad interno y el cálculo del correspondiente coeficiente de variación entre ensayo (Cv), mientras que la exactitud se evalúa a través de la participación en un programa de control de calidad externo internacional con mediciones quincenales.

El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa Statistical Graphics System. Se evaluó la distribución de cada variable a través del histograma y el test de Kolmogorov-Smirnov y se aplicó el criterio de Chauvenet para eliminar los valores aberrantes o extremos. A fin de normalizar la distribución en los casos necesarios, se calcularon los logaritmos de los resultados y, una vez divididos en grupos por edad, se aplicó un test t de Student para muestras independientes con el fin de separar los grupos de edades, cuyas medias fueran significativamente diferentes entre sí ( $p < 0,05$ ).

## Resultados

Los Cv obtenidos para GPT, GOT, FAL, GGT, 5N, CHE, CK, ALD, LDH y AMI fueron 7%, 6%, 4%, 2%, 6%, 2%, 3%, 8%, 4% y 5% respectivamente; todos estaban dentro de los límites aceptables para determinaciones enzimáticas ( $< 10\%$ ).

Se observó que GPT, GOT, FAL, GGT, LDH, AMI y 5N presentaban distribución lognormal. Para todas las enzimas mencionadas, se hallaron diferencias significativas entre el grupo de niños  $< 1$  año y el grupo de 1 a 19 años, excepto

**Tabla I:** Datos obtenidos en la población evaluada

	n	Edad (años)	Mediana (UI/l)	Mínimo-máximo (UI/l)	Media (log UI/l)	DE (log UI/l)
GPT	36	< 1	20	6-59	3,02	0,60
	176	de 1 a 19	13	4-36	2,55	0,48
GOT	35	< 1	41	13-82	3,68	0,34
	180	de 1 a 19	29	8-57	3,35	0,32
FAL	37	< 1	666	402-1.565	6,49	0,27
	159	de 1 a 10	536	285-962	6,27	0,24
	58	de 11 a 19	571	156-1.381	6,32	0,40
GGT	33	< 1	14	9-93	2,83	0,61
	214	de 1 a 19	11	4-38	2,40	0,36
5N	222	de < 1 a 19	3,0	0,3-8,8	1,06	0,48
LDH	35	< 1	579	419-921	6,39	0,21
	214	de 1 a 19	465	255-985	6,17	0,25
AMI	26	< 1	20	3-61	2,94	0,82
	171	de 1 a 19	47	9-99	3,80	0,39
CK	222	de < 1 a 19	114	27-517		
ALD	48	de < 1 a 19	5,2	2,4-9,4		
CHE	57	de < 1 a 19	8.311	4.822-11.929		

5N que no presentó diferencias significativas entre grupos etarios y FAL que debió subdividirse en tres grupos: niños  $< 1$ , de 1 a 10 años y de 11 a 19 años (Tabla I). En el caso de CK se obtuvo una distribución bimodal, por lo que se analizó la totalidad de los datos como un único grupo cuya mediana fue 114 UI/l con un rango de 27 a 517 UI/l.

Dado el bajo número de muestras en las que se midió la actividad de ALD y CHE, 48 y 57, respectivamente, no fue posible analizar diferencias por edad y, al igual que para CK, se trabajó con todos los datos obtenidos, y se hallaron los siguientes resultados de mediana y rango (UI/l): 5,2 (2,4-9,4) para ALD y 8311 (4822-11929) para CHE (Tabla I).

Una vez definidos los grupos de edades cuyos resultados diferían significativamente, se calcularon los percentilos 2,5 y 97,5 con el fin de establecer el intervalo de referencia para cada enzima (Tabla II).

## Discusión

La validez de cualquier intervalo de referencia depende fundamentalmente de tres variables: una adecuada selección de la población según la cual se calculará dicho intervalo, la recolección de las

muestras bajo condiciones definidas, y el control y evaluación de las variables analíticas que intervienen en el proceso de obtención de los datos. En el presente estudio, hemos trabajado con una población de niños que concurre a un hospital pediátrico de la ciudad de Buenos Aires para ser sometidos a diversas cirugías menores para lo cual deben realizarse análisis prequirúrgicos. Todos los individuos con patologías severas o que recibieran algún tratamiento farmacológico fueron excluidos del estudio a fin de minimizar las interferencias que estas situaciones pudieran causar, a través del aumento o la disminución de una o más actividades enzimáticas en suero. Los intervalos de referencia para cada enzima fueron finalmente definidos sobre la base de las recomendaciones de la IFCC, usando los percentilos 2,5 y 97,5, es decir, un intervalo que contiene el 95% central de los datos de la distribución de referencia. El uso de estos percentilos es el método más comúnmente usado para establecer rangos de referencia, ya que es posible calcularlos independientemente de la distribución que presente la variable en estudio, aplicando tanto métodos paramétricos (variables con distribución gaussiana), como

**Tabla II:** Intervalos de referencia obtenidos a partir de la población estudiada

	Edad (años)	p 2,5 (UI/l)	p 97,5 (UI/l)
GPT	< 1	6	59
	de 1 a 19	5	32
GOT	< 1	13	82
	de 1 a 19	14	48
FAL	< 1	402	1.565
	de 1 a 10	320	872
	de 11 a 19	212	1.068
GGT	< 1	9	93
	de 1 a 19	6	26
5N	de < 1 a 19	1,3	7,2
LDH	< 1	419	920
	de 1 a 19	338	820
AMI	< 1	3	61
	de 1 a 19	18	84
CK	de < 1 a 19	44	240
ALD	de < 1 a 19	2,8	9,0
CHE	de < 1 a 19	5682	11.308

no paramétricos (variables con distribución distinta de la normal). Asimismo, la Teoría de Valores de Referencia recomienda trabajar con un mínimo de cuarenta datos y sugiere que la aproximación de los percentilos a los valores de la población general será tanto más confiable cuanto mayor sea el número de determinaciones analizadas. Es por ello que consideramos necesario aumentar el número de individuos estudiados, especialmente en el grupo de niños < 1 año. Al analizar la distribución de cada variable, pudimos comprobar que, en cada grupo etario, todas las enzimas presentaban distribución lognormal, como la mayoría de las variables biológicas. Sin embargo, la CK constituyó la única excepción, ya que presentó una distribución bimodal, lo que coincide con referencias bibliográficas que indican que existiría un conjunto de individuos normales con valores más elevados de CK, sin que esto implique patología alguna. El análisis de los resultados por grupos etarios arrojó diferencias significativas entre el grupo de niños < 1 año y el de 1 a 19 años para GPT, GOT, GGT, AMI y LDH, mientras que 5N fue la única enzima que no presentó diferencia alguna,

según la edad de los pacientes. Para FAL se obtuvieron tres grupos con resultados significativamente diferentes entre sí: < 1 año, de 1 a 10 y de 11 a 19 años. En este último grupo, se encontraron valores de FAL significativamente mayores que en el grupo de 1 a 10 años, acorde con lo hallado en la bibliografía. Este aumento en la actividad de FAL en la adolescencia se explicaría por un aumento de la isoenzima ósea sintetizada por los osteoblastos que coincide con la aceleración del crecimiento y la consecuente calcificación ósea que ocurre normalmente en esta etapa de la vida. Por otra parte, la distribución bimodal de CK y el bajo número de individuos en los que se midió ALD y CHE, no permitió analizar variaciones de su actividad por edad para estas tres enzimas.

Los distintos equipos de reactivos comerciales de uso habitual para el dosaje de las enzimas séricas proporcionan intervalos de referencia *estimativos* (Tabla III). Sin embargo, dado que dichos valores han sido establecidos en poblaciones adultas, los fabricantes recomiendan establecer rangos de valores de referencia propios para cada población, especialmente en pediatría. De la comparación de estos valores con nuestros resultados (Tabla II), surgen claras evidencias de la diferencia existente entre ambos para todas las enzimas, excepto CHE cuyos resultados son comparables. En el caso particular de FAL, discutido previamente, las variaciones de su actividad según la edad son evidentes. Cabe mencionar, además, que los límites superiores de los rangos de GOT, CK, ALD y LDH propuestos son notablemente mayores en todos los grupos de niños, mientras que, para 5N, los niños tuvieron valores in-

feriores al límite superior del rango recomendado. El grupo de niños < 1 año mostró valores muy superiores al límite del rango sugerido por los equipos comerciales para GOT (82 vs 31-37 UI/l) y GPT (59 vs 31-40 UI/l). La GGT mostró diferente comportamiento en cada grupo, ya que en < 1 año, se hallaron valores mayores que los sugeridos para adultos y, en el grupo de 1 a 19 años, los resultados fueron menores.

### Conclusión

En el presente trabajo, hemos establecido el intervalo de referencia para una serie de enzimas séricas en la población de niños que concurre a nuestro hospital, sobre la base de lo recomendado por el comité de la IFCC, según la Teoría de Valores de Referencia (IFCC 1987). De acuerdo con lo expuesto, resultan evidentes las diferencias existentes entre los valores de referencia comunicados en la bibliografía y los propios, particularmente en el grupo de niños < 1 año. Es por ello que proponemos el uso de estos intervalos de referencia propios de la población pediátrica que concurre a nuestro laboratorio, a fin de lograr una evaluación más adecuada y completa de los resultados de los análisis bioquímicos de acuerdo con la edad y el contexto clínico de cada paciente.

Consideramos que sería de gran utilidad seguir trabajando en la obtención de un

**Tabla III:** Valores de referencia sugeridos por los equipos comerciales

	Valores de referencia Adultos (UI/l)	
	Hombre	Mujer
GPT	< 40	< 31
GOT	< 37	< 31
FAL	de 98 a 279	de 98 a 279
GGT	de 11 a 49	de 11 a 49
5N	< 9,0	< 0,9
CHE	de 5.400 a 13.200	de 5.400 a 13.200
CK	de 24 a 195	de 24 a 170
ALD	< 7,6	< 7,6
LDH	de 230 a 460	de 230 a 460
AMI	de 28 a 100	de 28 a 100

mayor número de datos teniendo en cuenta que cuanto mayor sea el número de observaciones disponibles, mejor será la aproximación de los percentilos a los valores de la población y permitirá, además, evaluar su distribución por sexo.

## Bibliografía

- Bergmeyer HU, Horder M. International Federation of Clinical Chemistry. Scientific Committee. Expert Panel on Enzymes. IFCC method for alanine aminotransferase. - J Clin. Chem. Clin. Biochem. 18(8):521-534;1980.
- International Federation of Clinical Chemistry. Scientific Committee. IFCC method for aspartate aminotransferase. - Clin. Chem. 23:887-899; 1977.
- Rosalki SB, Foo AY. Two new methods of separating and quantifying bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes in plasma. - Clin. Chem. 30:1182-1186; 1984.
- Recommendations of the German Society for Clinical Chemistry. Standardization of methods for the estimation of enzyme activities in biological fluids. Experimental basis for the optimized standard conditions. - J Clin. Chem. Clin. Biochem. 10(6):281-291; 1972.
- Bertrand A, Buret J. A one-step determination of serum 5' nucleotidase using a centrifugal analyzer. - Clin. Chim. Acta 119:275-284; 1982.
- Knedel M, Bottger R. A kinetic method for determination of the activity of pseudocholinesterase (acylcholine acyl-hydrolase 3.1.1.8.). Klin. Wschr. 45(6):325-327; 1967.
- Szasz G. Reaction rate method for gammaglutamil transpeptidase activity in serum. - Clin. Chem. 22(12):2051-2055; 1976.
- Kaufman RA, Tietz NW. Recent advances in measurement of amylase activity: a comparative study. - Clin. Chem. 26(7):846-853; 1980.
- Feissli S, Forster G, Laudahn G, Schmidt E, Schmidt FW. Normal values and aging of the main enzyme series in serum. Klin. Wschr. 44(7):390-396; 1966.
- Recommendations of the German So-

ciety for Clinical Chemistry (DGKC). Standardization of methods for the determination of enzyme activities in biological fluids. J Clin. Chem. Clin. Biochem. 8:658-660; 1970.

- Recommendations of the German Society for Clinical Chemistry (DGKC). Standard method for the determination of creatine kinase activity. J Clin. Chem. Clin. Biochem. 15(4):249-260; 1977.
- Soldin, Rijaris, Hicks. Pediatric Reference Range. 2ª ed.; AAC, EUA, 1997.
- Henry J. Diagnóstico y Tratamiento Clínico. 9ª ed., España: Masson Salvat; 1993.
- Solberg H. Recomendación aprobada (1986) sobre la teoría de los valores de referencia. Parte 1: El concepto de los valores de referencia. Acta Bioq. Clin. Latinoam. XXII(2):297-303; 1988.
- Solberg H. Recomendación aprobada (1986) sobre la teoría de los valores de referencia. Parte 2: Selección de individuos para la producción de valores de referencia. Acta Bioq. Clin. Latinoam. XXII(3): 443-451; 1988.
- Solberg H. Recomendación aprobada (1987) sobre teoría de valores de referencia. Parte 5: Tratamiento estadístico de valores de referencia obtenidos. Determinación de límites de referencia. Acta Bioq. Clin. Latinoam. XXII(3):453-472; 1988.
- Jones R, Payne B. Clinical Investigation and Statistics in Laboratory Medicine. Londres: ACB Venturi Publications, 1977.
- Crolton P. Wheat germ lectin affinity electrophoresis for ALP isoforms in children: age dependent references ranges and changes in liver and bone disease. Clin. Chem. 38(5):663-670; 1992.
- Van Hool VO. Age and sex distribution of ALP isoenzymes by agarose electrophoresis. Clin. Chem. 36:875-378; 1990.
- Crolton PM. Properties of alkaline phosphatase isoenzymes in plasma of preterm and term neonates. Clin. Chem. 33:1778; 1987.



## Agenda de Congresos

### Argentina

- ✓ XVI Jornadas Bioquímicas del NOA  
Hotel Carlos V  
Santiago del Estero, 14 al 16 de Setiembre de 2006  
Organiza / Informes  
Colegio de Bioquímicos de Santiago del Estero  
25 de Mayo 228  
Tel. 0385 421-9513/422-4571

### Brasil

- ✓ 39º Congreso Brasileiro de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial  
19 al 22 de Setiembre de 2006  
Organiza  
Sociedade Brasileira de Patologia Clínica  
Informes  
[www.sbpcc.org.br](http://www.sbpcc.org.br)

### Venezuela

- ✓ III Congreso Científico del Laboratorio Metropolitano  
Hotel Eurobuilding  
Caracas, del 11 al 14 de octubre de 2006  
Organiza / Informes  
[margarita.iturriza@pcm.com.ve](mailto:margarita.iturriza@pcm.com.ve)  
[congresolaboratorio@pcm.com.ve](mailto:congresolaboratorio@pcm.com.ve)

### Colombia

- ✓ VII Congreso Internacional del Colegio Nacional de Bacteriólogos  
Bogotá, del 13 al 16 de octubre de 2006  
Organiza  
Colegio Nacional de Bacteriólogos  
Informes  
[www.colegionacionaldebacteriologos.org.co](http://www.colegionacionaldebacteriologos.org.co)