

## ORIGINALES

### Estudio de la guanosín desaminasa sérica en hepatitis agudas víricas infantiles, ictericia fisiológica del recién nacido y sangre del cordón

RICO SÁNCHEZ, J.; HUESO PÉREZ J.; VALENTÍN SALINAS, C. y PÉREZ-SANDOVAL, D.

RESUMEN: Se estudia la guanosín desaminasa (GD), enzima involucrada en el metabolismo del DNA en un grupo de niños con hepatitis aguda vírica, ictericia fisiológica del recién nacido y sangre de cordón, frente a un grupo de niños normales. Encontramos elevada la actividad de GD en las hepatitis agudas ( $p < 0,001$ ), ligera elevación en la ictericia fisiológica del recién nacido y normal en la sangre de cordón. Puede ser un buen test de función hepática como diagnóstico y de seguimiento de la enfermedad. PALABRAS CLAVES: NUCLEÓXIDO DESAMINASA, HEPATITIS, ICTERICIA NEONATAL RECIÉN NACIDO.

STUDY OF GUANOSINE DEAMINASE IN INFANTILE VIRAL ACUTE HEPATITIS, PHYSIOLOGIC JAUNDICE OF NEWBORN AND CORD BLOOD. (SUMMARY): The guanosine deaminase (GD) is an enzyme involved in DNA metabolism. It was studied in groups of children with viral acute hepatitis, physiologic neonatal jaundice and cord blood, comparing them to a group of normal children. We found an increased activity of GD in acute hepatitis ( $p < 0,001$ ), mild increase in physiologic neonatal jaundice and normal values in cord blood. GD may be a good test of hepatic function for the diagnosis and the follow-up of disease. KEY WORDS: NUCLEOSIDE DEAMINASE, HEPATITIS, NEONATAL JAUNDICE, NEWBORN.

#### INTRODUCCIÓN

Se han hecho estudios sobre la utilidad y determinación de las enzimas involucradas en la interconversión en el metabolismo del DNA, la d-CMP desaminasa (EC 3.5.4.12), citidín desaminasa (EC 3.5.4.5) y guanosín desaminasa (EC 3.5.4.15) en el suero de embarazadas para la detección precoz de la preeclamsia toxémica, muerte intrauterina y hepatitis vírica durante el embarazo (1), también ha sido estudiada en la hipertensión esencial (2).

Se ha visto que una de estas enzimas, la guanosín desaminasa (GD), a diferencia

de la d-CMP desaminasa y citidín desaminasa, no está elevada en la preeclamsia toxémica ni en la muerte intrauterina, pero es de gran utilidad su determinación en ciertos grupos de hepatopatías, siendo un test más de la función hepática con capacidad para discriminar diversos trastornos del hígado.

En este trabajo queremos ver el comportamiento de esta enzima en los niños y de forma particular en la hepatitis aguda, como lo venimos haciendo con otras enzimas que tienen repercusión en la función hepática (3, 4). También estudiamos su actividad en la ictericia fisiológica del re-

cién nacido y en la sangre del cordón, aunque su interés es más secundario. Al mismo tiempo, pretendemos ver su comportamiento durante la evolución de la enfermedad y su relación con las otras enzimas estudiadas durante el mismo período de tiempo.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Estudiamos los siguientes grupos de población:

a) Un primer grupo control de 56 niños en edades de 2 a 12 años, a los que realizamos una analítica sistemática de sangre, con pruebas hepáticas, bilirrubina y proteinograma, para descartar una alteración hepática aguda o crónica.

b) Un segundo grupo de 25 niños con hepatitis aguda, en su mayoría durante la primera semana de la enfermedad y muchas de ellas fueron seguidas durante su evolución.

c) Un tercer grupo de 20 casos con ictericia fisiológica del recién nacido, con bilirrubinas totales entre 3 y 14 mg/dl.

d) Un cuarto grupo de 48 sangres de cordón, desechando aquéllas con hematocrito por debajo de la cifra normal o con bilirrubina alta.

#### TÉCNICA ANALÍTICA

Se siguieron las directrices de Jones y col. (5).

##### *Fundamento:*

La GD cataliza la desaminación oxidativa del grupo  $-NH_2$  de la guanosina con formación de  $-NH_4^+$ , el cual puede ser valorado por la reacción de Berthelot con hipoclorito, fenol y nitroprusiato sódico. Las

soluciones del complejo formado, de color verde, siguen la ley de Lambert-Beer.

##### *Reactivos:*

- Hipoclorito sódico, solución acuosa 60 gr/litro: 38 ml. solución de cloro 150 gr/litro, 50 ml de solución de sosa 6,5 gr/50 ml y agua hasta 100 ml. Colocar ambas soluciones en baño de hielo y echar la de sosa sobre la de cloro de forma lenta y agitando. Así se evita la formación de clorato.
- Reactivo de hipoclorito: NaOH 0,5 gr;  $PO_4HNa_2 \cdot 12 H_2O$ , 5,4 gr. Disolver en 80 ml de agua. Sol. hipoclorito 60 gr/litro 2,8 ml; agua hasta 100 ml.
- Reactivo fenol: Fenol 5 gr; nitroprusiato sódico 25 mg; agua hasta 500 ml.
- Buffer  $PO_4H_2K \cdot PO_4HNa_2$ , 0,15 Mol pH = 6,8.
- Suspensión de guanosina. Suspensión madre 28,2 mMol: Guanosina 80 mg y agua 10 ml. Solución de trabajo: diluir a la mitad la de trabajo con Buffer fosfato.
- Std. de  $-NH_4^+$ . Std 7,13 mMol de sulfato amónico 942,16 mg y agua hasta 1 litro. Std. de trabajo: diluir a la mitad con agua el anterior.

La técnica se esquematiza en la tabla I.

La concentración de la actividad catalítica de la enzima en el suero problema fue obtenida restando la absorbancia del blanco suero de la absorbancia de los problemas y leyendo la concentración de la actividad enzimática en la curva estándar.

Fueron descartados los sueros que presentaban hemólisis y las determinaciones procurábamos hacerlas el mismo día de la extracción y si no conservamos el suero en nevera a 4°C 24 horas o bien a -20°C que dura la actividad al menos 15 días.

TABLA I. CURVA DE CALIBRACION Y TECNICA

FASE PREVIA						
Tubos .....	1	2	3	4		
Std. de trabajo .....	0,25	0,50	0,75	1		
Agua .....	0,75	0,50	0,25	—		
Concentración NH <sub>3</sub> mU/1 .....	330	660	990	1320		
Conc. uMol NH <sub>4</sub> /1/minuto .....	356	713	1069	1426		

FASE DE REACCIÓN						
Trasvasar a tubos nuevos de los correspondientes anteriores						
Tubos .....	1	2	3	4	B. suero	Problema
Diluciones Std. ....	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—
Buffer fosfato .....	0,15	0,15	0,15	0,15	0,25	0,1
Suero .....	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Sustrato guanosina .....	—	—	—	—	—	0,15
Tapar los tubos. Reposo 2 horas a 22°C						
Reactivo fenol .....	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Reactivo hipoclorito .....	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Reposo 30 minutos a 37°C. Lectura a 625 nm frente a blanco suero.						
Lecturas DO por mil .....	190	367	545	690	—	—

*Nota:* caso de haber más de un problema, cada uno de ellos lleva su correspondiente blanco y los Std. deben ser tratados con un pool de sueros.

## RESULTADOS

Los valores de guanosín desaminasa en suero del grupo control de niños de 2 a 12 años fue de 66,5 mU /1  $\pm$  19,6, no encontrando cifras que se distancien mucho de la media normal.

En los casos de hepatitis aguda la cifra de actividad de la GD fue de 277 mU/1  $\pm$  87,6, que representa una significativa elevación, siendo la media aproximadamente cuatro veces la media de los controles, y en alguno de los casos estaba elevada nueve veces lo normal. Sin embargo en la ictericia fisiológica del recién nacido los valores medios fueron de 87,2 mU/1  $\pm$  28,9, que no se diferencia mucho de la cifra de los controles. En la sangre de cordón vemos una cifra media de 70,08

mU/1  $\pm$  22, que es muy semejante a la cifra normal.

En la figura 1, se aprecia con claridad la actividad de esta enzima (GD) en los cuatro grupos de niños estudiados, resaltando las cifras de los niños con hepatitis aguda sobre los otros tres grupos.

En la Tabla II estudiamos el coeficiente de correlación de las cifras de guanosín desaminasa en los distintos grupos de niños frente a los controles y entre sí, viendo que existe buen coeficiente entre las hepatitis agudas y las ictericias fisiológicas del RN con los controles ( $p < 0,001$ ). También existe correlación de la sangre de cordón con las hepatitis agudas y la ictericia fisiológica del RN, pero no con los controles.

TABLA II. VALORES DE GUANOSIN DESAMINASA

	Controles	Hepatitis aguda	Ictericia fisiológica del RN	Sangre de cordón
Controles	—	—	—	—
Hepatitis aguda	P < 0,001	—	—	—
Ictericia fisiológica	P < 0,001	P < 0,001	—	—
Sangre de cordón	NS	P < 0,001	P < 0,005	—

## COMENTARIOS

Nuestras cifras normales de actividad de la GD fueron de  $66,5 \pm 19,6$  mU/1. No coinciden con las de Jones y col. que encontraron entre 0-380 mU/1. Estas diferencias pueden ser debidas a las distintas condiciones experimentales y sobre todo, por el tiempo de maceración distinto que se ha utilizado.

En los casos de hepatitis aguda hemos encontrado que la actividad catalítica de la guanosín desaminasa en suero está muy elevada, encontrándola elevada por encima de la normal en todos nuestros casos estudiados, con cifras 6 y 8 veces la normal, por lo que creemos es de gran utilidad y especificidad como prueba de la función hepática en los casos de hepatitis aguda, como se revela en los casos estudiados en este trabajo.

En relación con la evolución de la enfermedad, la cifra de GD baja al mismo tiempo que desaparece la sintomatología clínica del enfermo y la bilirrubina se normaliza (Fig. 2). A las tres semanas se aprecia una fuerte caída y a los dos meses está dentro de los valores normales. Su comportamiento se parece al de las otras enzimas (GOT, GPT, ASAL, NAG) estudiadas en otros trabajos anteriores (Fig. 3).

Uno de los casos estudiados (Fig. 4) sufrió una recaída a las tres semanas, cuando ya estaban las cifras enzimáticas a

punto de normalizarse, entonces la GD sufrió una elevación otra vez, igualmente que las otras enzimas estudiadas GOT y GPT, pero su elevación persistió muy alta hasta el tercer mes, cuando las otras enzimas ya estaban normalizadas, siendo la última toma de sangre a los seis meses y aún persistía sin normalizarse. Según este resultado es una enzima que además de ser específica en el diagnóstico de las hepatitis agudas, también responde con elevación en casos de recaída del paciente, persistiendo su elevación sobre las otras enzimas estudiadas conjuntamente.

Nuestros resultados coinciden con los encontrados por los autores citados anteriormente (5), que también vieron elevada la cifra de GD en las hepatitis agudas y en las metástasis hepáticas, pero no en la cirrosis alcohólica, cirrosis hepática o ictericia obstructiva, para estos autores es una de las enzimas más interesantes como ayuda al diagnóstico diferencial en las hepatopatías.

En el grupo de ictericia fisiológica hemos encontrado una cifra de GD de 87,2 mU/1, que se diferencia muy poco de los controles. Las cifras de bilirrubina halladas no influyen sobre la actividad de esta enzima. En el grupo de sangres de cordón la cifra fue de 70,08 mU/1, prácticamente igual que los controles, no parece que influya el hematocrito y la hemoglobina que son altos en esta sangre de cordón.

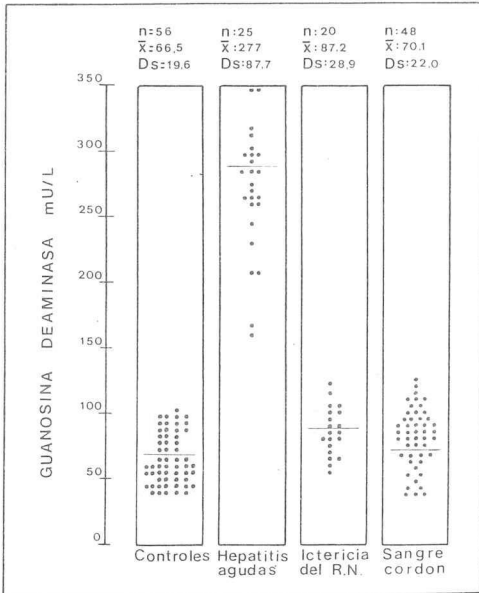


FIG. 1. Estudio del valor medio y desviación estándar de la actividad de guanósín desaminasa en las hepatitis agudas, ictericia fisiológica del recién nacido y sangre de cordón, frente a los controles.

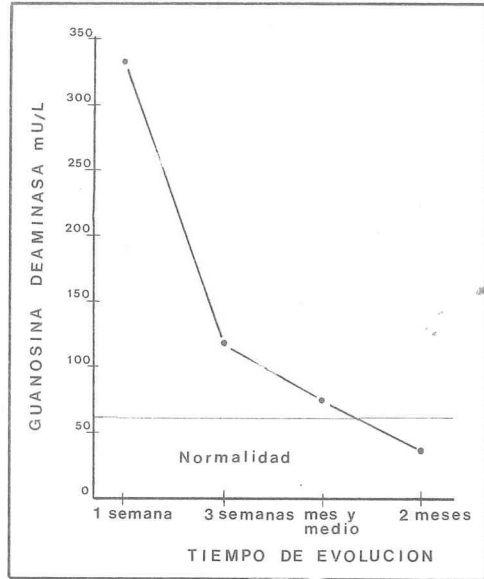


FIG. 2. Respuesta que sigue la guanósín desaminasa durante la evolución favorable de la hepatitis aguda.

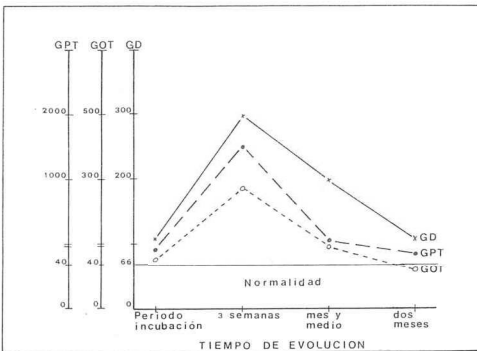


FIG. 3. Estudio de la actividad de la guanósín desaminasa y transaminasas en un caso de hepatitis aguda en período de incubación.

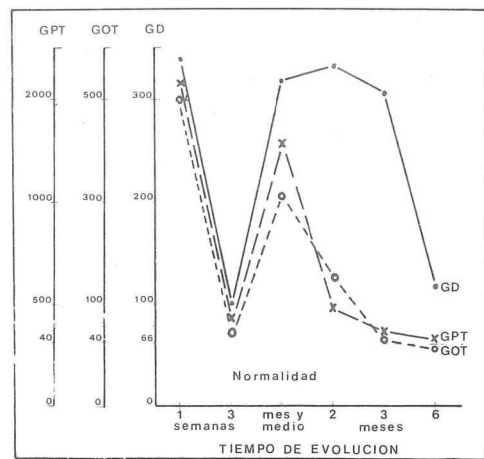


FIG. 4. Evolución de la guanósín desaminasa frente a las transaminasas en un caso de hepatitis aguda recidivante a la tercera semana de tratamiento.

La diferencia que existe entre las dos enzimas, citidín desaminasa y guanosín desaminasa, que las dos presentan elevada su actividad en el suero de las hepatitis agudas, es que la primera tiene una alta actividad en los leucocitos y de GD no se detecta actividad.

La técnica de guanosín desaminasa

descrita aquí por nosotros, creemos que es sencilla y factible de realizar en un Laboratorio Clínico Hospitalario como prueba de función hepática, confiando en que pueda ser un test discriminatorio entre los distintos grupos de enfermedades hepáticas y dentro de un mismo grupo.

#### BIBLIOGRAFIA

1. WILLIAMS, C. F.; JONES, D. D. Deoxycytidylate deaminase in pregnancy. *Br. Med. J.* 1975; 2: 10-12.
2. JONES, D. D.; BAHJRS, S.; ROBERTS, E. L. Activity of serum cytidine deaminase during pregnancy. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 1982; 89: 314-317.
3. PÉREZ-SANDOVAL, D.; GARCÍA GARCÍA, A.; VICENTE RODRÍGUEZ, P.; SALAZAR VILLALOBOS, V. Arginino succinato liasa (ASAL) en ictericia fisiológica del recién nacido y hepatitis aguda. *Bol. Soc. Cast. Ast. Leon. Pediatr.* 1974; 65: 11-27.
4. HUESO PÉREZ, J.; RICO SÁNCHEZ, J.; VALENTÍN SALINAS, C. y PÉREZ-SANDOVAL, D. Alteraciones de la N-acetil-beta-D-glucosaminidasa sérica en las hepatitis agudas infantiles y en la ictericia fisiológica del recién nacido. *Bol. Soc. Cast. Ast. Leon. Pediatr.* (en prensa).
5. JONES, D. D.; ROBERTS, E.; DAVERS, A. G. The estimation of serum guanosine deaminase activity in liver disease. *J. Clin. Chem. & Clin. Biochem.* 1983; 12: 835-840.