

OBSERVACIONES SOBRE ALFA-FETOPROTEINA Y ALFA-1-ANTITRIPSINA EN HEPATOPATIAS. REPORTE PRELIMINAR

* Dr. Aulio A. Brea
 ** Dr. Miguel A. Logroño Batlle
 + Dr. Roberto Logroño Di Vanna
 ++ Dr. Dante Beato
 o Dra. Victoria Soñé del Monte
 oo Lic. Nancy A. Martí de Logroño

La capacidad de los fluidos biológicos humanos de sintetizar proteínas capaces de actuar como antígenos o inhibidores de actividad enzimática de otras proteínas nos lleva a hacer una revisión y reporte de casos versando específicamente sobre el grupo de las Alfa-1-globulinas: la Alfa-1-antitripsina y la alfafetoproteína.

ALFA-1-ANTITRIPSINA (A1AT)

En 1893 Hildebrandt, en 1897 Camus y Gley y posteriormente Hahn, comprobaron que el suero humano tiene la capacidad de inhibir la actividad proteolítica de la tripsina, demostrando 3 años más tarde Landsteiner que la mayor parte de la actividad antitripsina está asociada a la fracción de las albúminas. Jacobson demostró en 1953 que este factor inhibidor está situado en la fracción de las alfa-1-globulinas del suero humano, siendo Schultze quien reconoció que el principal componente de la actividad antitripsina es una glucoproteína que se localiza en la zona postalbúmina denominada Alfa-1-Antritripsina.

En 1963 se descubre que el déficit de esta proteína se halla en relación con algunas enfermedades, a raíz de unas investigaciones hechas por Laurell y Erickson en Suecia sobre un paciente con enfisema pulmonar severo y disminución de las alfa-1-globulinas. Posteriormente, Erickson confirmó este hallazgo y también la relación entre ese déficit y la enfermedad broncopulmonar crónica.

* Médico Gastroenterólogo.

** Médico Patólogo. Jefe del Servicio de Patología Hospital Dr. Salvador B. Gautier, Santo Domingo.

+ Médico General.

++ Médico Residente Medicina Interna. Hospital Dr. Salvador B. Gautier, Santo Domingo.

o Médico General.

oo Licenciada en Bioanálisis.

En 1965, Fagerhol reveló su polimorfismo mediante electroforesis y en 1968 Sharp describió la asociación de cirrosis infantil sin enfisema a un déficit electroforético de A1AT. Dos años más tarde, Gherardi reportó el primer caso de cirrosis en el adulto con déficit de A1AT. Recientemente, Evans descubrió la asociación del déficit adquirido de A1AT y la enfermedad de membrana hialina en el recién nacido.

La Alfa-1-Antitripsina (A1AT) es una glucoproteína sintetizada y catabolizada en su mayor parte por el hígado. Es liberada en el suero a razón de 38 mg/kg/día. La A1AT constituye el 90% de las Alfa-1-globulinas y, éstas a su vez, el 4% de las proteínas totales. Está formada por una simple cadena polipeptídica con 4 cadenas laterales de hidratos de carbono. Su peso molecular oscila entre 45,000 y 54,000 daltons y su vida media es de 3-6 días.

Por poseer un peso molecular más bajo que el de la albúmina, la A1AT puede fácilmente abandonar la circulación y penetrar en los fluidos intersticiales: linfa, perilinfia, secreciones genitales, lágrimas, saliva, secreciones nasales y pulmonares, jugo duodenal, líquido cerebroespinal, líquido amniótico, calostro y leche materna.

La A1AT ha sido detectada por Nalli en plaquetas, megacariocitos, neutrófilos, linfocitos y en los macrófagos alveolares. La A1AT es capaz de inhibir enzimas proteolíticas siendo su principal función esta acción inhibitoria contra las proteasas leucocitarias; de esa manera, protege al tejido pulmonar del daño ocasionado por procesos infecciosos e inflamatorios.

Las bandas y subunidades de la A1AT mostraban movilidad electroforética variable de un sujeto a otro, lo que estableció un modelo genético constituido por varios alelos autosómicos codominantes en un solo locu, denominado "Pi" (proteasa inhibidor). La unión de dos alelos constituye el fenotipo. Los alelos individuales M, que son las formas más frecuentes, tienen movilidad media; los F son los muy rápidos y los Z y S son los más lentos. Cuando una

persona hereda un genotipo formado por dos alelos codominantes en este locus, las combinaciones son múltiples, tanto homocigóticas Pi (MM, SS, ZZ) como heterocigóticas Pi (MS, MZ, SZ). El fenotipo resultante dada la codominancia de ambos alelos, es similar al genotipo. Sólo el alelo de Z ha sido inequívocamente asociado a enfermedad hepática o pulmonar.

El fenotipo MM es el prototipo de las concentraciones plasmáticas normales de A1AT y, dada la herencia codominante, el alelo Pi M es el responsable del 50% de la cifra total normal. La frecuencia genética para los diferentes alelos de la A1AT varía dependiendo del país, raza, zona geográfica.

La concentración de A1AT aumenta en procesos inflamatorios, infecciosos, degenerativos y neoplásicos; intervenciones quirúrgicas, ictericia y obesidad, cuyo incremento puede acompañarse con aumento de fibrinógeno, haptoglobina y ceruloplasmina. Puede también aumentar en embarazo, ingesta de contraceptivos orales, corticosteroides y luego de vacunación antitífica. Incrementos locales han sido descritos en el líquido sinovial de algunos pacientes con artritis reumatoideas y en líquido cefalorraquídeo de pacientes con tumores cerebrales.

Niveles anormales bajos se han detectado en algunos pacientes con enfisema de carácter familiar, en cirrosis infanto-juveniles y del adulto, en necrosis hepática masiva y en hepatitis crónica.

ALFAFETOPROTEINA (AFP)

En los últimos 20 años ha surgido un interés marcado por las proteínas carcinofoetales. En 1963, Abelev y colaboradores demostraron el encuentro de alfafetoproteína en hepatomas de ratones, asociando esta proteína fetal con la malignidad. En el año siguiente, Tatarinov encontró AFP en el suero de pacientes humanos con carcinoma hepatocelular.

La AFP, También del grupo de las alfa-1-globulinas, es considerada antígeno fetal, puesto que está presente durante la vida intrauterina o en la vida post-natal temprana y es total o casi completamente reprimido en la vida adulta.

La AFT es sintetizada por el hígado, saco embrionario y tracto gastrointestinal de fetos humanos. La reaparición de antígenos embriogénicos en la edad adulta es sugestiva de transformación neoplásica.

Niveles séricos anormales han sido reportados en 50 a 95% de pacientes con carcinoma hepatocelular. La más alta incidencia de AFP positiva ha sido reportada en pacientes donde el hepatoma es endémico, con predominancia de la raza negra, como en el Sur de África.

El mecanismo responsable de la producción de AFP por las células del carcinoma hepatocelular es un ejemplo de reversión carcinofoetal en que las células malignas proliferadas recapitulan algunos de los cambios metabólicos que ocurren durante el desarrollo de los tejidos fetales. Se ha sugerido que la base molecular de este fenómeno es un me-

canismo de de-represión de genes fetales que normalmente se reprimen durante el proceso de maduración celular.

Niveles anormales de AFP han sido reportados en cáncer de páncreas, estómago, colon y pulmón. Elevaciones de AFP se ven en enfermedades hepáticas no tumorales: un 15 a 75% de pacientes con cirrosis y hepatitis alcohólica y se han demostrado elevaciones transitorias en un 30 a 60% de casos de hepatitis viral. En estos casos, las concentraciones séricas no sobrepasan los 500 ng/ml.

La concentración normal en adultos es hasta 40 ng/ml. En la mayoría de los pacientes con hepatocarcinoma los niveles séricos son extremadamente elevados, por lo general (sobrepasando los 1000 ng/ml).

Recientemente se ha demostrado la presencia de AFP en líquido ascítico de un paciente con hepatocarcinoma, siendo ésta similar en su estructura a la AFP sérica.

Aproximadamente de un 10 a 30% de los hepatocarcinomas no son productores de AFP y en ellos los niveles séricos son normales o se encuentran dentro de los límites observados para las hepatopatías no malignas. Por lo tanto, niveles séricos normales o moderadamente elevados de AFP no descartan la existencia de un hepatocarcinoma.

Inicialmente se pensaba que la AFP era un hallazgo específico del hepatoma, pero el desarrollo de técnicas de determinación sérica más sensitivas, como el Radioinmunoensayo, ha demostrado elevación en suero de AFP en enfermedades no neoplásicas de hígado, como son la hepatitis viral aguda, hepatitis crónica, cirrosis y otras.

Se ha sugerido que los altos niveles de AFP observados en formas severas de hepatitis representan un proceso de regeneración activa de hepatocitos luego de necrosis extensa del parénquima. Más aún, la presencia de AFP parece ser un signo de pronóstico favorable; sin embargo, la síntesis de AFP en algunos pacientes con hepatitis podría significar un efecto viral premaligno, que puede hacer a estos pacientes más susceptibles a otros carcinógenos ambientales.

MATERIALES Y METODOS

Este trabajo consiste en la determinación cuantitativa de dos alfa-globulinas: la alfafetoproteína (AFP) y la alfa-1-antitripsina (A1AT), las cuales les fueron practicadas a un total de 55 personas, de los cuales 32 eran pacientes afectados de hepatopatías neoplásicas y no neoplásicas provenientes de diferentes centros hospitalarios de Santo Domingo y 23 eran sujetos jóvenes sanos.

Los 32 pacientes afectados correspondieron a adultos con edades que oscilaron entre 21 y 68 años con un promedio de 44 años para el sexo masculino. Tres de los pacientes correspondieron al sexo femenino, con edades entre 41 y 58 años y un promedio de 48 años de edad. Tomamos muestra de sangre venosa a estos pacientes, a los cuales se les había hecho previamente una punción biopsia de hígado. De esa manera garantizamos la confirmación diagnóstica, por medios histopatológicos, del diagnóstico clínico y las pruebas hepáticas funcionales en cada paciente.

I
TABLA DE PACIENTES CON HEPATOPATIAS

PTE.	DIAGNOSTICO	VALOR AFP (ng/ml)	R	VALOR AIAT (mgr/dl)	R
F.M.	Cirrosis Hepática	< 12.9	N	> 415	NoA
F.R.	Cirrosis Hepática	< 12.9	N	< 72	D
M.P.	Cirrosis Hepática	< 12.9	N	< 72	D
E.M.	Cirrosis Hepática	< 12.9	N	100	D
S.M.	Cirrosis Nutricional	955	A	100	D
M.A.	Cirrosis Post—Necrótica Activa	57	A	< 72	D
A.G.	Hepatitis Crónica Persistente	148	A	310	N
A.S.	Hepatitis Crónica Persistente	< 12.9	N	135	D
R.P.	Hepatitis Crónica Persistente	284	A	145	N
N.U.	Hepatitis Crónica Persistente	< 12.9	N	< 72	D
L.D.	Hepatitis Crónica Persistente	< 12.9	N	330	N
J.N.	Colangitis Crónica Inespecífica	< 12.9	N	280	N
A.E.	Adenocarcinoma Metastásico a Hígado	< 12.9	N	320	N
R.A.	Adenocarcinoma Metastásico a Hígado	< 12.9	N	180	N
P.A.	Hepatitis Reaccional Inespecífica	206	A	215	N
H.C.	Hepatitis Viral Aguda	< 12.9	N	300	N
F.S.	Hepatocarcinoma	851	A	> 415	NoA
E.M.	Hepatocarcinoma	1,419	A	> 415	NoA
S.T.	Hepatocarcinoma	1,806	A	86	D
J.M.	Hepatocarcinoma	< 12.9	N	415	N
L.A.	Hepatocarcinoma con metástasis ganglionar	1,097	A	> 415	NoA
J.O.	Hepatocarcinoma con Cirrosis	1,548	A	415	N
J.L.	Hepatocarcinoma con Cirrosis	2,193	A	> 415	NoA
M.V.	Hepatocarcinoma con Cirrosis	19	N	< 72	D
J.B.	Cirrosis Hepática	45	A	< 72	D
E.O.	Cirrosis Hepática	108	A	> 415	NoA
M.T.	Cirrosis Hepática	1,006	A	220	N
F.S.	Cirrosis Hepática	< 12.9	N	240	N
R.J.	Cirrosis Hepática	< 12.9	N	310	N
M.C.	Cirrosis Hepática	< 12.9	N	320	N
F.R.	Cirrosis Hepática	< 12.9	N	215	N
C.C.	Cirrosis Hepática	< 12.9	N	78	D

R = resultados. A = aumentado. N = normal. D = disminuido. > = mayor que. < = menor que.
 Valores normales: AFP: menor de 40 ng/ml. AIAT: 140 a 470 mgr/dl.

El grupo control consistió en 23 personas; 12 fueron del sexo masculino con edades que oscilaron entre 19 y 53 años y un promedio de edad de 29 años. 11 fueron del sexo femenino, con edades entre 19 y 58 años y un promedio de edad de 35 años. A todos les fueron cuantificados los niveles séricos de AFP y de AIAT para que nos sirvieran de control en la investigación, así como también, para obtener una orientación acerca de los valores séricos para ambas pruebas en nuestra población.

Para la determinación de AFP las muestras y los casos control fueron procesados por la técnica de Radioinmunoensayo. Esta técnica, usada para cuantificar los niveles séricos de AFP, es un método competitivo de fijación que utiliza un reactivo precipitante antisérico para separar el trazador fijado al anticuerpo del no fijado. El Trazador usado es Iodo-125 (de la casa Clinical Assays).

Para cuantificar la AIAT fue usada la técnica de Inmuno-difusión Radial (de la casa Kallestad), específica para

estos casos.

RESULTADOS

Los diagnósticos establecidos histopatológicamente fueron los siguientes: hepatocarcinoma, cirrosis, hepatitis (viral aguda, reaccional inespecífica y crónica persistente), adenocarcinoma metastásico al hígado y colangitis crónica inespecífica.

De un total de 32 casos, la distribución por patologías fue la siguiente:

1.- Hepatocarcinoma	8 casos.
2.- Cirrosis hepática	14 "
3.- Hepatitis Viral Aguda.	1 "
4.- Hepatitis crónica persistente	5 "
5.- Hepatitis reaccional inespecífica.	1 "
6.- Adenocarcinoma Metastásico al hígado	2 "
7.- Colangitis crónica inespecífica.	1 "

Asumiendo que los valores normales para la AFP son hasta 40 ng/ml y que para la A1AT oscilan entre 140 y 470 mg/dl, los resultados serológicos obtenidos para las distintas hepatopatías nos permiten presentar el siguiente análisis (Ver Tabla

1.- Hepatocarcinoma: 8 casos.

a) AFP: de 8 casos diagnosticados histopatológicamente, en 6 encontramos niveles séricos aumentados para una positividad de 75% y con un rango que osciló entre 851 y 2,193 ng/ml. Los otros dos casos presentaron valores no significativos.

b) A1AT: 6 de los 8 casos arrojaron valores de 415 ó más mg/dl. Límite máximo representado en nuestra curva. Los restantes dos casos dieron valores disminuidos, con respecto al límite inferior de normalidad (140mg/dl).

2.- Cirrosis Hepática: 14 casos.

a) AFP: De 14 casos diagnosticados sin asociación demostrada a hepatocarcinoma, 5 fueron positivos para el test de AFP, con un rango que osciló entre 45 y 1,006ng/ml y una positividad de 35.7%. Los restantes casos dieron valores no significativos.

b) A1AT: 7 de los 14 casos de cirrosis presentaron disminución de los niveles de A1AT, para un 50% de positividad del test. Los otros 7 casos oscilaron dentro de los límites normales, aún cuando dos de ellos obtuvieron valores muy próximos al límite superior.

3.- Hepatitis Viral Aguda: 1 casos.

a) AFP: no arrojó valores significativos.

b) A1AT: el valor obtenido para esta prueba también estuvo dentro de límites normales.

4.- Hepatitis Crónica Persistente: 5 casos.

a) AFP: de 5 casos diagnosticados, 2 arrojaron valores aumentados, lo cual representa una positividad de 40% para esta prueba. Ambos casos fueron de 148 y 284 ng/ml respectivamente. Los restantes casos no tuvieron niveles representativos.

b) A1AT: 2 de 5 casos obtuvieron valores disminuidos

(por debajo del límite inferior de 140 mg/dl), con una positividad de 40% para esta prueba. Los restantes 3 casos dieron valores dentro de límites normales, aunque uno de ellos (de 145 mg/dl) muy cercano al límite inferior.

5.- Hepatitis Reaccional Inespecífica: 1 caso.

a) AFP: este caso fue positivo para el test, con un valor aumentado de 206 ng/ml.

b) A1AT: el valor obtenido en esta prueba estuvo dentro de límites normales.

6.- Adenocarcinoma Metastásico al Hígado: 2 casos.

a) AFP: no se obtuvieron valores significativos para este test.

b) A1AT: ambos casos también dentro de límites normales.

7.- Colangitis Crónica Inespecífica: 1 caso.

a) AFP: Valor obtenido dentro de límites normales.

b) A1AT: Valor obtenido también dentro de límites normales.

De los 23 casos tomados como control solamente uno reportó valores séricos alterados para la AFP (de 46 ng/ml). En lo referente a la A1AT, 6 de ellos reportaron valores séricos disminuidos.

Finalmente debemos aclarar que al construir nuestra curva standard, a partir de la cual encontramos las concentraciones de AFP de todas las muestras séricas, el menor valor standard representado en ella fue de 12.9 ng/ml; por tanto, todo valor por debajo de este último quedó fuera de la curva y, aunque es no significativo, no pudo ser cuantificado exactamente. Del mismo modo, al construir la curva en que fueron representados los valores dados para los standards de la A1AT, el menor y mayor valor representado en ella fueron respectivamente 72 y 415 mg/dl; por tanto, todo valor situado por fuera de estos límites no pudo ser cuantificado exactamente, lo cual nos limitó principalmente en la apreciación exacta de valores aumentados para la A1AT. Tal situación requería hacer nuevas diluciones de las muestras séricas cuyos valores sobrepasaban los 415 mg/dl, para así poder cuantificar los valores aumentados. Razones técnicas que limitaron la adquisición de nuevos reactivos, nos impidieron realizar las diluciones extras.

DISCUSION

En términos generales, y basándonos en las estadísticas internacionales, las expectativas para el test de AFP y de la A1AT, en las diferentes hepatopatías, son las siguientes:

1. Hepatocarcinoma: tanto para la AFP como para la A1AT, las expectativas son de aumento marcado en los niveles séricos de ambas alfa-1-globulinas en un porcentaje muy elevado de los casos (más del 70%), aunque algunos autores reportan disminución de la A1AT sérica

2. Cirrosis del Hígado: para la AFP los valores deben estar aumentados en un 33% (entre 15 y 75%) de los casos aproximadamente. Lo esperado para la A1AT es la disminución de los valores séricos por debajo del rango normal

3. Hepatitis Viral Aguda: tanto para la AFP como para la A1AT, las estadísticas internacionales reportan un aumento de los valores séricos en una pequeña proporción de los casos (20% aproximadamente)

4. Hepatitis Crónica: un pequeño porcentaje de los casos reporta aumento en los niveles séricos de la AFP. Para la A1AT, lo esperado es una disminución en los valores séricos de esa globulina

Según las expectativas anteriormente expuestas para ambas pruebas, podemos establecer comparaciones acerca de la ayuda diagnóstica brindada a nosotros por ambos tests partiendo de los resultados obtenidos de su aplicación en las muestras séricas de nuestra casuística.

En cuanto a hepatocarcinoma se refiere, obtuvimos un reporte elevado de los valores en suero de AFP, en 75% de los pacientes. Para la A1AT, la misma proporción de pacientes reportó valores si no marcadamente elevados, al menos muy próximos al límite superior del rango de normalidad (470 mg/dl). Esto nos lleva a presumir que, al igual que con la AFP, podemos contar con la A1AT como método de ayuda diagnóstica efectivo en la detección del carcinoma hepatocelular primario. Igualmente, debemos señalar que 2 de los 3 casos asociados a cirrosis mostraron una tendencia a la elevación tanto en los niveles de AFP como en los de A1AT.

En el caso de la cirrosis hepática y, de acuerdo a lo esperado para cada test, el porcentaje de detección de valores séricos alterados arrojó una positividad de 35.7% para la AFP y de 50% para la A1AT. Esto es, la A1AT detectó una mayor proporción de casos con valores séricos alterados acorde a las expectativas, que la AFP.

En las hepatitis crónicas persistentes de nuestra casuística, la positividad obtenida fue de 40% en ambos tests, aunque podemos presumir una tendencia a la elevación de este porcentaje para la A1AT, ya que uno de los casos reportados dentro de límites normales (140–470 mg/dl) reportó un valor de 145 mg/dl, muy próximo al límite inferior de normalidad.

Sólo tuvimos un caso de hepatitis reaccional inespecífica, con valores aumentados para la prueba de AFP y dentro de límites normales para la A1AT.

En las siguientes patologías: hepatitis viral aguda, adenocarcinoma metastásico al hígado y colangitis crónica inespecífica, los resultados obtenidos para ambas pruebas estuvieron dentro de límites normales.

De los 23 sueros tomados de personas sanas como control (ver tabla 2) solamente uno excedió ligeramente el límite de normalidad para la AFP; se trató de paciente joven con reciente contacto prolongado a un pariente afectado de hepatitis viral aguda, pero asintomático, con posible afección subclínica. Este paciente reportó valores normales para la A1AT.

Por otra parte, de los 23 casos control, 6 arrojaron valores disminuidos para la A1AT.

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo podemos concluir recomendando la cuantificación de los niveles séricos, tanto de la AFP como de la A1AT, en pa-

II TABLA CASOS CONTROL

PTE.	VALOR AFP (ng/ml)	R	VALOR A1AT (mgr/dl)	R
B.O.	12.9	N	250	N
C.B.	12.9	N	240	N
F.T.	12.9	N	100	D
I.F.	12.9	N	230	N
J.P.	12.9	N	170	N
J.Z.	12.9	N	125	D
C.S.	18	N	72	D
A.P.	12.9	N	370	N
B.P.	12.9	N	72	D
M.P.	12.9	N	200	N
F.E.	12.9	N	250	N
R.L.	46	A	205	N
N.M.	12.9	N	205	N
L.C.	12.9	N	145	N
R.M.	12.9	N	280	N
A.J.	12.9	N	185	N
J.S.	12.9	N	145	N
S.B.	12.9	N	215	N
F.A.	12.9	N	200	N
C.R.	23	N	370	N
R.A.	12.9	N	135	D
J.A.	12.9	N	185	N
M.M.	12.9	N	130	D

R = resultados. A = aumentado. N = normal. D = disminuido.
> mayor que. < menor que.

Valores aumentados: AFP: menor de 40 ng/ml.
A1AT: 140 a 470 mgr/dl.

cientes con hepatopatías neoplásicas y no neoplásicas. La medición de los valores séricos de AFP y de la A1AT nos demostró ser un recurso fiable de orientación diagnóstica, al menos en presencia de hepatocarcinoma, cirrosis y en hepatitis crónica persistente. Los resultados de nuestra investigación guardan gran similitud con los obtenidos por investigadores de otros países, que recomiendan la cuantificación sérica de la AFP y A1AT como parte del arsenal diagnóstico en enfermedades del hígado.

Los resultados obtenidos por nosotros en las personas sanas tomadas como control de este trabajo, nos permiten presentarlos como orientación preliminar a futuros trabajos orientados a determinar los niveles séricos de AFP y de A1AT en la población sana de República Dominicana.

BIBLIOGRAFIA

- Brea—Logroño—Escovar. "Determinación de Alfafetoproteína sérica en Pacientes con Diversas Hepatopatías". *Revista Científica de la Agrupación Médica del IDSS*, Vol. 6, No. 2, 1983.
- Alpert, "Human Alpha Fetoprotein Developmental, Biology and Clinical Significance". *Progress in Liver Diseases*, págs. 334—337, 1976.
- Bloomer, "Serum alpha fetoprotein in non-neoplastic liver Diseases". *Digestive Diseases and Sciences*, Vol. 25, No. 4, págs. 241—242, 1980.
- Endo—Kanal—Lino—Oda, "Clinical Significance of Alpha Fetoprotein with special reference to Primary Cancer of the Liver". *CANN Monograph on Cancer Research* No. 14, págs. 67—75, 1973.
- Hubert—Gold—Shuster—Javit—Freedman—Finlayson, "Alpha fetoprotein in Chronic Liver Disease". *Lancet*, Dec. 1969, págs. 1267—1269.
- Karvountzis—Redecker, "Relation of Alpha fetoprotein in Acute Hepatitis to Severely and Prognosis". *Annals of Internal Medicine*, 1974, págs. 156—160.
- Nishi—Hirai, "Radioimmunoassay of Alpha fetoprotein in Hepatoma, other Liver Diseases and Pregnancy". *GANN Monograph of Cancer Research* 14, 1973; págs. 79—85.
- Price—Alberti, "Tests for Primary Hepatic Malignancy". *Liver and Biliary Diseases*, 1979.
- Purves—Berson—Path—Geddes, "Serum Alpha fetoprotein and Primary Center of the Liver in Man". *Cancer* Vol. 25, junio 1970, págs. 1270—1271.
- Shinn—Chen—Lowsung, "Relationship of Hepatitis B Surface Antigen to Serum Alpha fetoprotein in non-malignant diseases of the Liver". *Cancer* Vol. 44, Sept. 1979, págs. 984—992.
- Tricopoulos—Sizaret—Tabor—Gerety—Martel—Muñoz—Theodoropoulos, "Alpha fetoprotein Levels in Liver Cancer Patients and Controls in European Population". *Cancer* Vol. 46, julio—septiembre 1980, págs. 736—740.
- Waldmann—McIntire, "The use of Radioimmunoassay of Alpha fetoprotein in the Diagnosis of Malignancy". *Cancer* Vol. 34, Oct—Dec. 1974, págs. 1510—1515.
- Logroño, "Valor de la Alfa-1—Antitripsina en Cirrosis Hepática y en Otras Hepatopatías". *Acta Médica Dominicana*, Vol. 3, No. 2, marzo—abril 1981, págs. 73—81.
- Berg—Erickson, "Liver Disease in Adults with Alpha-1—Antitrypsin Deficiency". *New England Journal of Medicine* No. 287, Dec. 1972, págs. 1264—1267.
- Rodríguez—Núñez—López, "Deficit en Alfa-1—Antitripsina (excluidas enfermedades pulmonares)". *Revista Clínica Española*, tomo 149 No. 5, 1978.
- Sharp, "The Current Status of Alpha-1—Antitrypsin, a Protease Inhibitor, in Gastrointestinal Disease". *Gastroenterology*, Vol. 70 No. 4, 1976, págs. 611—621.
- Weiser—Lamont—Walker, "Alpha-1—Antitrypsin Deficiency, a Defect of Secretion". *Editorials* Vol. 292, No. 4, 1975, págs. 205—206.
- Morse, "Alpha-1—Antitrypsin Deficiency". *Medical Progress* Vol. 299 No. 19 y 20, págs. 1045—1105, 1978.
- Sveger, "Liver Disease in Alpha-1—Antitrypsin Deficiency Detected by Screening of 200,000 Infants". *New England Journal of Medicine* Vol. 294, págs. 1316—1321, 1976.
- Robbins—Cotran—Ramzi, "Pathologic Basis of Disease", págs. 834 y 1059, 1979.
- Sharp—Freier—Bridges, "Alpha-1—Globulin Deficiency in a Familial Infantile Liver Disease". *Pediat. Res.* No. 2, 298—306, 1968.
- Gherardi, "Alpha-1—Antitrypsin Deficiency and its effects on the Liver". *Human Pathology* Vol. 2, págs. 173—185, 1971.
- Evans—Levi—Mandl, "Serum Enzyme Inhibitors Concentrations in the Respiratory Distress Syndrome". *Am. Rev. Resp. Dis.* No. 101, págs. 359—363, 1970.
- González Sarmiento y cols. "Alfa-1—Antitripsina, Revisión y Actualización". *Cátedra de Patología y Clínica Médica, Facultad de Medicina, Valladolid*, págs. 65—74, 1983.
- Simo—Camps—Huguet—Sala Aubi, "Niveles elevados de Alfa-1—Antitripsina en el suero de pacientes afectados de cáncer". *Med. Clins.* No. 70, págs. 111—121, 1978.
- Gálvez—Farcas—Monari, "The concentration of Alpha-1—Antitrypsin in Cerebrospinal fluid and serum in a series of 40 intracranial tumors". *Clin. Chimic. Acta* 91, págs. 191—196, 1979.
- Carlson—Erickson, "Alpha-1—Antitrypsin and other acute phase reactants in Liver disease". *Acta Médica Scand.* No. 207, págs. 79—84, 1980.
- Cecil Textbook of Medicine. Edition 17, 1982.
- Moreira y cols. "Determinación de la Alfafetoproteína en ascitis para el diagnóstico diferencial entre cirrosis y Hepatocarcinoma". *Servicios de Gastroenterología y Medicina Nuclear. Centro Especial de la Seguridad Social Ramón y Cajal. Madrid. Gastroenterología y Hepatología*, Vol. 6, No. 22, págs. 67—70, 1983.
- Karitzky—Klein—Witt, "Función Pulmonar en niños con marcado déficit de Alfa-1—Antitripsina (PI—tipo Z)". *Medicina Alemana*, agosto 1983, No. 107, págs. 1421—1424.