

## Valores de referencia de la ribonucleasa sérica en la población infantil

J. HUESO, J. RICO, M. V. RASCÓN y D. PÉREZ-SANDOVAL

**RESUMEN:** Se hace un estudio de la actividad de ribonucleasa (RNasa) sérica en 28 niños normales de 12 meses a 14 años encontrando cifras de  $10,8 \pm 1,83$  U. En 38 sangres de cordón vimos valores de  $20,4 \pm 4,4$  U y en doce niños con ictericia fisiológica del recién nacido fue de  $31,5 \pm 6,6$  U. También se estudia la evolución que sigue la RNasa desde el nacimiento hasta los doce meses de edad, período de normalización de los niveles de la enzima. **PALABRAS CLAVE:** RIBONUCLEASA. RECIÉN NACIDOS. ICTERICIA NEONATAL.

**REFERENCE VALUES OF SERUM RIBONUCLEASE IN CHILDREN (SUMMARY).** The activity of serum ribonuclease (RNase) is measured in 28 normal children, 12 months to 14 years old, the mean figure was  $10,8 \pm 1,83$  uu. We found  $20,4 \pm 4,4$  uu in cord blood samples and  $31,5 \pm 6,6$  uu in 12 newborns with physiological jaundice. The RNase follow-up was also studied from birth until 12 months of age, date in which normal levels are got. **KEY WORDS:** RIBONUCLEASE. NEWBORNS. NEONATAL JAUNDICE.

### INTRODUCCIÓN

La ribonucleasa (RNasa EC 3.1.4.22) es una glicoproteína de peso molecular de 33.000, siendo una de las varias enzimas elaboradas por el páncreas. Está presente en el suero, leucocitos, orina y LCR. Los datos inmunoelectroforéticos (1) sugieren que la RNasa de orina y LCR es idéntica y lo más probable es que proceda de la corriente sanguínea. Ciertos estudios revelan la similitud entre la RNasa humana del páncreas y la del suero (2). Ambas enzimas tienen el mismo pH óptimo 6,5 con ácido policitidílico como substrato. Es altamente específica a un éster fosfato secundario de citidina 3' fosfato. Estas propiedades bioquímicas similares implican que el páncreas es el origen de la ribonu-

cleasa del suero. Anteriormente se pensaba que los leucocitos eran la fuente de la RNasa del suero, pero estudios posteriores (3) han demostrado que la RNasa presente en los leucocitos es altamente específica a los ésteres de fosfato secundarios de uridin 3' fosfato y tienen muy poca actividad con respecto a los ésteres de fosfato secundarios de citidina 3' fosfato. Por lo tanto los leucocitos no son fuente de origen de la RNasa del suero.

Dentro de la patología humana, fue en el mieloma múltiple (4-8) donde se empezó a estudiar la actividad de la RNasa, encontrándola elevada en el suero de estos pacientes, relacionando también su elevación a la insuficiencia renal que a veces aparece en estos enfermos. Posterior-

mente se ha estudiado en las neoplasias de otros órganos: en el páncreas, pulmón (12, 13), leucemia (14), Hodgkin (15), así como en la pancreatitis aguda (16) y en la insuficiencia renal aguda y crónica (17-19). En los niños se ha estudiado esta enzima relacionándola con la malnutrición (20, 21) y en la fibrosis quística del páncreas (22, 23).

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Estudiamos los siguientes grupos de población:

- a) Un grupo control de 28 niños con edades comprendidas entre 1 y 14 años, en los que el estudio sistemático de sangre era normal, incluyendo sideremias y pruebas hepáticas.
- b) Un segundo grupo de 33 sangre de cordón, eliminando aquellos casos que el hematocrito y la hemoglobina estaban bajos o la bilirrubina alta.
- c) Doce niños con ictericia fisiológica del recién nacido, donde la bilirrubina total estaba entre 3 y 16 mg/dl de sangre.

La toma de sangre la realizamos en ayunas, se deja coagular la sangre en el laboratorio durante 2-3 horas, se extrae el suero y se conserva en nevera a 4°C hasta el momento de realizar la determinación: si no se realiza dentro de las 24 horas, se lleva a nevera a -20°C.

Para la determinación de la actividad de ribonucleasa empleamos el método de Reddi y Holland (24), modificado por Warshaw y Lee (25) que cambia la concentración del substrato de ácido policitídico, variando también las cantidades de los otros reactivos. La técnica consiste en poner en un tubo de centrífuga 0,05 ml de solución acuosa de substrato de 5 g/l, 0,40 ml. de buffer fosfato borato 0,1 M y 0,05 ml de suero problema diluido al

1/200 en suero fisiológico; maceración 10 minutos al baño maría a 37°C. Se para la reacción añadiendo 1 ml de ácido perclórico al 6 % que contiene nitrato de lantano 10 mM. Se agita y se lleva a nevera a 0-4°C durante 20 minutos y se centrifuga en frío. Se recoge el sobrenadante y se le añade 1 ml. de agua destilada. Se hace una prueba en blanco sustituyendo el suero por buffer, leer en el espectrofotómetro a 278 nm.

Una unidad de RNasa se define como la cantidad de enzima que produce una densidad óptica de 0,01 bajo las condiciones estándar del ensayo. Esto es aproximadamente equivalente a un rendimiento de 540 µg de ácido policitídico soluble por ml de suero/minuto.

#### RESULTADOS

En la Figura 1 se exponen los valores medios de actividad de RNasa encontrados en la casuística estudiada. En los 28 niños normales con edades entre 12 meses y 14 años, los valores de RNasa son de  $10,8 \pm 1,83$  U. En las 33 sangres de cordón la cifra es de  $20,4 \pm 4,4$  U, aproximadamente el doble de las cifras encontradas en los controles normales y en los 12 casos de ictericia fisiológica  $31,5 \pm 6,68$  U, valores tres veces más altos que los controles.

En la Figura 2 estudiamos las cifras de RNasa sérica a partir de sangre de cordón y la evolución que sigue durante los primeros días y meses hasta el año de edad, cifras que se mantienen hasta los 14 años, observando que a los 10 días se eleva la cifra de 20,4 U a 22,6 U, descendiendo hasta los dos meses, para sufrir una ligera elevación a los tres meses y a partir de aquí caer a 10,8 U, que es la cifra media normal encontrada en los niños control.

En la Tabla I, estudiamos la cifra media de RNasa y su rango de variación en

TABLA I. VALORES DE RIBONUCLEASA SERICA Y SU SIGNIFICACION ESTADISTICA

GRUPOS	Número de casos	RNasa actividad Unidades		Significación estadística	
		Media	Rango		
I Niños normales	28	10,8 ± 1,8	6-13	I/II	p < 0,001
II Sangre cordón	33	20,4 ± 4,8	13-29	I/III	p < 0,001
III Ictericia fisiológica del RN	12	31,5 ± 6,6	25-48	II/III	p < 0,001

los tres grupos estudiados, observando la significación estadística entre ellos, que resulta alta con valores de  $p < 0,001$  en los tres grupos.

## DISCUSIÓN

Se ha visto elevada la RNasa por Prabhavath y col. (20) en los niños que padecen malnutrición como en el Kwashiorkor, recuperándose a la normalidad después de la terapia. Sin embargo para estos autores el estudio de la RNasa no es un parámetro útil para medir el grado de malnutrición calórico-proteica (PCM). En los niños afectados de fibrosis pancreática, Bardo y col. (22) encontraron un descenso de la RNasa sérica del 54 % en relación a los valores normales.

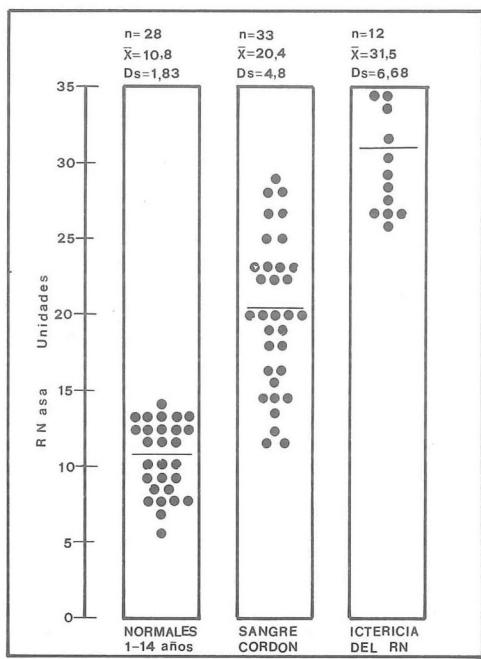


FIG. 1. Estudio del valor medio y desviación estándar de la actividad de ribonucleasa sérica en la sangre de cordón e ictericia fisiológica del recién nacido frente a controles normales

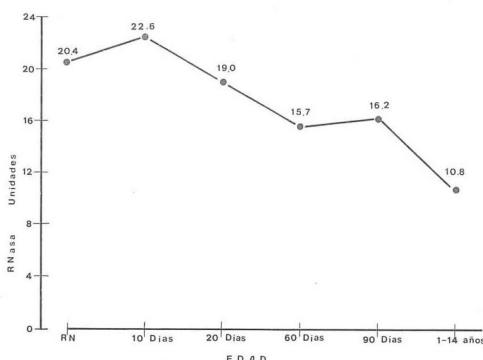


FIG. 2. Evolución de la ribonucleasa sérica. Valores en el recién nacido, durante el primer año y hasta los catorce

Referente a la evolución que sigue la RNasa en los niños desde el nacimiento hasta el primer año de vida, nuestra casuística es muy parecida a la encontrada por Scoott (26) en un trabajo semejante, si bien no coinciden las cifras por emplear métodos diferentes.

La cifra alta de RNasa sérica en el recién nacido, suponemos será debida a que el hematocrito y la hemoglobina son altos y que a medida que estas cifras se normalizan, la RNasa baja hacia la normalidad. La elevación de la enzima en la ictericia fisiológica del recién nacido puede tener relación con el metabolismo de la bilirrubina, que sufre una fuerte elevación en estos

casos o bien a la ligera insuficiencia hepática que suele acompañar a la hiperbilirrubinemia, aunque esta elevación es a expensas de la indirecta, que tiene menos repercusión en el hígado por ser extrahepática.

Pretendemos en este trabajo sacar una cifra de normalidad de la actividad de RNasa en los niños normales, para tener base sobre esta enzima en Pediatría, ya que escasea su estudio en la patología infantil y estudiar sus modificaciones en las enfermedades hepáticas, renales y malnutrición, como ya hicimos con otras enzimas.

#### BIBLIOGRAFIA

- RABIN, E. Z.; WEINBERGER, V.; TATTRIE, B.: *Ribonuclease activity in human serum, cerebrospinal fluid and urine*. Clin. Chim. Acta, 1977; 78: 235-242.
- REDDI, K. K.: *Nature and possible origin of human serum ribonuclease*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1975; 67: 110-117.
- REDDI, K. K.; HOLLAND, J. F.: *Elevated serum ribonuclease in patients with pancreatic cancer*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1976; 73: 2.308-2.310.
- FINK, K.; ADAMS, W. S.; SKOOG, W. A.: *Serum ribonuclease in multiple myeloma*. Am. J. Med. 1971; 50: 450.
- WARD, D.; LEA, D. J.: *Determination of serum ribonuclease levels*. N. Engl. J. Med. 1974; 291: 208.
- KALOFOUTIS, A.; JULLIEN, G.: *Serum ribonuclease activity in multiple myeloma*. Clin. Chem. 1975; 21: 1.345-1.346.
- HUMPHREY, R. L.; KAEPETSKI, T. P.; LEVY, C. C.: *Influence of renal insufficiency on levels of serum ribonuclease (RNase) in patients with multiple myeloma*. Fed. Proc. 1975; 34: 1.035.
- KARPETSKI, T. P.; HUMPHREY, R. L.; LEVY, C. C.: *Influence of renal insufficiency of levels of serum ribonuclease (RNase) in patients with multiple myeloma*. J. Natl. Cancer Inst. 1977; 58: 875-880.
- WARSHAW, A.; LEE, K. H.; WOOD, W. C.; COHEN, A. M.: *Sensitivity and specificity of serum ribonuclease in the diagnosis of pancreatic cancer*. Am. J. Surg. 1980; 139: 27-32.
- CORBISHLEY, T. P.; GREENWAY, B.; JOHNSON, P. J.; WILLIANS, R.: *Serum ribonuclease in the diagnosis of pancreatic carcinoma and in monitoring chemotherapy*. Clin. Chim. Acta, 1982; 124: 225-233.
- WEICKMANN, J. L. et al.: *Immunological assay of pancreatic cancer*. Cancer Research, 1984; 44: 1.682.
- MARABELLA, P. C.; TRITSCH, G. L.; MOORE, R. H.; KAKITA, H.: *Serum ribonuclease in patients with lung carcinoma*. J. Surg. Oncol. 1976; 8: 501-505.
- MAOR, B.; KLEIN, M. E.; KENADY, D. E.: *Carcinoma of the lung and cigarette smoking. Effect on serum ribonuclease activity*. J. Am. Med. Assoc. 1978; 3239: 2.766-2.768.
- HUMPHREY, R. L.; KARPETSKI, T. P.; NEUWELT, E. A.; LEVY, C.: *Level of serum ribonuclease as an indicator of renal insufficiency in patients with leukemia*. Cancer Res. 1977; 37: 2.015-2.022.
- OERTEL, J.; GERHARTZ, H.: *Significance of metabolism parameters in Hodgkin's disease*. Zkrebsforsch. 1976; 86: 185-189.
- WARSHAW, A. L.; LEE, E. H.: *Serum ribonuclease elevations and pancreatic necrosis in acute pancreatitis*. Surgery, 1979; 86: 227-234.
- REDDI, K. K.: *Serum ribonuclease of normal persons and patients with renal impairment*. Clin. Chem. 1978; 11: 133-134.
- RABIN, E. Z.; ALGOM, D.; FREEDMAN, M. H.; GEUNTER, L.: *Ribonuclease activity in renal failure (evidence for toxicity)*. Nephron. 1981; 27: 254-259.

19. LABOW, R. S.: *Ribonuclease levels reflect renal functions.* Can. Med. Assoc. J. 1983; 128: 1.276.
20. PRABHAVATH, P.; MOHANRAM, P.; REDDY, V.: *Ribonuclease in plasma and leucocytes of malnourished children.* Clin. Chim. Acta, 1977; 79: 391-393.
21. SCOTT, P. H. et al.: *A critical assessment of plasma alkaline ribonuclease as an indicator of protein nutritional status in infancy.* Ann. Clin. Biochem. 1984; 21: 357.
22. BARDON, A.; SIERAKOWSKA, H.; SHUGAR, D.: *Purification and properties of human acid-thermostable ribonuclease and diagnosis of childhood parametric fibrosis.* Clin. Chim. Acta, 1976; 67: 231-243.
23. GAIH, W. A.; CHENEY, J.; PITOT, H. C.: *Serum ribonuclease levels in patients with cistic fibrosis.* Biochem. Med. 1978; 19: 294.
24. REDDI, K. K.; HOLLAND, J. F.: *Elevated serum ribonuclease in patients with pancreatic cancer.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1976; 73: 2.308-2.310.
25. WARSHAW, A. L.; LEE, K. H.: *Serum ribonuclease elevations and pancreatic necrosis in acute pancreatitis.* Surgery, 1979; 86: 227-234.
26. SCOTT, P. H.: *A method for the determination of alkaline ribonuclease (EC 3.1.4.22) activity in serum human.* Anal. Biochem. 1979; 100: 233-239.