



Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

ISSN: 0325-2957

ISSN: 1851-6114

actabioq@fbpba.org.ar

Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires  
Argentina

Bustos, María Fernanda; Cáceres, Luz Elizabeth; Gosso, María Camila; Yapur, Viviana Mónica  
Detección de macroenzimas después de la precipitación con polietilenglicol:  
búsqueda de la población de referencia en el caso particular de las aminotransferasas  
Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, vol. 58, núm. 3, 2024, Julio-Septiembre, pp. 221-225  
Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires  
Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53578608003>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc

Red de revistas científicas de Acceso Abierto diamante  
Infraestructura abierta no comercial propiedad de la academia

# Detección de macroenzimas después de la precipitación con polietilenglicol: búsqueda de la población de referencia en el caso particular de las aminotransferasas

► María Fernanda Bustos<sup>1</sup>, Luz Elizabeth Cáceres<sup>2</sup>, María Camila Gosso<sup>3</sup>, Viviana Mónica Yapur<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup> Bioquímica. (ORCID: 0009-0000-2135-819X)

<sup>2</sup> Bioquímica. (ORCID: 0009-0006-5093-3126)

<sup>3</sup> Bioquímica. (ORCID: 0009-0001-6529-7082)

<sup>4</sup> Bioquímica. (ORCID: 0009-0005-7258-808X)

Área Gastroenterología y Enzimología Clínica. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Hospital de Clínicas "José de San Martín". Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\* Autora para correspondencia.

## Resumen

Las macroenzimas son complejos de elevado peso molecular que podrían incrementar la actividad enzimática sérica en ausencia de signos y síntomas. Se pueden detectar al ser precipitadas con polietilenglicol. El objetivo del trabajo fue determinar la actividad de las aminotransferasas por el método IFCC, calcular y comparar la media del porcentaje de actividad precipitable ( $\bar{x}$ ), su intervalo de confianza del 95% (IC95%) y el desvío estándar (DE). Se trabajó con individuos con ( $n=42$ ) y sin hipertransaminasemia ( $n=22$ ). Los resultados para uno y otro fueron: porcentaje de actividad precipitable con polietilenglicol (%PPA) ( $\bar{x}$ , DE, IC95%) = (28%; 1,82; 27,45%-28,55% y 44%; 24,52; 32,84%-55,16%) y (15%; 13,03; 11,01%-18,99% y 25%; 9,1; 20,96%-29,04%) para ALT y AST, respectivamente ( $p=0,003$  y  $p=0,001$ ;  $p<0,05$ ). En conclusión, la estimación de la media poblacional podría ser más precisa en individuos con hipertransaminasemia.

**Palabras clave:** Macroenzimas; Macro aspartatoaminotransferasa; Macro alaninoaminotransferasa; Hipertransaminasemia; Aspartato aminotransferasa; Alanino aminotransferasa; Enzimas; Intervalo de referencia; Inmunoprecipitación

*Detection of macroenzymes for aminotransferases after polyethylene glycol precipitation: search for the reference population*

## Abstract

Macroenzymes are high-molecular-mass complexes that might increase the serum enzymatic activity in the absence of symptoms. An easy-to-use method to detect them is the polyethylene glycol precipitation. The aim of this study was to determine aminotransferases activity using the IFCC method, and to calculate the mean percentage of precipitable activity ( $\bar{x}$ ), its 95% confidence interval (CI95%), and the standard deviation (SD). The study included individuals with ( $n=42$ ) and without hypertransaminasemia ( $n=22$ ). The results were: percentage of precipitable activity (%PPA) ( $\bar{x}$ , SD, CI95%) = (28%; 1.82; 27.45%-28.55% and 44%; 24.52; 32.84%-55.16%) and (15%; 13.03; 11.01%-18.99% and 25%; 9.1; 20.96%-29.04%) for ALT and AST, respectively ( $p=0.003$  and  $p=0.001$ ;  $p<0.05$ ). In conclusion, the estimation of the population mean could be more precise in individuals with hypertransaminasemia.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

20.96%-29.04%) for ALT and AST, respectively ( $p=0.003$  and  $p=0.001$ ;  $p<0.05$ ). In conclusion, the estimation of the population mean could be more precise in individuals with hypertransaminasemia.

**Keywords:** Macroenzymes; Macro aspartate aminotransferase; Macro alanine aminotransferase; Hypertransaminasemia; Aspartate aminotransferase; Alanine aminotransferase; Enzymes; Reference interval; Immunoprecipitation

## Detecção de macroenzimas após a precipitação com polietilenoglicol: busca da população de referência no caso particular das aminotransferases

### Resumo

As macroenzimas são complexos de alto peso molecular que poderiam aumentar a atividade enzimática sérica na ausência de sinais e sintomas. Podem ser detectadas ao precipitar com polietilenoglicol. O objetivo do trabalho foi determinar a atividade das aminotransferases pelo método IFCC, calcular e comparar a média da porcentagem de atividade precipitável ( $\bar{x}$ ), seu intervalo de confiança de 95% (IC95%) e o desvio padrão (DP). O trabalho foi realizado com indivíduos com ( $n=42$ ) e sem hipertransaminasemia ( $n=22$ ). Os resultados para os dois foram: porcentagem de atividade precipitável com polietilenoglicol (%PPA) ( $\bar{x}$ , DP, IC95%)=(28%; 1,82; 27,45%- 28,55% e 44%; 24,52; 32,84%-55,16%) e (15%; 13,03; 11,01%-18,99% e 25%; 9,1; 20,96%-29,04%) para ALT e AST, respectivamente ( $p=0,003$  e  $p=0,001$ ;  $p<0,05$ ). Concluindo, a estimativa da média populacional poderia ser mais precisa em indivíduos com hipertransaminasemia.

**Palavras-chave:** Macroenzimas; Macro aspartatoaminotransferase; Macro alanina aminotransferase; Hipertransaminasemia; Aspartato Aminotransferase; Alanina aminotransferase; Enzimas; Intervalos de referência; Imunoprecipitação

## Introducción

Las macroenzimas se han detectado en el suero humano. Estructuralmente se han descrito como complejos de alto peso molecular que se forman por la unión de una enzima a otra molécula. En el caso de que la enzima se encuentre unida a inmunoglobulinas, se denominan macroenzimas de tipo I. También se ha visto que se pueden unir a fármacos, lipoproteínas, fragmentos de membranas y otras globulinas o agruparse por autopolimerización. A estas últimas formas moleculares se las nombra como macroenzimas de tipo II. Se ha estudiado que la mayoría de las enzimas séricas cuya actividad se determina en el laboratorio clínico se pueden hallar formando parte de las macroenzimas de tipo I (1).

En la literatura se han desarrollado dos teorías que podrían explicar el mecanismo de formación de las macroenzimas de tipo I. La primera se basa en el mecanismo “antígeno-dirigido” según el cual las enzimas se tornan inmunogénicas al ser modificadas química o enzimáticamente o al reaccionar con un anticuerpo formado contra un antígeno foráneo de estructura similar. La segunda consiste en la denominada “desregulación de la tolerancia inmune” presente en individuos con diagnóstico de enfermedades autoinmunes en los que se promueve la formación de autoanticuerpos que reconocen enzimas y generan complejos enzima-anticuerpo (2). En la circulación sanguínea, la detección de la

forma macromolecular presenta importancia desde el punto de vista clínico. Esto se debe a que el aumento de la actividad enzimática sérica total asociado a ella podría ocasionar interpretaciones erróneas de los resultados de laboratorio (3) (4) (5) (6).

La enzima se elimina por filtración a través del glomérulo renal. Asimismo, se puede depurar por medio del sistema reticuloendotelial. Ambas vías de excreción van a depender de la enzima en cuestión. Cuando ésta forma parte del complejo, estos mecanismos se ven alterados y se observa un incremento sérico de la actividad enzimática. Sin embargo, se ha detectado su presencia aún con valores de actividad enzimática dentro del rango de referencia. No obstante, la búsqueda y el estudio de las macroenzimas se realiza principalmente en el suero de individuos que presentan valores de actividad enzimática aumentada en forma persistente y en ausencia de sintomatología o de otra causa que la explique (7) (8).

Si bien se ha teorizado sobre la función fisiopatológica de las macroenzimas, no se las ha considerado como marcadoras de enfermedad. Lo antedicho se debe a que su identificación se produce en individuos aparentemente sanos en su mayoría. Particularmente, la aspartato aminotransferasa [EC 2.6.1.1; AST] y la alanina aminotransferasa [EC 2.6.1.2; ALT] se unen a las inmunoglobulinas de los isotipos IgG o IgA.

Las macroenzimas se pueden detectar por medio de diferentes técnicas analíticas, entre las que se incluyen

la cromatografía, la ultracentrifugación, la inmunoinhibición, la inmunoprecipitación y la inmunoelectroforesis. Éstas no suelen estar disponibles en todos los laboratorios de análisis clínicos de rutina. Por el contrario, la precipitación con polietilenglicol (PEG) se considera como una técnica alternativa a las anteriormente nombradas. En la bibliografía se observa que el valor de referencia difiere según el autor. Esta divergencia radica en el criterio de selección respecto de la población de referencia. En algunos trabajos se utilizaron individuos con hiperenzimemia y en otro no (9) (10) (11) (12).

Con el propósito de subsanar esta discrepancia, el objetivo del presente trabajo fue definir la población más apropiada para el establecimiento de los valores de referencia que permita la detección de las formas macromoleculares de AST y ALT.

## Materiales y Métodos

Se realizó un estudio observacional, prospectivo, transversal y analítico. Se trabajó con sueros de individuos mayores de 18 años sin enfermedad autoinmune conocida, con hiper (n=42) y normotransaminasemia (n=22) provenientes del Departamento de Bioquímica Clínica del Hospital de Clínicas "José de San Martín".

La toma de las muestras de sangre periférica se realizó respetando las normas bioéticas del citado nosocomio y con el consentimiento firmado de los sujetos implicados en este estudio, con garantía de anonimato y confidencialidad. Luego, se recolectaron en tubos con gel separador (BD Vacutainer®), se centrifugaron a 3000 r.p.m. durante 15 min para la obtención de suero libre de hemólisis y se almacenaron a 4 °C hasta el momento de su procesamiento. La determinación de la actividad enzimática de AST y ALT se realizó en el autoanalizador Cobas 6000 c501 (Roche), de acuerdo con el método recomendado por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) (13) (14). Se usaron controles de calidad interno (Bio-Rad Unity Next Peer QC) e internacional externo (RIQAS Randox) para evaluar el desempeño analítico.

Se usó el método de inmunoprecipitación con solución de PEG 6000 al 24% P/V para la detección del inmunocomplejo.

Los resultados se expresaron como el porcentaje de actividad precipitable con PEG (%PPA), según el siguiente cálculo:

$$\%PPA = \frac{(x_1 - x_2)}{(x_1)} \times 100$$

Donde  $x_1$  es la actividad enzimática en el sobrenadante postratamiento con NaCl al 0,9% y  $x_2$  es la actividad enzimática en el sobrenadante posprecipitación con PEG.

Se obtuvieron la media del %PPA ( $\bar{x}$ ), el desvío estándar (DE) y los intervalos de confianza del 95% (IC 95%) correspondientes.

## Análisis Estadístico

Se ejecutó la prueba de Dixon para la detección de los resultados atípicos.

Se usó la prueba inferencial test *t* de Student (PRUEBA. T en Microsoft Excel) para analizar si existía o no diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los grupos 1 y 2 para cada uno de los analitos, con un nivel de significación menor del 5% de error ( $p < 0,05$ ).

Se calculó el intervalo de confianza del 95% (INTERVALO.CONFIANZA.NORM Microsoft Excel).

## Resultados

Los resultados obtenidos se muestran en las Tablas I y II.

Tabla I. Porcentaje de actividad precipitable de aspartato aminotransferasa en los grupos 1 (con hipertransaminasemia) y 2 (sin hipertransaminasemia)

AST	Grupo 1 Con hipertransaminasemia (n=42)	Grupo 2 Sin hipertransaminasemia (n=22)
$\bar{x}$	15	25
DE	13,03	9,1
IC95%	11,01 - 18,99	20,96 - 29,04

$\bar{x}$  = media del porcentaje de actividad precipitable de aspartato aminotransferasa (AST); DE= desvío estándar e IC95% = intervalo de confianza 95% para la media. La diferencia entre las medias del porcentaje de actividad precipitable con polietilenglicol (%PPA) fue estadísticamente significativa entre los grupos 1 y 2 ( $p=0,001$ ) para AST.

Tabla II. Porcentaje de actividad precipitable de alanino aminotransferasa en los grupos 1 (con hipertransaminasemia) y 2 (sin hipertransaminasemia)

ALT	Grupo 1 Con hipertransaminasemia (n=42)	Grupo 2 Sin hipertransaminasemia (n=22)
$\bar{x}$	28	44
DE	1,82	24,52
IC95%	27,45 - 28,55	32,84 - 55,16

$\bar{x}$ : media del porcentaje de actividad precipitable de alanino aminotransferasa (ALT); DE: desvío estándar e IC95%: intervalo de confianza 95% para la media. La diferencia entre las medias del porcentaje de actividad precipitable con polietilenglicol (%PPA) fue estadísticamente significativa entre los grupos 1 y 2 ( $p=0,003$ ) para ALT.

La amplitud de los IC95% fue menor para el grupo 1 en relación al grupo 2 para ambas enzimas (Tabla I) (Tabla II).

## Discusión y Conclusiones

En situaciones particulares, la detección de las macroenzimas se realiza en el laboratorio de análisis clínicos. Si bien los estudios de prevalencia han sido poco concluyentes, su presencia se debe contemplar antes de tomar conductas médicas en los casos clínicos que lo ameriten, es decir, en los que se observa el aumento persistente de la actividad de las transaminasas en suero (9). El hepatólogo, frecuentemente, recibe consultas derivadas de los médicos de atención primaria en circunstancias en las que se necesita analizar la elevación de ALT o AST sérica cuando no se manifiestan signos ni síntomas de enfermedad.

En la actualidad, la valoración clínica de la macrotransaminasemia se atiende en las instituciones de salud mediante la utilización de los algoritmos descriptos en las guías prácticas internacionales para el examen del paciente adulto con hipertransaminasemia con la finalidad de conocer la etiología (15).

Desde el punto de vista de la bioquímica clínica, se recomienda disponer en el laboratorio de análisis clínicos, de las pruebas que faciliten su detección y que permitan llegar al diagnóstico preciso, con el propósito de evitar la realización de intervenciones costosas, invasivas e innecesarias (8).

El método de inmunoprecipitación con solución de PEG 6000 al 24% P/V para la detección del inmunocomplejo o “precipitación con PEG” como se lo suele denominar trivialmente, constituye la técnica con mayor probabilidad de ser utilizada hoy en día, puesto que esta metodología se caracteriza por ser de sencilla implementación, de bajo costo, rápida, reproducible y accesible. La dificultad que se presenta con respecto a su aplicación se debe a la falta de valores de referencia para nuestra población. Para su cálculo se debe optar por la población de referencia más adecuada. Según los datos bibliográficos, se ha visto que no existe un criterio unificado para su elección. Algunos investigadores han utilizado individuos aparentemente sanos con normotransaminasemia (10) y otros han trabajado con muestras séricas que presentaban una actividad de aminotransferasas por encima del límite superior del valor de referencia (9).

En el presente trabajo se decidió establecer una estimación del IC95% para obtener un intervalo donde se encuentre el verdadero valor del parámetro poblacional en estudio, es decir la media del %PPA, para lo cual se realizó la comparación de las medias del %PPA, previamente calculadas, de individuos con valores de actividad de ALT o de AST dentro del valor de referencia y por fuera del mismo y se comprobó que la diferencia fue estadísticamente significativa para ambas enzimas (Tabla I) (Tabla II). Por ende, el valor del intervalo se va a modificar en el caso de utilizar una u otra población. Es digno de destacar que se excluyeron individuos

con enfermedades autoinmunes ya que se observó una asociación entre la presencia de autoanticuerpos y la formación de macroenzimas de tipo I (2).

Además, el IC95% fue más estrecho a partir de una muestra con valores de AST y ALT elevados. De esta manera, la estimación de la media poblacional de %PPA podría ser más precisa en individuos con hipertransaminasemia.

En conclusión, el establecimiento del valor de referencia a partir de individuos con hipertransaminasemia podría ser más apropiado para identificar pacientes con macro transaminasas.

## Fuentes de financiación

No se contó con fuentes de financiación externas al hospital.

## Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses respecto del presente trabajo.

## Correspondencia

Bioq. VIVIANA MÓNICA YAPUR

Área Gastroenterología y Enzimología Clínica. Departamento de Bioquímica Clínica. Hospital de Clínicas “José de San Martín”. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. (C1120AAR) Av. Córdoba 2351. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Correo electrónico: vmyapur@ffyb.uba.ar

## Referencias bibliográficas

1. Thomas L. Labor and diagnose [Internet]. Frankfurt; 2020, 3ra ed. Disponible en: <https://www.labor-und-diagnose.de/> (fecha de acceso: 1 de noviembre de 2022).
2. Schimming S, Bansal J, Sahebjam F. A case of macro-enzyme aspartate aminotransferase mimicking hepatic injury. *Cureus* 2021; 13 (8): e17311.
3. Kulecka M, Wierzbicka A, Paziewska A, Mikula M, Habor A, Janczyk W, *et al.* A heterozygous mutation in GOT1 is associated with familial macro-aspartate aminotransferase. *J Hepatol* 2017; 67 (5): 1026-30.
4. Rubin AS, Sass DA, Stickle DF. Distribution of serum concentrations reported for macroenzyme aspartate aminotransferase (macro-AST). *Pract Lab Med* 2017; 8: 65-9.
5. Bustamante V, Arab JP, Terc F, Poggi H, Goycoolea M, Arrese M, *et al.* Persistent elevation of aspartate aminotransferase (AST) due to the presence of macro-AST: Report of one case. *Rev Med Chile* 2016; 144 (8): 1078-82.
6. Moriyama T, Tamura S, Nakano K, Otsuka K, Shigemura M, Honm N. Laboratory and clinical features of abnor-

- mal macroenzymes found in human sera. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1854 (6): 658-67.
7. Caropreso M, Fortunato G, Lenta S, Palmieri D, Esposito M, Vitale DF, *et al.* Prevalence and long-term course of macro-aspartate aminotransferase in children. *J Pediatr* 2009; 154 (5): 744-8.
  8. Čepelak I, Čvorišćec D. Why is it necessary to recognize macroenzymes? *Biochem Med* 2007; 17 (1): 52-9.
  9. Davidson F, Watson D. Macroenzyme detection by polyethylene glycol precipitation. *Ann Clin Biochem* 2003; 40 (5): 514-20.
  10. Wyness SP, Hunsaker JJ, La'ulu SL, Roberts WL. Reference intervals for six enzymes after polyethylene glycol precipitation and ultrafiltration. *Clin Chim Acta* 2011; 412 (11-12): 1161-2.
  11. Bürki C, Volleberg M, Blomgren L, Froese S, Hersberger M. Reference ranges for the polyethylene glycol (PEG) precipitation activity (%PPA) of eight routine enzyme activities. *Pract Lab Med* 2022; 33: e00304.
  12. Dedeene L, Stockman M, Steels S, Vermeersch P, Frans G. Detection of macroenzymes: establishing upper reference limits for eight enzymes after polyethylene glycol precipitation. *Biochem Med* 2023; 33 (1): 010705.
  13. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G, Ferrero CA, Franck P, *et al.* IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40 (7): 725-33.
  14. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G, Ferrero CA, Franck P, *et al.* IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40 (7): 718-24.
  15. Bruguera M. Guía práctica para el examen del paciente adulto con hipertransaminasemia asintomática. *Gastroenterol Hepatol* 2017; 40 (2): 99-106.

**Recibido: 16 de enero de 2024**

**Aceptado: 28 de junio de 2024**