

DETERMINACION DEL GLUTAMATO-PIRUVATO TRANSAMINASA Y GLUTAMATO-OXALACETATO TRANSAMINASA EN MUESTRAS CONSERVADAS EN PAPEL DE FILTRO

T. Picó Ríos, J. Illnait Ferrer*, A. Luaces Domínguez y C.M. Finlay Villalvilla

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" y *Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de La Habana, Cuba

Recibido: 14 de septiembre de 1985

Recibido: 5 de febrero de 1987

ABSTRACT. A study of conservation of dried human pathologic serum samples on filter paper, for the determination of the enzymatic activity of glutamate pyruvate transaminase (GPT) and glutamate oxalacetate transaminase (GOT) is made. The enzymatic activity of the polyethylene bag wrapped filter paper dried samples is compared at different periods. The enzymatic activity of GOT and GPT is maintained without significant variation within an 8 weeks period from its collection, being helpful this procedure for processing samples from places far away from where the analysis is done.

RESUMEN. Se estudia cómo observar muestras de suero patológico humano, secas en papel de filtro, para la determinación de las enzimas glutamato piruvato transaminasa (GPT) y glutamato oxalacetato transaminasa (GOT). Se compara la actividad enzimática de las muestras conservadas en papel de filtro y empaquetadas en sobres de polietileno a períodos diferentes. La actividad enzimática de la GOT y de la GPT, determinada por este proceso, se mantiene sin variaciones significativas durante 8 semanas después de su obtención, lo que hace posible poder realizar muestras de origen lejano.

INTRODUCCION

El empleo del papel de filtro para la conservación de muestras, tanto en las investigaciones clínicas como epidemiológicas, aumenta progresivamente, lo que se debe a las ventajas que ofrece este método, como son: el fácil almacenamiento y transportación del material biológico.

La conservación de fenilalanina en papel de filtro ha sido comprobada^{1,4}. De igual modo, se ha podido determinar galactosemia en muestras desecadas⁵. También se han realizado estudios serológicos, en los cuales las muestras utilizadas han sido desecadas y conservadas sobre papel de filtro⁶⁻⁹. Algunos investigadores han podido desarrollar un método para la determinación de tirotofina en muestras de sangre conservadas en papel de filtro, siendo un método simple de determinación de esta hormona¹⁰. Con este método se ha podido determinar también concentración de glucosa¹¹ eficazmente durante un período de 7 d.

Thielmann y col.¹² han logrado estandarizar un método para determinar hemoglobina en muestras de sangre conservadas en papel de filtro Whatmann No. 3 MM. También se ha podido determinar por este método, con buenos resultados, en la actividad enzimática de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa¹³

Debido a la importancia que tiene la determinación de enzimas tales como la glutamato oxalacetato transaminasa (GOT) y la glutamato piruvato transaminasa (GPT) en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas,

resulta de gran interés la introducción y aplicación a mayor escala del método del papel de filtro en la esfera del diagnóstico clínico.

El objetivo de este trabajo ha sido comprobar experimentalmente que tanto la actividad enzimática de la GOT como la de la GPT no se altera en el período estudiado, si se conservan las muestras de suero en papel de filtro, bajo las condiciones de trabajo descritas.

Con el empleo de estas técnicas de conservación de muestras, se viabiliza la realización de estudios clínicos y epidemiológicos, como metodología de trabajo en áreas endémicas, donde los equipos de laboratorio son escasos y también en el trabajo médico internacionalista que desarrollan los especialistas cubanos.

MATERIALES Y METODOS

Preparación de la muestra

Se tomó un conjunto de sueros patológicos liofilizados comercial (PRECIPATH-U), BOEHRINGER) y se hidrató según el fabricante, se aplicaron 200 μ L con una pipeta Eppendorf, sobre una de las superficies del papel de filtro Whatmann No. 3 MM, y se dejó a temperatura ambiente, lejos de fuentes de calor.

Conservación de las muestras

Tanto las muestras preparadas para determinar actividad enzimática de la GPT, como para la determinación de la GOT, se empaquetaron individualmente, después de secas, en sobres de polietileno y se almacenaron a temperaturas entre (6 y 10 °C). Estas condiciones han

sido determinadas por estudios previos realizados en el laboratorio, no publicados aún.

El primer día del experimento se realizó la determinación de GPT y GOT a las muestras líquidas y 8 semanas después, a las secas en papel de filtro.

Determinación de GPT

La actividad enzimática de la GPT en las muestras líquidas, se determinó según el método descrito¹⁴ (método colorimétrico) y en las conservadas secas, mediante su modificación. Se tomaron 20 μ L de la muestra seca en papel de filtro, se incubaron con 100 μ L de sustrato (L-alanina-200 mmol/L, 2 oxoglutarato-2 mmol/L, pH 7,5) y 500 μ L de agua destilada, durante 30 min a temperatura de 37 °C.

Las determinaciones enzimáticas de GPT a las muestras secas, fueron realizadas a los 2; 3; 7; 15; 30 y 60 d después de preparadas las muestras.

Determinación de GOT

La determinación de la actividad enzimática de la GOT, se realizó por el mismo procedimiento que para la GPT, utilizando como sustrato L-aspartato-220 mmol/L, 2 oxoglutarato-2 mmol/L, pH 7,5 y con la misma periodicidad.

La absorbancia fue determinada a 546 nm en un fotocolorímetro Spekol (RDA).

Análisis estadístico

Los valores de actividad enzimática obtenidos para cada muestra, fueron analizados por el test "t" de Student para muestras pareadas. Se determinó entonces si existía o no diferencia significativa entre la actividad enzimática obtenida en cada período y la determinada en la muestra líquida al inicio del experimento. Se analizaron 5 muestras por cada condición.

RESULTADOS

En la Tabla I aparecen los valores de las actividades enzimáticas GPT y GOT expresados en UI/L de suero, para la muestra realizada por la técnica habitual y la realizada con suero seco en papel de filtro. Ambas determinaciones fueron hechas al inicio del experimento. Se observó que no hay diferencia significativa entre estos 2 grupos de muestras.

TABLA I

Valores de las enzimas glutamato piruvato transaminasa y glutamato oxalacetato transaminasa para el conjunto de sueros patológicos, según la técnica habitual y las muestras conservadas en papel de filtro al inicio del experimento

	GPT (UI/L suero) muestras		GOT	
	líquida	seca	líquida	seca
\bar{X}	24,4	23,5	42,6	41,1
D.S.	2,07	3,08	1,38	3,34
"t" Student*	0,54		0,92	

* No existe diferencia significativa, para p < 0,001

Se realizó el estudio de conservación de la GPT a través del tiempo en muestras de suero secas en papel de filtro, empaquetadas y almacenadas en sobres de polietileno a temperaturas entre 6 y 10 °C. Se pudo comprobar que no existió durante el tiempo estudiado diferencia significativa entre las determinaciones enzimáticas (Tabla I).

Los resultados de las determinaciones de GOT a tiempo cero, para las muestras líquidas y las secas en papel, no difieren significativamente (Tabla I).

Tanto la GPT como la GOT se puede determinar hasta 8 semanas después de su aplicación en el papel, sin que exista diferencia significativa entre las determinaciones realizadas durante este período y las determinaciones que se hacen al mismo suero en el momento de su aplicación al papel.

DISCUSION

Los resultados de este trabajo demuestran que es posible la determinación de la actividad enzimática de la glutamato piruvato transaminasa y de la glutamato oxalacetato transaminasa en muestras secas en papel de filtro sin variaciones significativas con respecto a las determinaciones en muestras frescas.

Las determinaciones de ambas enzimas, en muestras secas conservadas en papel de filtro, empaquetadas en sobres de polietileno entre 6 y 10 °C, pueden realizarse sin observarse diferencias significativas por un periodo de 8 semanas.

CONCLUSIONES

El método de conservación de suero en papel de filtro para cuantificar las actividades enzimáticas de GOT y GPT ha demostrado ser comparable con la determinación de la actividad de estas enzimas en suero fresco.

BIBLIOGRAFIA

1. Guthrie R. and Susi A. *Pediatrics*, 32, 338, 1963.
2. Blau K. *Clin. Chem. Acta.* 129, 197, 1983.
3. Hill J. B. *Biochem.* 2, 261, 1969.
4. Narisawa K. *J. Pediat.*, 103, 4, 1983.
5. Hochella N. J. and Hill J. B. *Clin. Chem.* 15, 949, 1968.
6. Hamblim C. and Hodger R. S. *Veterinary Record.* 111, 460, 1982.
7. Hopkins D. R. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 26, 1, 1977.
8. Nakano J. H. *J. Clin. Microb.* 17, 5, 1983.
9. Soares M. C. and Camargo M. E. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 27, 2, 1978.
10. Moore H. and Millan M. *Ann. Clin. Biochem.* 20, 93, 1983.
11. Sommernes A. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 41, 269, 1981.
12. Thielmann K. *Folia Hematol. Leipzig.* 97, 4, 1972.
13. Pentón E. *Acta Biol. Med. Germ.* 28, 177, 1972.
14. Reitman S. and Frankel S. *Amer. J. Clin. Path.* 28, 56, 1957.