

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Faculdade de Farmácia
Disciplina de TCC 1 e TCC 2

**Comparação entre as dosagens de AST (Aspartato Aminotransferase) e ALT
(Alanina Aminotransferase) em presença e na ausência de piridoxal fosfato**

Samanta Bueno Pinto

Porto Alegre, junho de 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de TCC 1 e TCC 2

**Comparação entre as dosagens de AST (Aspartato Aminotransferase) e ALT
(Alanina Aminotransferase) em presença e na ausência de piridoxal fosfato**

Samanta Bueno Pinto

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito para obtenção do título de
Farmacêutico da Universidade Federal
do Rio Grande do Sul

Orientadora: Prof. Dra. Andréia Buffon

Porto Alegre, junho de 2010

Sumário

Apresentação.....	3
Página de identificação.....	4
Resumo.....	5
Abstract.....	6
Introdução.....	7
Materiais e Métodos.....	10
Resultados.....	12
Discussão.....	14
Conclusões e Agradecimentos.....	17
Referências.....	18
Tabelas	21
Legenda das figuras.....	22
Figuras	23
Anexo.....	27

Apresentação

Este trabalho está sendo apresentado na forma de artigo visando publicação na Revista Brasileira de Análises Clínicas, após avaliação da banca examinadora. As normas para publicação na revista encontram-se em anexo.

Comparação entre as dosagens de AST (Aspartato Aminotransferase) e ALT (Alanina Aminotransferase) em presença e na ausência de piridoxal fosfato

Comparison between the levels of AST (Aspartate aminotransferase) and ALT (alanine aminotransferase) in the presence and absence of pyridoxal phosphate

Samanta B. Pinto¹, Gilcéia G. Dorneles², Andréia Buffon^{3,*}

¹Acadêmico da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; ²Laboratório de Análises Clínicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; ³Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

*Autor correspondente: Andréia Buffon

Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Avenida Ipiranga, 2752 – 3º andar, Bairro Santana, Porto Alegre – RS - Brasil

CEP: 90610 -000

Phone: (51) 33085276

Fax: (51) 3308-5437

Email: andreia.buffon@ufrgs.br

Resumo

As aminotransferases catalisam a transferência de um grupo alfa-amino de um aminoácido para um alfa-cetoácido, com a formação de novos alfa-amino e alfa-cetoácido. O piridoxal fosfato é o co-fator biológico utilizado pelas transaminases e sua utilização, durante o doseamento dessas enzimas, é recomendada pelo IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine). O presente trabalho tem por objetivo avaliar e comparar a dosagem das transaminases, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), com ativação pela adição do piridoxal fosfato e sem adição do mesmo, em amostras da rotina do Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia. Foram analisados os resultados de exames de 270 pacientes e os valores foram divididos em dois grupos para cada atividade enzimática: um grupo com valores dentro do intervalo de referência e outro com valores acima desta mesma faixa. Através da análise das atividades enzimáticas, demonstramos que há uma forte correlação entre a metodologia utilizando mono-reagente (sem co-fator) e bi-reagente (com co-fator) e um erro padrão bastante baixo quando comparados os dois sistemas, tanto para AST quanto para ALT. Concluímos, portanto, que entre os valores que obtivemos, o co-fator presente nas amostras é suficiente para a dosagem da atividade enzimática, não sendo fundamental a utilização do sistema bi-reagente na rotina laboratorial.

Palavras-chave: Aspartato aminotransferase, Alanina aminotransferase, Piridoxal fosfato, atividade enzimática.

Abstract

Aminotransferases catalyze the transfer of an alpha-amino group of one aminoacid to an alpha-ketoacid with the formation of new alpha-amino and alpha-ketoacid. The pyridoxal phosphate is the biological cofactor used by transaminases and its use for the determination of these enzymes is recommended by the IFCC (the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine). This study aims to assess and compare the strength of transaminase, aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT), with activation by the addition of pyridoxal phosphate and without the addition of it in samples from the routine of Laboratory of Clinical Analyses of the Pharmacy College. The results of examinations of 270 patients had been analyzed and the values had been divided in two groups for each enzymatic activity: a group with values within the reference range and the other with values over this same range. Through the analysis of enzymatic activities, we demonstrated that there is a strong correlation between the methodology using monoreagent (without cofactor) and bi-reagent (with co-factor) and a rather low standard error when comparing the two systems, both for AST as ALT. We therefore conclude that among the values that we obtained, the co-factor present in the sample is sufficient for the enzyme activity dosage, not being essential the use of the system bi-reagent in the laboratorial routine.

Keywords: Aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, Pyridoxal phosphate, enzymatic activity.

Introdução

As aminotransferases são enzimas essenciais envolvidas no metabolismo central de todos os organismos. O primeiro passo no catabolismo da maioria dos L-aminoácidos que chegam ao fígado é a remoção dos grupos α – amino através das reações de transaminação, onde o grupo α – amino é transferido para o átomo de carbono α do α – cetoglutarato, produzindo o respectivo α – cetoácido análogo do aminoácido. O objetivo das reações de transaminação é coletar os grupos amino de muitos aminoácidos diferentes na forma de apenas um, o L- glutamato, que funciona como doador de grupos amino para as vias biossintéticas ou para as vias de excreção que levam à eliminação dos produtos nitrogenados (9).

A aspartato aminotransferase (AST) e a alanina aminotransferase (ALT) são exemplos de aminotransferases de interesse clínico. A AST, existente tanto na forma mitocondrial quanto citoplasmática, é encontrada principalmente no coração, fígado, músculo esquelético e rim. A ALT, exclusivamente citoplasmática, é encontrada principalmente no fígado e no rim (15).

A ALT também chamada de glutamato-piruvato transaminase (GPT) e a AST também conhecida como glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT) são importantes no diagnóstico de lesões hepáticas e cardíacas provocadas por infarto do miocárdio, drogas tóxicas ou infecções, já que após esses eventos várias enzimas, incluindo as aminotransferases, extravasam das células lesadas e passam para a corrente sanguínea. A determinação da concentração dessas enzimas no soro pode fornecer informações importantes a respeito da severidade e do estágio de uma lesão cardíaca, por exemplo. As determinações de GOT e GPT também podem ser utilizadas para avaliar se indivíduos expostos ao tetracloreto de carbono, clorofórmio ou a outros solventes industriais apresentam lesões hepáticas, visto que

tais solventes podem causar degeneração hepática, liberando várias enzimas na corrente sanguínea (9).

O piridoxal-5'-fosfato, derivado da vitamina B₆, representa um co-fator biológico muito versátil utilizado por uma grande variedade de enzimas (2). Uma deficiência de vitamina B₆ pode ser observada em indivíduos alcoolistas, em uma significativa porcentagem de pacientes hospitalizados e pessoas saudáveis com idade superior a 64 anos, esses indivíduos apresentam, conseqüentemente, deficiência dessa coenzima (17).

O piridoxal fosfato juntamente com seu análogo amino, piridoxamina-5'-fosfato, funcionam como coenzimas nas reações de transferência de grupamento amino. Podem estar presentes no soro tanto as apoenzimas deficientes em coenzimas quanto as holoenzimas (15). Quase todas as enzimas dependentes de piridoxal fosfato estão associadas a patologias bioquímicas que envolvem compostos aminados, principalmente aminoácidos. A diversidade funcional das enzimas dependentes de piridoxal fosfato é ilustrada pelo fato de que mais de 140 diferentes atividades enzimáticas que estão catalogadas na EC (Enzyme Commission) apresentam essa característica, o que corresponde a aproximadamente 4% de todas as atividades classificadas (13).

Atualmente, a metodologia cinética-UV é utilizada para a determinação da atividade de ALT e AST, e o princípio do método baseia-se no fato de que o piruvato ou oxaloacetato formados pela ação das aminotransferases são acoplados a uma segunda reação onde o piruvato (pela ação da lactato desidrogenase) ou oxaloacetato (pela ação da malato desidrogenase) são reduzidos a lactato e malato, respectivamente, enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD⁺. Devido a essa oxidação ocorre uma redução na absorvância em 340 nm que é então monitorada

fotometricamente, sendo diretamente proporcional à atividade de ALT e AST nas amostras (12).

A adição de piridoxal fosfato, sob condições que favoreçam sua recombinação com as enzimas, habitualmente produz um aumento da atividade da aminotransferase. A IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) é a organização responsável por promover o desenvolvimento teórico e prático de normas da química clínica, visando aumentar o nível científico e a qualidade de diagnósticos. Partindo-se do princípio de que todos os fatores que afetam a velocidade da reação devem ser otimizados e controlados, a IFCC recomenda a adição de piridoxal fosfato nos métodos de aminotransferase para garantir que toda a atividade enzimática seja dosada, evitando resultados falsamente diminuídos em amostras com deficiência da coenzima (10).

O presente trabalho tem por objetivo avaliar e comparar a dosagem das transaminases no aparelho de automação LABMAX 240, com ativação pela adição do piridoxal fosfato e sem adição do mesmo, em amostras da rotina do Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia.

Materiais e métodos

O presente estudo foi realizado utilizando-se resultados de 270 pacientes que freqüentaram o laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e que realizaram exames de ALT e AST no período de 5 de janeiro de 2010 a 23 de fevereiro de 2010. Foram utilizados sistemas para determinação de transaminases através da metodologia cinética UV no equipamento Labmax 240 juntamente com os kits AST/GOT Liquiform e ALT/GPT Liquiform (Labtest). O método utilizado apresenta resultado de medição linear entre 3,5 a 400 U/L, sendo que todos os valores utilizados no estudo encontravam-se dentro desta faixa de linearidade.

O método baseia-se no princípio de que a AST catalisa a transferência do grupo amino do ácido aspártico para o cetoglutarato com formação de glutamato e oxalacetato. O oxalacetato é reduzido a malato por ação da malato desidrogenase, enquanto que a coenzima NADH é oxidada à NAD⁺. Do mesmo modo a ALT catalisa a transferência do grupo amino da alanina para o cetoglutarato, com formação de glutamato e piruvato. O piruvato é reduzido a lactato por ação da lactato desidrogenase, enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD⁺. A redução da absorbância em 340 nm, conseqüente à oxidação da coenzima NADH, é monitorada fotometricamente, sendo diretamente proporcional à atividade de AST ou ALT na amostra (8).

Primeiramente foi utilizado o procedimento mono-reagente, sem ativação pelo piridoxal fosfato. Posteriormente foi realizado o procedimento bi-reagente, com ativação pelo piridoxal fosfato, para obtenção de resultados rastreáveis ao método de referência IFCC. Os valores encontrados foram comparados aos valores de

referência fornecidos pelos kits utilizados que para a AST são 39 U/L (homens) e 37 U/L (mulheres) e para a ALT 45 U/L (homens) e 37 U/L (mulheres).

Os resultados obtidos foram colocados em um banco de dados no Excel separados em valores dentro da faixa de referência e valores acima dos valores de referência, com e sem ativação pelo piridoxal fosfato. Posteriormente os resultados foram submetidos a análise no programa *Statistica 6.0*.

Resultados

Foram analisados os resultados de exames de 270 pacientes que realizaram exames de AST e ALT em um período de cinquenta dias, comparando os resultados da atividade das transaminases quando submetidas à ativação pelo co-fator, piridoxal fosfato, e quando esse co-fator é omitido na reação, apenas com o piridoxal presente no soro. Com o objetivo de melhor analisarmos os resultados, dividimos os valores em dois grupos para cada atividade enzimática. Um grupo com valores dentro do intervalo de referência e outro com valores acima desta mesma faixa.

Na Tabela 1 estão representados os dados gerais em estudo, apresentando valores das médias das atividades de AST e ALT com e sem a utilização do co-fator. Os resultados encontrados demonstram uma pequena variação dos valores das médias.

Na Tabela 2 foram comparados os valores médios das dosagens das atividades com e sem a utilização do piridoxal fosfato, tanto para amostras com resultados dentro da faixa de referência quanto para aquelas com valores acima desse intervalo. Observamos que os erros padrões obtidos para AST e ALT quando comparamos o sistema mono-reagente e bi-reagente, foram 0,005% e 0,22% para o grupo de valores dentro do limite de referência, e 1,4% e 4,6% para o grupo acima dos valores de referência. Este percentual indica um erro bastante baixo, quando comparadas as dosagens com e sem o uso do co-fator.

Na Fig.1 são apresentados os resultados de valores normais de AST (comparação com o valor de referência: 39U/L para homens e 37U/L para mulheres). Observa-se uma significativa correlação linear entre os valores obtidos com a utilização do piridoxal fosfato e sem a utilização do co-fator ($r= 0,88$; $p<0,05$). Na Fig.2, estão representados os valores alterados de AST. De forma semelhante às

amostras normais, as amostras alteradas também apresentaram significativa correlação linear ($r = 0,98$; $p < 0,05$).

Quando analisamos os valores de amostras normais de ALT, apresentados na Fig.3 (comparação com o valor de referência: 45 U/L para homens e 37 U/L para mulheres), observamos uma significativa correlação, comparando-se valores obtidos com e sem a utilização do piridoxal fosfato ($r = 0,89$; $p < 0,05$). A Fig.4 mostra os resultados com valores acima dos valores de referência da atividade da ALT, apresentando também uma pequena diferença no valor da atividade da transaminase com e sem a utilização de piridoxal fosfato ($r = 0,96$; $p < 0,05$).

Discussão

Aspartato aminotransferase e Alanina aminotransferase são duas enzimas frequentemente dosadas em exames laboratoriais, sendo amplamente utilizadas como marcadores de lesão hepatocelular aguda e crônica e doenças cardíacas. A relação entre as duas fornece perspectiva clínica sobre várias doenças hepáticas, enquanto que a AST é muito útil para a detecção ou estimativa de gravidade de infarto agudo do miocárdio (14). Elevações das transaminases também ocorrem nas hepatites viral e tóxica, na mononucleose, cirrose, colestase, carcinoma hepático primário ou metastático, pancreatite, traumatismo extenso e no choque prolongado. Além desses fatores, várias drogas comumente usadas encontram-se relacionadas ao aumento da AST dentre elas: soniazida, fenotiazinas, clorotiazida, gentamicina e eritromicina, cloranfenicol, progesterona, esteróides anabolizantes, opiáceos, uso prolongado de aspirina, além de outras (1).

O piridoxal fosfato, forma ativa da vitamina B₆, é o co-fator essencial para muitas enzimas, incluindo as aminotransferases. Enzimas dependentes desse co-fator estão envolvidas em uma série de reações metabólicas de aminoácidos, bem como reações de fosforilação e de quebra de glicogênio, nessas reações, o piridoxal fosfato se liga covalentemente a um resíduo de lisina de enzimas das quais é co-fator (11). A suplementação das reações de transaminação com piridoxal fosfato garante a total utilização das enzimas durante seu doseamento, evitando atividades diminuídas em amostras com deficiência de coenzima. Essa situação pode ocorrer em indivíduos que apresentem deficiência da vitamina B₆, tais como pacientes submetidos à diálise renal, transplantados, com doença hepática ou infarto do miocárdio, além de alcoolistas e indivíduos aparentemente saudáveis com mais de 64 anos (2,17).

Nem todas as enzimas são detectadas de maneira simples, no caso das aminotransferases a reação de doseamento está associada a uma reação auxiliar, ou indicadora. No método da AST introduzida por Karmen, 1955 (8) o oxaloacetato é removido tão rapidamente quanto ele é formado por um excesso de malato desidrogenase, que serve como indicador enzimático já que depende do sistema NAD/NADH. Após esse processo a leitura espectrofotométrica é então realizada em 340 nm. Da mesma forma o método da ALT, também introduzido por Karmen, 1955 (8) depende da redução do piruvato, pela lactato desidrogenase, que serve como indicador e também é dependente do sistema NAD/NADH, permitindo assim que a leitura espectrofotométrica seja realizada (18).

Embora os métodos otimizados recomendados pelo IFCC e outras sociedades de bioquímica clínica incluam a adição de piridoxal fosfato ao meio reacional, muitos laboratórios de análises clínicas determinam as atividades das aminotransferases sem a suplementação com piridoxal fosfato (16), o que pode levar a valores não fidedignos, caso o paciente tenha deficiência de vitamina B₆.

Existem atualmente poucos estudos envolvendo a análise desta metodologia, utilizando ou não o co-fator piridoxal fosfato. Portanto, para estabelecer a melhor forma de dosagem das atividades destas enzimas na rotina do Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia, o presente estudo teve por objetivo analisar a existência de diferença entre valores da atividade das transaminases quando submetidas à ativação pelo seu co-fator, o piridoxal fosfato, e quando o mesmo é omitido na reação, quando dosados pela metodologia cinética UV com a utilização dos kits AST/GOT Liquiform e ALT/GPT Liquiform (Labtest). Para melhor compararmos os resultados, dividimos os valores em dois grupos para cada atividade enzimática. Um grupo com valores dentro do intervalo de referência e outro

com valores acima desta mesma faixa. Observando-se as informações gerais sobre os dois grupos analisados nota-se que a variação na média dos valores para a atividade de AST e ALT é pequena, comparando-se os dados onde foi utilizado o piridoxal fosfato com aqueles sem o co-fator. Podemos observar, através da comparação de 270 resultados dosados, que os valores das atividades de AST e ALT não apresentaram diferença significativa para o mesmo teste que utilizou a ativação pelo piridoxal fosfato e sem a adição do mesmo co-fator. Ou seja, através da análise de correlação linear demonstramos que há uma forte correlação entre a metodologia utilizando monoreagente e bi-reagente e um erro padrão bastante baixo quando comparados os dois sistemas, tanto para ALT quanto para AST.

A adição do piridoxal fosfato por si só não fornece clara melhoria nas medidas de atividade de AST e ALT utilizada em diagnósticos, conforme observado por Vanderlinde, R.E. (17). A mesma informação foi analisada por Lustig, V. *et al* (10) que concluiu que o método de referência do IFCC que recomenda a utilização do piridoxal fosfato, oferece melhor precisão, comparado ao método utilizado pelo “Scandinavian Committee on Enzymes” que não preconiza a utilização do co-fator. Conforme o mesmo autor, entretanto, mudanças globais com a omissão do piridoxal fosfato são mínimas.

Conclusão

Com base nos dados obtidos neste trabalho, observamos que o piridoxal fosfato, apesar de ser um componente importante para a atividade das enzimas e ser recomendado pelo IFCC, não influenciou de forma importante as dosagens de atividade analisadas. Portanto, concluímos que entre os valores que obtivemos, o co-fator presente nas amostras é suficiente para a dosagem da atividade enzimática, não justificando a utilização do sistema bi-reagente na rotina laboratorial.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFRGS, por disponibilizar os resultados para análise.

Referências

1. BURTIS, C.A. & ASHWOOD E.R. – *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 2 ed. Philadelphia, Saunders Company, 1994.
2. DENESYUK, A. I.; DENESSIOUK, K. A.; KORPELA, T.; JOHNSON, M. S. - *Functional Attributes of the Phosphate Group Binding Cup of Pyridoxal Phosphate-dependent Enzymes*. [Journal of Molecular Biology](#), **316(1)**: 155-172, 2002.
3. HUANG, Y.; CHANG, H.; HUANG. S.; CHENG, C.; LEE, B.; CHENG, S. & SU, K. - *Plasma pyridoxal 5-phosphate is a significant indicator of immune responses in the mechanically ventilated critically ill*. *Nutrition*, 21(7-8): 779-785, 2004.
4. *IFCC Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Aspartate Aminotransferase*. *Clin Chem Lab Med*, 40(7): 725-33, 2002.
5. *IFCC Reference Procedure for the Measurement of Catalytic Concentration of Alanine Aminotransferase*. *Clin Chem Lab Med*, 40(7): 718-24, 2002.
6. JOHN, R. A. - *Review Pyridoxal phosphate-dependent enzymes*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1248(1995): 81-96, 1995.
7. JUNG, K.; OHLRICH, B.; MILDNER, D.; ZUBEK, A.; SCHIMMELPFENNIG, W. & EGGER, E. - *The apoenzyme of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in the serum of healthy persons and patients suffering from liver diseases*. *International journal of clinical chemistry*, 90(2): 143-149, 1978.

8. KARMEN, A.; WRÓBLEWSKI, F. & LA DUE, J. – *Transaminase activity in human blood*. Journal of Clinical Investigation, 34 (1): 131, 1955.
9. LEHNINGER, A.L. - *Princípios de bioquímica*, 4 ed. São Paulo, Sarvier, 2006.
10. LUSTIG, V; PAPANASTASLOU-DIAMANDIS, A. & GOLDBERG, D. M. - Evaluation of commercially formulated aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activity determinations by the Scandinavian Committee on Enzymes and IFCC methods as modified for use with automated enzyme analysers. Clinical Biochemistry, 21(5): 283-290, 1988.
11. MABAN, K.L.& ESCOTT-STUMP, S. - *Alimentos, Nutrição e Dietoterapia*. 11 ed. São Paulo, Roca, 2005.
12. MOTTA; V.T. - *Bioquímica Clínica: Princípios e Interpretações*, 5 ed., Medbook, 2009
13. PERCUDANI, R. & PERACCHI - *A genomic overview of pyridoxal phosphate dependent enzymes*. EMBO reports, 4, (9): 850–854, 2003.
14. REJ, R. - *Aminotransferases in disease*. Clinics in Laboratory Medicine, 9(4): 667-87, 1989.
15. TIETZ, *Fundamentos de Química Clínica*, 6 ed., Elsevier, 2008.
16. TUTOR-CRESPO, M. J.; HERMIDA, J. & TUTOR, J. C. - *Activation of serum aminotransferases by pyridoxal-5V-phosphate in epileptic patients treated with anticonvulsant drugs*. Clinical Biochemistry, 37(2004): 714– 717, 2004.

17. VANDERLINDE, R. E. - *Review of pyridoxal phosphate and the transaminases in liver disease*. Annals of Clinical and Laboratory Science, 16(2): 79-93, 1986.
18. WILKINSON, J.H. - *Enzyme kinetics and its relevance to enzyme assay*. Journal of Clinical Pathology, 24(4): 14-21, 1971.

Tabelas

Tabela 1: Dados gerais das amostras dentro do intervalo de referência e acima deste intervalo, apresentando valores das médias das atividades de AST e ALT com ativação pelo piridoxal fosfato (PLP) e sem a utilização do co-fator, para valores dentro do intervalo de referência (normais) e acima do intervalo de referência (alteradas).

Normais	Média (U/L)	Alteradas	Média (U/L)
AST	25,76	AST	58,40
AST-PLP	25,77	AST-PLP	61,25
ALT	22,83	ALT	57,97
ALT-PLP	23,28	ALT-PLP	67,19

Tabela 2: Média dos valores médios das dosagens realizadas com e sem a utilização do piridoxal fosfato. Valores das atividades de AST e ALT dentro e acima do intervalo de referência.

	Média (U/L)	Desvio padrão	Erro (%)
AST	25,76	0,007	0,005
AST*	59,82	2,0	1,4
ALT	23,05	0,31	0,22
ALT*	62,58	6,5	4,6

(*) Valores acima do intervalo de referência

Legenda das Figuras

Figura 1: Valores de AST dentro da faixa de referência. Comparação entre valores de atividade da AST dentro da faixa de referência, com a utilização de piridoxal fosfato e sem a utilização de piridoxal fosfato ($r= 0,88$; $P<0,05$).

Figura 2: Valores de AST acima da faixa de referência. Comparação entre valores de atividade da AST acima da faixa de referência, com a utilização de piridoxal fosfato e sem a utilização de piridoxal fosfato ($r= 0,98$; $P<0,05$).

Figura 3: Valores de ALT dentro da faixa de referência. Comparação entre valores de atividade da ALT dentro da faixa de referência, com a utilização de piridoxal fosfato e sem a utilização de piridoxal fosfato ($r= 0,89$; $P<0,05$).

Figura 4: Valores de ALT acima da faixa de referência. Comparação entre valores de atividade da ALT acima da faixa de referência, com a utilização de piridoxal fosfato e sem a utilização de piridoxal fosfato ($r= 0,96$; $P<0,05$).

Figura 1

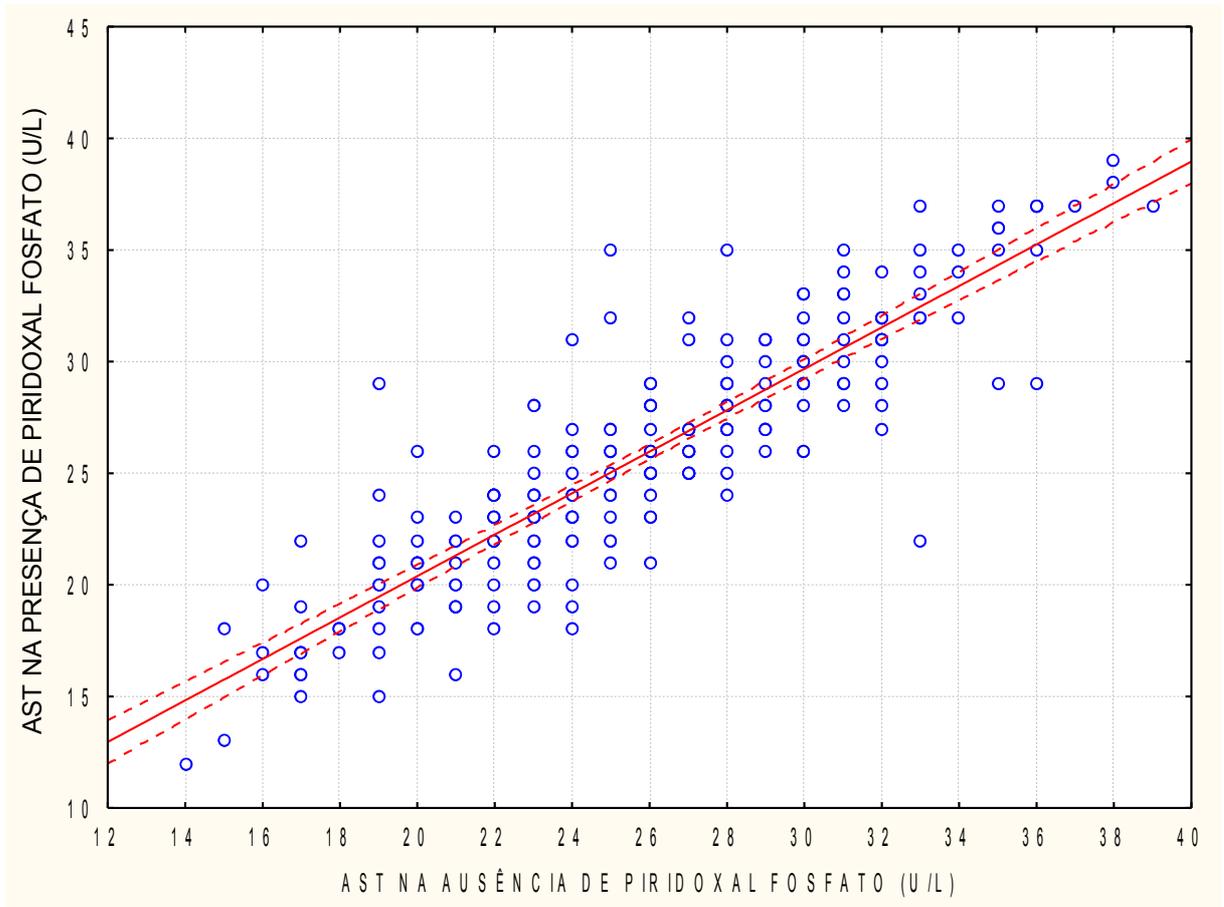


Figura 2

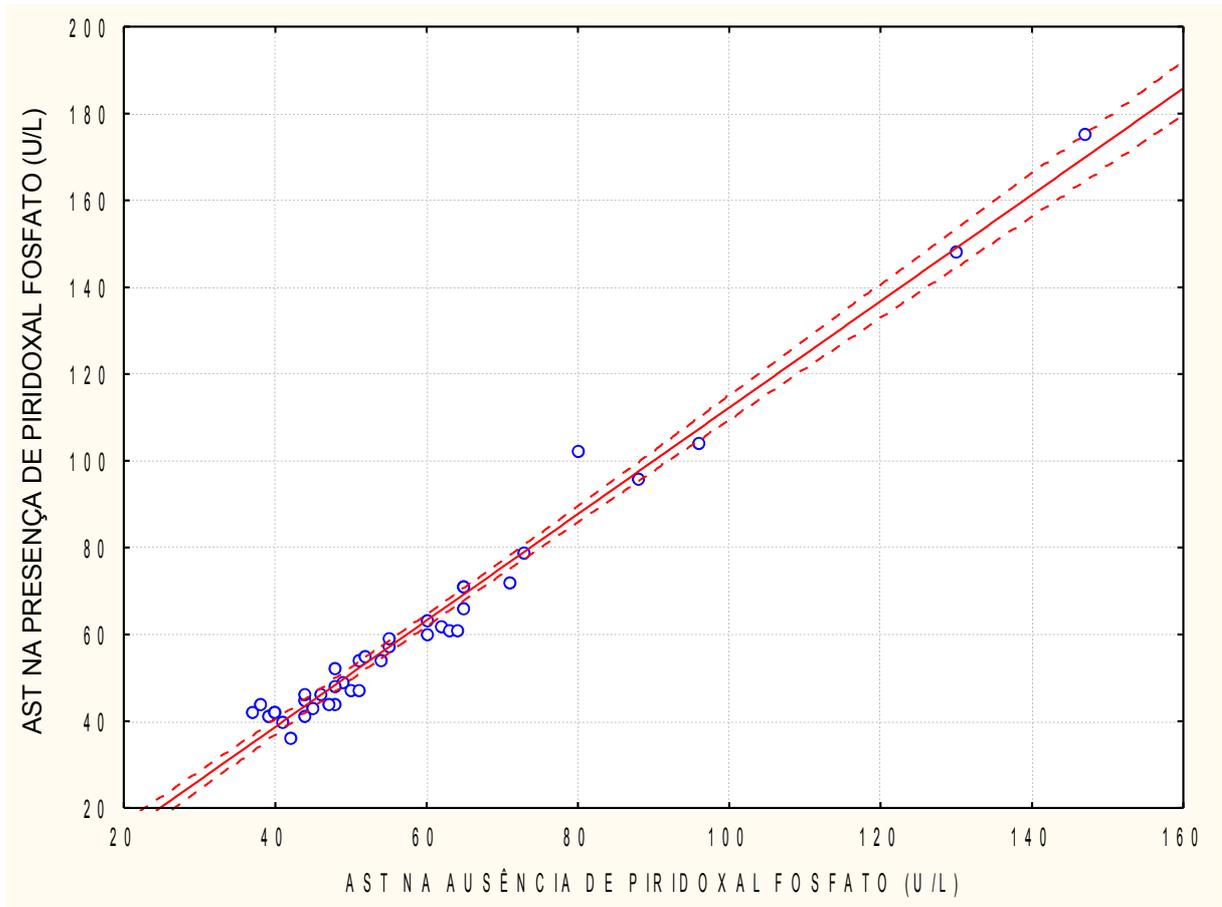


Figura 3

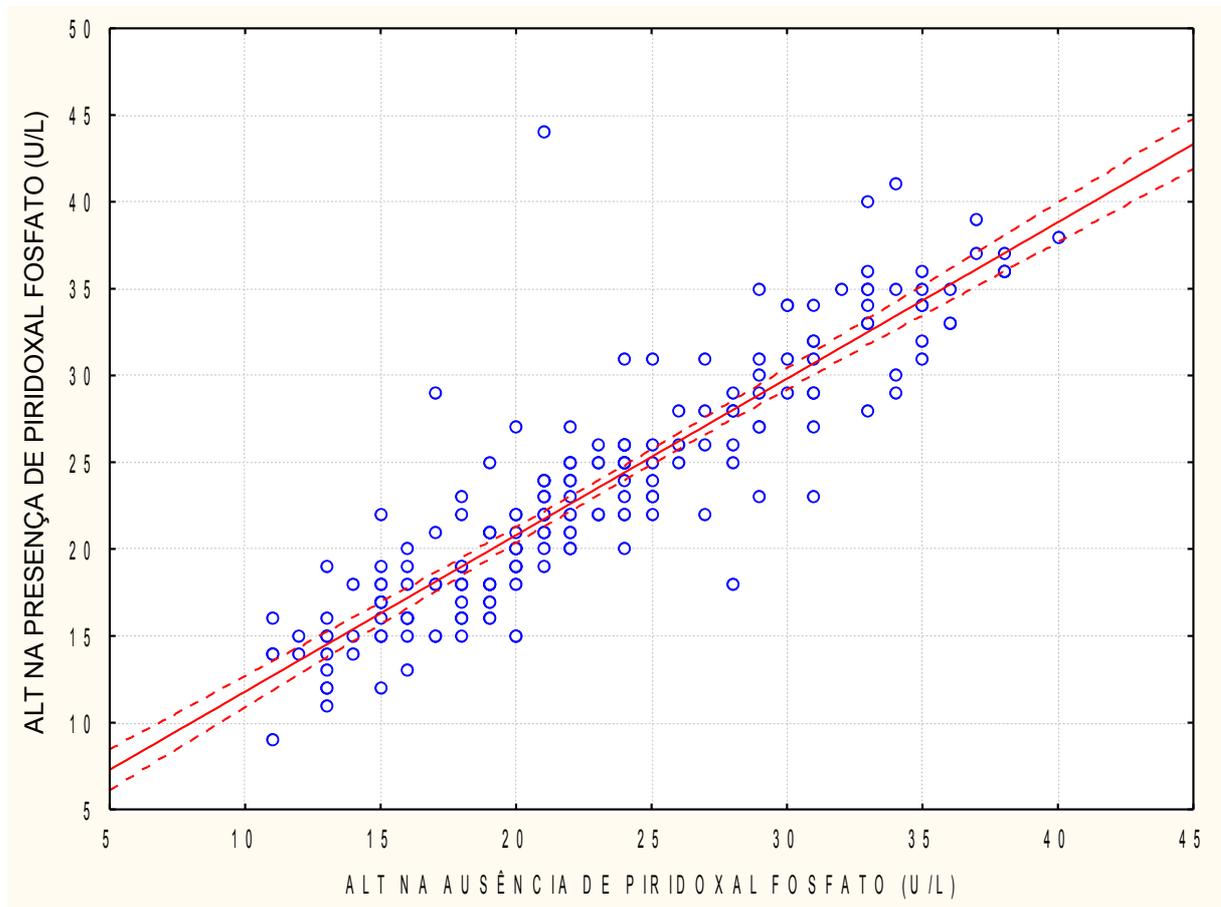
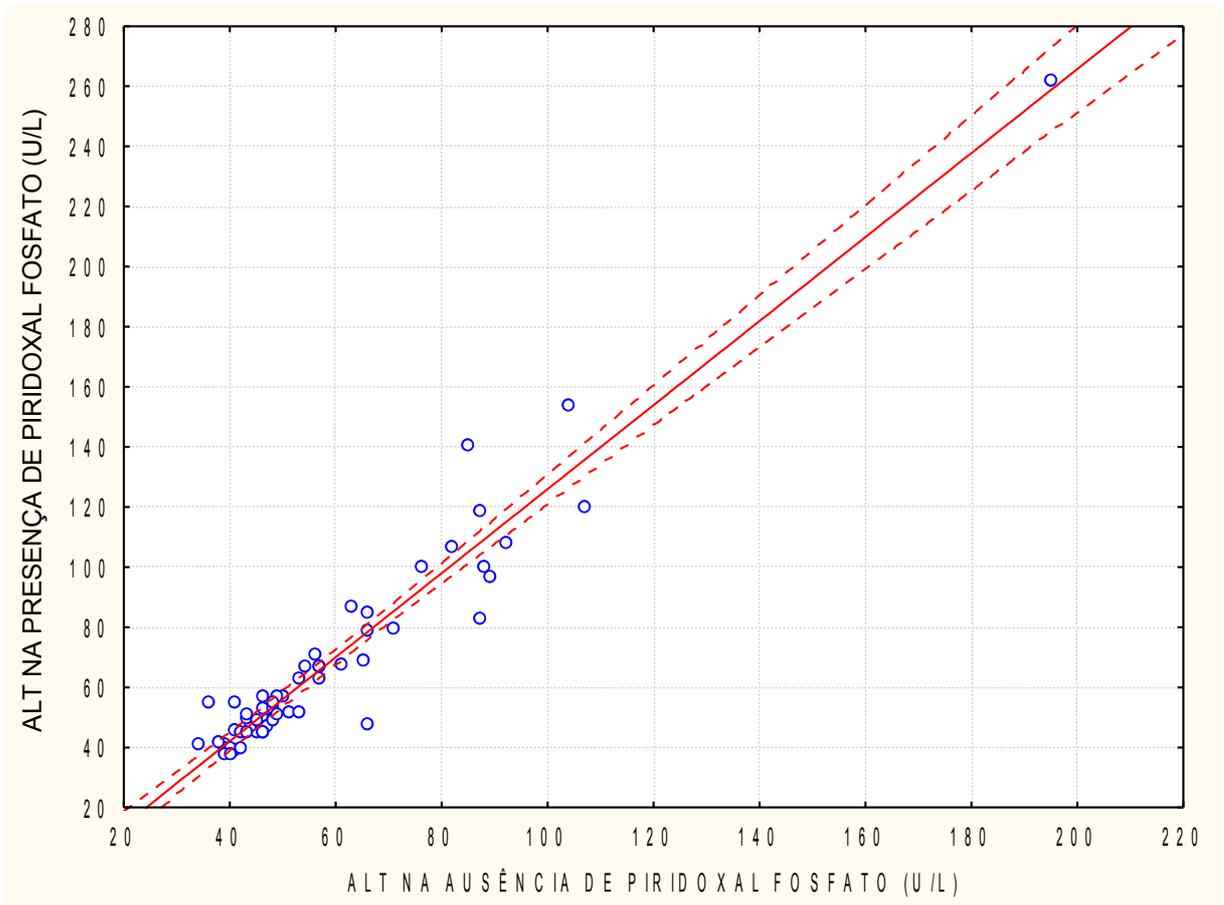


Figura 4



Anexo I

Revista Brasileira de Análises Clínicas

Aos colaboradores

A Revista Brasileira de Análises Clínicas tem por finalidade a divulgação de trabalhos relacionados com as atividades em laboratórios de análises clínicas.

Normas para publicação

Instruções iniciais

A Revista Brasileira de Análises Clínicas (RBAC) é uma publicação trimestral da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC) indexada no ISSN 0370 – 369 X.

LILACS – www.bireme.br

Portão periódicos – www.periodicos.capes.gov.br

Classificação CAPES: Nacional B - Engenharias III e IV, Interdisciplinar, Odontologia, Ciências Biológicas III, Medicina I, II e III, Medicina Veterinária e Saúde Coletiva

www.capes.gov.br

<http://www.qualis.capes.gov.br/webqualis/ConsultaPeriodicos.faces>

Ao submeter o original do trabalho, os autores assumem a responsabilidade do trabalho não ter sido previamente publicado e nem estar sendo analisado por outra revista. Todas as contribuições científicas são avaliadas pelos Editores da Revista. Só serão encaminhados aos consultores científicos os artigos que estejam rigorosamente de acordo com as normas especificadas. A aceitação será feita em função da sua originalidade, importância e contribuição científica para o conhecimento da área.

Os artigos para publicação enquadram-se nas seguintes categorias:

Artigos Originais: A Revista Brasileira de Análises Clínicas aceita todos os tipos de pesquisa original nas diferentes áreas de atividade em análises clínicas, incluindo pesquisas em seres humanos e pesquisa experimental. Todos os artigos são avaliados para publicação no menor prazo possível; porém, se você acredita que seu trabalho merece uma avaliação especial para publicação imediata (“fasttrack”), indique isso na sua carta aos Editores. Se os Editores concordarem com sua solicitação, todos os esforços serão realizados para revisar o trabalho em menos de 30 dias, e publicar no volume próximo da Revista.

O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Summary; Keywords; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados, Discussão, Conclusão; Agradecimento(s); Fontes de Aquisição, quando houver, e Referências Bibliográficas. Antes das referências deverá também ser descrito quando apropriado

que o trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição e que os estudos em animais foram realizados de acordo com normas éticas.

Artigos de Revisão: Os Editores formulam convites para a maioria das revisões. No entanto, trabalhos de alto nível, realizados por autores ou grupos com histórico de publicações na área serão bem-vindos.

Editoriais: Os Editoriais da Revista Brasileira de Análises Clínicas são feitos através de convite. Os editoriais enviados espontaneamente, serão analisados pelos editores sobre a importância do seu conteúdo e pertinência de sua publicação.

Comunicações Breves: Experiências originais, cuja relevância para o conhecimento do tema justifique a apresentação de dados iniciais de pequenas séries, ou dados parciais de pesquisas ou ensaios laboratoriais, serão aceitos para avaliação.

Envio do Trabalho

Os originais do trabalho deverão ser enviados via internet seguindo as instruções disponíveis no item RBAC do portal da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas www.sbac.org.br

Os textos deverão ser editados em “Word”, tamanho de fonte 12, letras Arial ou Times New Roman, espaçamento simples. As figuras, fotos, tabelas e ilustrações devem vir após o texto, ou em arquivos separados. Figuras devem ter extensão JPEG e resolução mínima de 300 Dpi’s. Todos os artigos devem vir acompanhados por uma carta de submissão ao Editor, declaração do autor de que todos os co-autores estão de acordo com o conteúdo expresso no trabalho, explicitando ou não conflitos de interesse e a inexistência de problemas éticos relacionados.

Seções dos artigos para publicação:

Os artigos deverão seguir a seguinte ordem:

Titulo* (Em português e inglês)

Nome do autor ou autores (dados pessoais no rodapé – somente da 1ª página)

Resumo em português – Palavras – chave

Resumo em inglês – summary / keywords

Introdução

Material e métodos

Resultados

Discussão

Conclusões

Agradecimentos

Referências

* Um asterisco após o título é colocado com o objetivo de mencionar o local (Universidade, Departamento, Laboratório, etc.) em que se realizou a pesquisa e, se for o caso as fontes financiadoras.

TÍTULO – Deverá ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho (em português e inglês).

RESUMO – Deverá ser conciso e claro, pondo em relevo de forma precisa os fatos essenciais encontrados e as conclusões obtidas; ser redigido de forma impessoal e conter no máximo 200 palavras.

INTRODUÇÃO – Deverá estabelecer com clareza o objetivo do trabalho e sua relação com outros trabalhos do mesmo setor. Extensas revisões da literatura devem ser evitadas, devendo ser substituídas por referências aos trabalhos ou fontes mais recentes, onde tais revisões tenham sido apresentadas.

MATERIAL E MÉTODOS – Deverão ser descritos de modo breve, porém o suficiente para possibilitar a repetição do trabalho; métodos e técnicas já publicados, a menos que tenham sido modificados substancialmente, deverão ser apenas referidos por citação.

RESULTADOS – Deverão ser apresentados com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal e acompanhados de gráficos, tabelas, etc. simples e ilustrativos.

DISCUSSÃO – Deve ficar restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, evitando-se hipóteses não baseadas nos mesmos.

CONCLUSÕES – Deverão ser concisas, fundamentadas nos resultados e na discussão, contendo deduções lógicas e correspondentes aos objetivos propostos. Em alguns casos, pode ser incluída no item discussão, não havendo necessidade de repeti-la em item a parte.

AGRADECIMENTOS – Devem ser inseridos no final do trabalho, antes das referências bibliográficas.

Informações gerais

O estilo editorial da Revista segue, em linhas gerais, o “Style Manual for Biological Journals” (Conference of Biological Editors, Committee on form and Style. Style manual of Biological Journals, 2. ed. Washington, American Institute of Biological Sciences, 1974). As nomenclaturas, abreviações e unidades bioquímicas e físicoquímica devem seguir as adotadas pelo “Handbook of Biochemistry (Sober, H. A – Handbook of Biochemistry. 2. ed. Cleveland, Chemical Rubber Co., 1997, Sec.A4 – A100); “Handbook of Chemistry Physics” (West, R. C. – Handbook of Chemistry and Physics. 53. ed. Cleveland Chemical Rubber Co., 1972 – 1973), e, essencialmente, o recomendado pela WHO através da: “Resolution WHA 30.30 adopted by thirtieth World Health Assembly, May 1977). Systeme International d’Unites; use of SI units in medicine”, e da publicação: “The SI for Health Professions. WHO, 1977”. As atividades enzimáticas devem ser expressas em unidades internacionais e seguir o adotado em “Enzyme Nomenclature” (Enzyme Nomenclature, Elsevier Publishing Co., 1965). A nomenclatura dos microorganismos deve obedecer os critérios adotados pelo Manual de Bergey (Breed, R. S.; Murray, E. G. D & Smith, N. R. – Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology. Baltimore, Williams & Wilkins Co., última edição).

Referências bibliográficas – Deverão ser apresentados somente os trabalhos consultados ligados ao assunto e citados no texto. Citações de “resumo”, “dados não publicados”, “comunicações pessoais” ou “no prelo” poderão ser adequadamente mencionados no texto, mas não serão aceitos como referências bibliográficas.

No texto – As referências no texto devem ser citadas assim:
 VALLADA 1 ou (1); Correspondente ao número da lista de referência bibliográfica.
 MENDES & CARVALHO (2)
 SOUZA, CABRAL & MACHADO (3)
 GONTIJO, FILHO *et it* (4) ou GONTIJO FILHO & cols (4)
 VALLADA; MENDES & CARVALHO 1,2 ou (1,2)

Na bibliografia - A relação das referencias bibliográficas deve ser numerada e colocada em ordem alfabética dos sobrenomes dos autores, e seguir o disposto abaixo para artigos ou livros.

a) **Para artigos** – SOBRENOME(S) DO(S) AUTOR(ES), SEGUIDO DO(S) PRENOME(S) (abreviado ou não desde que haja padronização deste procedimento, separados entre si por ponto e vírgula seguidos de espaço, segundo NBR 6023) – Título do trabalho (em itálico ou negrito). Título do periódico (abreviaturas de acordo com o “Word Scientific Periodicals”), volume e número do volume: número da página inicial e final, ano de publicação.

Exemplos:

- 1- VALLADA. E . P. – Cultura de urina. Rev. Bras. Anál. Clín., 1 (1): 21-23, 1969.
- 2- MENDES, M. Q. & CARVALHO, M. A. – Padrão múltiplo para dosagem de lipides séricos, triglicerídeos lipides totais e colesterol ('Trilicol'). Rev. Bras. Anál. Clín., 9 (1): 1-3, 1977.
- 3- SOUZA, M. M.; CABRAL, M.C. & MACHADO, R. D. – Técnica de fixação de complemento aplicado ao estudo da raiva. Rev. Bras. Anál. Clín., 8 (2): 17-24, 1976.
- 4- Colocar todos os autores.

b) **Para livros** – SOBRENOME(S) DO(S) AUTOR(ES), SEGUIDO DO(S) PRENOME(S) (abreviado ou não desde que haja padronização deste procedimento, separados entre si por ponto e virgula seguidos de espaço, segundo NBR 6023). Título do livro (em itálico ou negrito): subtítulo (se houver). Número da edição (tradução se for o caso). Local de publicação: Editor, ano de publicação. Número de páginas ou volume. Se particulares páginas são conspurcadas, então citá-las.

Exemplos:

- 1 – MENDES, M. Q & LOPES, H. J .J. – Atualização em bioquímica clínica. 1 ed. Belo Horizonte, Mal Editora S.^a, 1973, 305 p.
- 2 - HENRY, R. J. – Química clínica. Bases e princípios. 1. ed. Espanhola. Barcelona, Editorial Jims, 1969, 2 v.
- 3 - BURNET, G. W.; SCHERP, H. W. & SCHUSTER, G . S – Microbiologia Oral e Doenças Infeciosas. 4. ed. (1. ed. Brasileira).Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S. A., 1978, 756 p.
- 4- VERONESI, R. – Doenças Infeciosas e parasitárias. 4. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S. A., 1095 p.
- 5- CARVALHO, I. – Antibióticos e antibioticoterapia. In: VERONESI, R. – Doenças Infeciosas e parasitárias, 4. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S.A., 1969, pt. 9. p. 1017 – 1072.

c) **Para Tese:** NOME DO AUTOR, SEGUIDO DO PRENOME (abreviado ou não). Título da Tese (em itálico): subtítulo (se houver). Ano de apresentação. Número de folhas. Categoria (grau e área de concentração) – Instituição, local.

Exemplo:

CIRIBELLI GUIMARÃES, J. – *Febre Amarela Silvestre*. 1975. 80 p. Tese de Docência Livre – Instituto de Microbiologia da UFRJ. Rio de Janeiro.

d) **Para Norma:** NOME DO ÓRGÃO NORMALIZADOR. Título: subtítulo (em itálico ou negrito), Número da norma. Local, ano, volume ou páginas.

Exemplo:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Informação e Documentação. Referências – Elaboração, NBR 6023. Rio de Janeiro, 2002. 24p.

Ilustrações – Deverão ser citadas no texto como “Fig.”, numeradas e vir acompanhadas de legendas explicativas após o texto ou em arquivos separados. Os desenhos, fotos e ilustrações devem ter extensão JPEG e resolução mínima de 300 dpi’s.

Quadros e tabelas – Deverão vir numerados em algarismo arábico e apresentados após o texto ou em arquivos separados. Cabeçalhos e legendas devem ser suficientemente claros e compreensíveis, sem necessidade de consultas ao texto. São permitidas notas explicativas de rodapé indicadas por asteriscos, mas não descrições das experiências. Seguir, o quanto possível, as normas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Nenhuma casa, em quadros ou tabelas, deverá ficar vazia; a ausência de dados será representada por:
 - quando o fenômeno não existe;
 0;0,0 quando o fenômeno existe, não atingindo o seu valor, porém, o adotado no quadro;
 ... quando o dado não foi apurado, não implicando, porém, afirmar ou não a existência do fenômeno.
 Quando o fenômeno for mensurável, deverá ser expresso de maneira a somente figurarem os algarismos significativos.

Da publicação

1. A publicação de artigos na Revista está condicionada à aprovação dos Consultores Científicos.
2. Os originais de trabalhos aceitos para publicação não serão devolvidos aos autores.
3. No caso de mais de um autor deverão ser expressamente indicados os responsáveis pela publicação. Na ausência dessa informação, o primeiro será considerado o responsável.

4. Os trabalhos em língua estrangeira serão submetidos a um revisor competente (pelo que será cobrada uma taxa dos autores) e devolvidos se a redação for inadequada.
5. Para correspondência, os autores responsáveis devem fornecer os seus endereços.
6. A reprodução dos trabalhos publicados na Revista será permitida quando citada a origem da publicação.

Rua Vicente Licínio, 99 -Tel.: 0XX(21)2187-0800 - Fax: 0XX(21)2187-0805 - Rio de Janeiro - RJ - 20270-902

Home page: www.sbac.org.br - e-mail: rbac@sbac.org.br

FILIAÇÃO:

IFCC - INTERNATIONAL FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE

COLABIOCLI - CONFEDERACIÓN LATINOAMERICANA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS

CLSI – CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE

AMN - ASOCIACION MERCOSUR DE NORMALIZACION

ONA - ORGANIZAÇÃO NACIONAL DE ACREDITAÇÃO

