

ACTIVIDAD DE LA ANHIDRASA CARBONICA ERITROCITARIA EN RECIEN NACIDOS A TERMINO Y PREMATUROS

INSTITUTO DE HEMATOLOGIA E INMUNOLOGIA

Lic. Alina Gutiérrez Campo*, Lic. Mirna García Meneses*, Dra. René González San Pedro**,
Lic. Marianela Estrada del Cueto* y Lic. Bruno Colombo*

Gutiérrez Campo, A. et al.: Actividades de la anhidrasa carbónica eritrocitaria en recién nacidos a término y prematuros.

Se determinaron los valores normales de actividad enzimática de anhidrasa carbónica eritrocitaria en adultos ($\bar{x} \pm 1$ DE: $6546,4 \pm 1272,4$ U/10⁷ hematíes), recién nacidos a término ($\bar{x} \pm 1$ DE: $1694,8 \pm 1092,9$ U/10⁷ hematíes) y prematuros (menos de 34 semanas $\bar{x} \pm 1$ DE: $1025 \pm 873,2$ y más de 34 semanas $\bar{x} \pm 1$ DE: $1420,6 \pm 471,3$), así como el comportamiento evolutivo en recién nacidos y prematuros de distintas edades gestacionales. Los prematuros con síndrome de *distress* respiratorio al nacer presentaron valores de anhidrasa carbónica muy bajos en comparación con los obtenidos en los grupos controles, por lo que se sugiere que la determinación de anhidrasa carbónica es útil para el diagnóstico de esta enfermedad.

INTRODUCCION

Entre las proteínas eritrocitarias, la hemoglobina y la anhidrasa carbónica (AC) son las que se encuentran presentes en mayor concentración. La AC está compuesta por una cadena polipeptídica con un peso molecular aproximado de 30 000 y un átomo de zinc por molécula, el cual es esencial para su actividad catalítica.¹

La AC cataliza diversas reacciones *in vitro* como son la hidratación de algunos aldehídos, la hidrólisis de ésteres carboxílicos, sulfónicos y carbónicos, pero la reacción más importante desde el punto de vista biológico es la hidratación reversible del CO₂ a ácido carbónico;¹ por lo que controla la liberación del CO₂ durante la circulación de la sangre a través de los capilares pulmonares.

Los glóbulos rojos humanos contienen 2 isoenzimas de la AC; I (B) y II (C)² que se pueden separar por electroforesis y difieren en actividad y concentración. La AC I tiene una concentración 5 veces mayor que la AC II, pero una actividad específica 4 veces menor.

Se han observado alteraciones de AC en adultos con tirotoxicosis, hipotiroidismo y anemia megaloblástica por deficiencia de vitamina B₁₂.³

La actividad en recién nacidos es proporcional a la edad gestacional y aumenta después del nacimiento hasta alcanzar los valores normales del adulto a los 3 años de edad

* Licenciado en Bioquímica.

** Especialista de II Grado en Hematología. Investigadora Titular.

aproximadamente. Algunos autores han encontrado relación entre el bajo contenido eritrocitario de esta enzima en los recién nacidos y algunos aspectos clínicos como la regulación del balance ácido-básico que es particularmente inestable en esta edad y la fisiopatología del síndrome de *distress* respiratorio en el cual, la actividad de AC se encuentra marcadamente disminuida.⁴

En este trabajo se determinaron los valores normales de actividad enzimática de AC en adultos, recién nacidos a término y prematuros de distintas edades gestacionales. Estos valores se compararon con los obtenidos en prematuros que presentaron el síndrome de *distress* respiratorio al nacer.

MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 30 recién nacidos a término del Servicio de Maternidad del Hospital "Enrique Cabrera", 31 prematuros de diferentes edades gestacionales del Hospital Materno-infantil "Eusebio Hernández" y 30 donantes del Banco de Sangre del Hospital "Enrique Cabrera".

Se extrajo sangre del cordón a los recién nacidos en el momento del nacimiento, a los prematuros sangre capilar del talón dentro de las primeras 6 horas de nacidos y a los donantes por punción venosa, utilizando heparina como anticoagulante.

En el estudio de seguimiento se realizaron extracciones semanales durante el primer mes; quinquenales el segundo mes y mensuales hasta los 6 meses de edad.

Los glóbulos rojos se lavaron con solución salina fisiológica a 4 °C. Las determinaciones de la actividad enzimática se realizaron dentro de las 24 horas siguientes a la extracción.

El material utilizado para la determinación se mantuvo en HNO₃ durante 24 horas y el agua empleada fue desionizada y bidestilada.

La técnica utilizada para determinar la actividad enzimática fue la siguiente: en un tubo de ensayo colocado en baño de hielo y con agitación magnética se añadió:

1. 2 mL de agua o hemolizado 1: 1 000.
2. 0,4 mL de solución amortiguadora veronal 0,2 M pH 8,2.
3. 0,5 mL de timol-veronal (5 mg de timol/mL de solución amortiguadora diluida 8 veces).
4. 1,5 mL de solución saturada de CO₂ que se obtuvo por el burbujeo de CO₂ en agua. El CO₂ se produjo por la reacción entre el carbonato de calcio y el ácido clorhídrico y se efectuó en un aparato de Kipp.

El tiempo necesario para el cambio de color se determinó con un cronómetro.

Este tiempo en segundos referido a 10⁷ células representa las unidades arbitrarias de actividad enzimática.

Este método es una modificación realizada en nuestro laboratorio de la técnica colorimétrica de Livery.⁵

La electroforesis se realizó en gel de almidón (solución amortiguadora tris-EDTA-borato pH 8,6) y la enzima se visualizó con amido Black.

RESULTADO Y DISCUSION

La actividad enzimática de los recién nacidos a término correspondió a un rango de 601,9-2 787,7 U/10⁷ hematíes mientras que en los adultos fue de 5 286-7 824,8 U/10⁷

hematíes. En los prematuros de menos de 34 semanas el rango fue de 151,8-1 898,2 U/10⁷ hematíes mientras que en los de más de 34 semanas fue de 949,3-1 891,9 U/10⁷ hematíes. Estos resultados concuerdan con los descritos en la literatura.⁴

Se realizó la electroforesis a 23 recién nacidos normales a término. En 15 no se apreciaron las bandas correspondientes a la AC y en el 35,1 % (8 casos) se vieron trazas de la enzima. Aquellos casos con trazas de AC correspondieron a los recién nacidos con los valores más altos de actividad.

No se conoce la causa por la cual en los recién nacidos las isoenzimas I y II de la AC eritrocitaria están en tan poca cantidad en comparación con el adulto. Sin embargo, se ha demostrado que existe una relación inversamente proporcional entre la concentración de isoenzima I y la hemoglobina fetal, de modo que la activación de la biosíntesis de la AC puede corresponder con la transformación de la hematopoyesis de tipo fetal a adulto.⁶

En estudios realizados con la hemoglobina se demostró que el cambio de tipo fetal a adulto ocurre por un patrón complejo de desaparición de la hemoglobina fetal con una meseta de 2 a 3 semanas y un decrecimiento lineal posterior.⁷

En la figura 1 se observa la distribución de actividad enzimática de AC *versus* edad gestacional de los recién nacidos a término y prematuros, así como la media en cada grupo de edad gestacional. Se aprecia un aumento de la actividad a partir de las 32 a 34 semanas, o sea, a mayor inmadurez del recién nacido, menor es la actividad de AC, aunque no es posible utilizar esta determinación para delimitar la edad gestacional debido a que esta técnica es semicuantitativa.

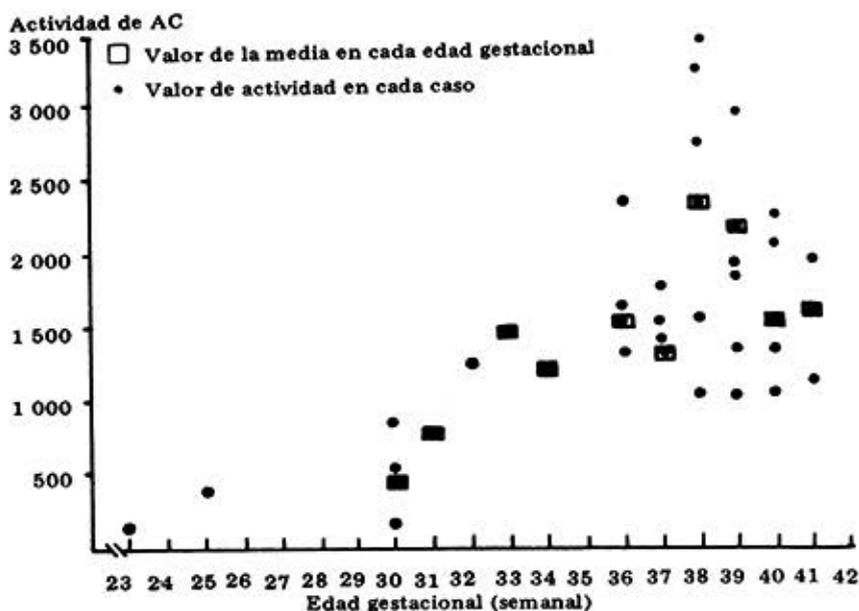


Figura 1. Valores de la actividad de anhidrasa carbónica (AC) en prematuros y recién nacidos al nacimiento.

El comportamiento evolutivo de los valores medios de la actividad de AC en el grupo de prematuros desde el nacimiento hasta los 5 meses se observa en la figura 2, donde se puede apreciar un aumento lineal hasta las 42 semanas ($r = 0,609$, $p < 0,01$).

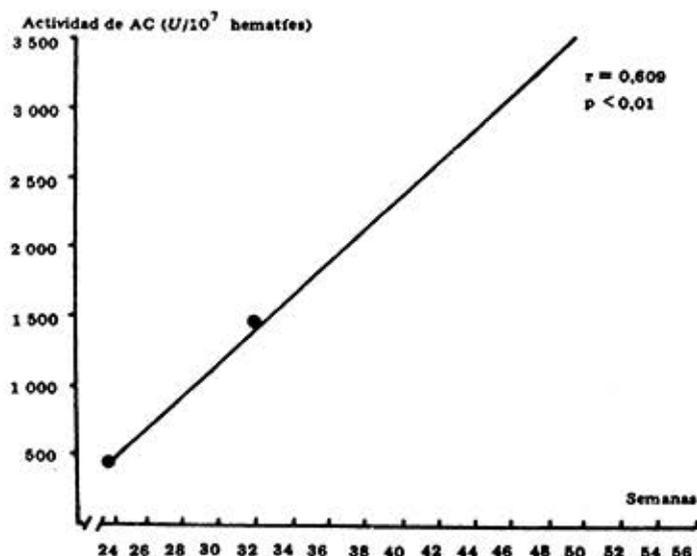


Figura 2. Valores en media de la actividad de anhidrasa carbónica (AC) en prematuros a distintas edades.

El estudio del incremento de la actividad en el mismo niño a diferentes edades mostró una gran variabilidad individual (figuras 3 y 4). En la mayoría de los casos se observa que entre la segunda y cuarta semana después del nacimiento la actividad aumenta muy poco, y a partir de este momento se produce un incremento hacia los valores de adulto. Este comportamiento no se observa en la figura 2 por las variaciones individuales ya discutidas.

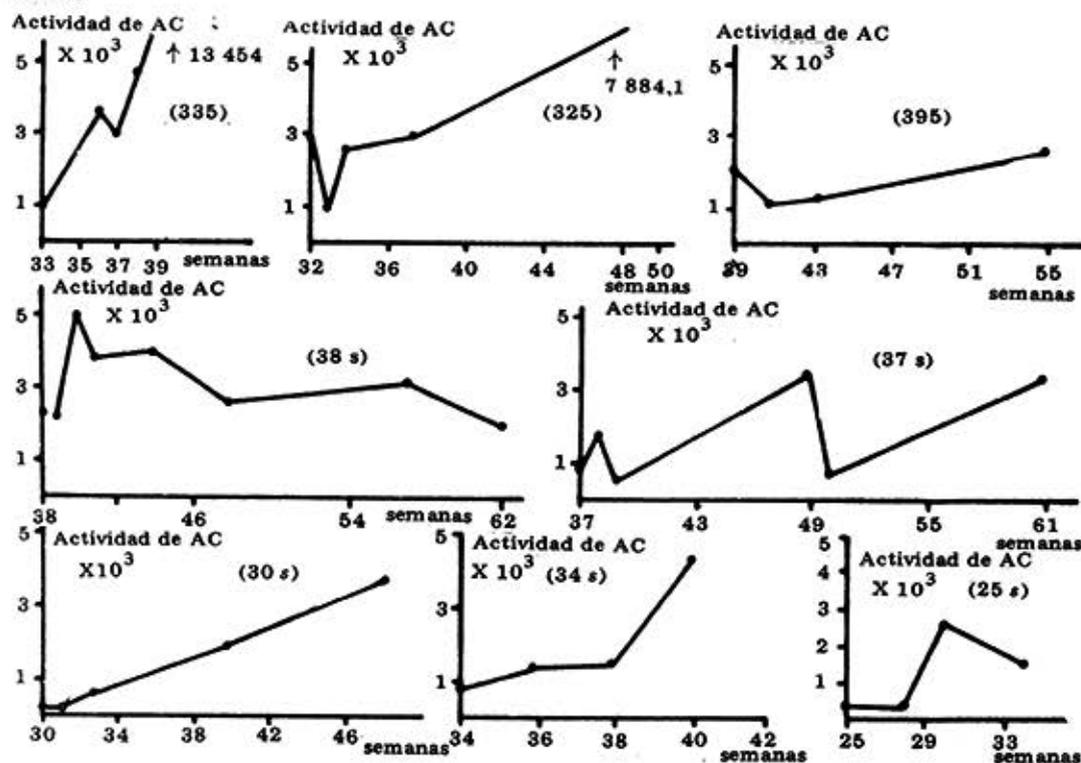


Figura 3. Seguimiento individual de anhidrasa carbónica (AC) en recién nacidos y prematuros.

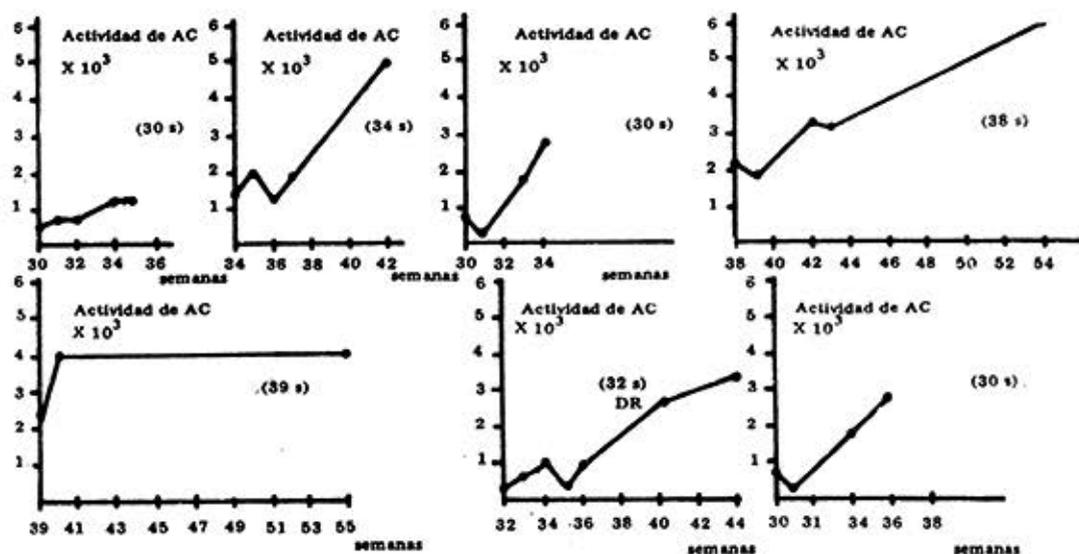


Figura 4. Seguimiento individual de anhidrasa carbónica (AC) en recién nacidos y prematuros.

En la tabla se muestran los valores de AC eritrocitaria en los distintos grupos estudiados. Se observa una deficiencia marcada de AC en los casos de *distress* respiratorio, con valores incluso más bajos que los prematuros sin esta enfermedad, lo que concuerda con lo planteado por otros autores.

Tabla. Valores de anhidrasa carbónica eritrocitaria

	Adultos	Recién nacidos a término	Prematuros		
			Edad gestacional (semanas)		
Controles			32	34	35
	6 546,4 ± 1 716,9	1 694,8 ± 1 092,9	698 - 2 858	519,5 - 2 548	441 - 3 530
(N)	(30)	(30)	(3)	(8)	(9)
Distress respiratorio	-	-	19,8 314,2 416	314,4	29,2
(N)			(3)	(1)	(1)

Los resultados de este trabajo permiten plantear que la determinación de la actividad enzimática de AC en recién nacidos con distintas edades gestacionales constituye una prueba útil para el diagnóstico del *distress* respiratorio ya que en esta enfermedad los niveles se encuentran marcadamente disminuidos. Consideramos que sería importante realizar estudios posteriores para conocer si existe relación entre la velocidad de incremento de la actividad de AC y la evolución del cuadro clínico en estos pacientes.

SUMMARY

Gutiérrez Campo A. et al.: *Activity of red cell carbonic anhydrase in preterm and at term newborn infants*

Normal values of enzyme activity of red cell carbonic anhydrase were determined in adults ($\bar{x} \pm 1$ DE: 6546,4 \pm 1272,4 U/10⁷ red blood cell), at term newborns ($\bar{x} \pm 1$ DE: 1694,8 \pm 1092,9 U/10⁷ red blood cell) and preterm newborns (less than 34 weeks $\bar{x} \pm 1$ DE: 1025 \pm 873,2 and more than 34 weeks $\bar{x} \pm 1$ DE: 1420,6 \pm 471,3) as well as evolutive behaviour in newborns and preterm infants of different gestational age. Preterm infants with respiratory distress syndrome at birth presented very low carbonic anhydrase values in comparison with values obtained in control groups, therefore, it is suggested that the determination of carbonic anhydrase is useful for the diagnosis of such disease.

RÉSUMÉ

Gutiérrez Campo, A. et al.: *Activité de l'anhydrase carbonique érythrocytaire chez des nouveau-nés à terme et prématurés.*

Détermination des valeurs normales de l'activité enzymatique de l'anhydrase carbonique érythrocytaire chez les adultes ($\bar{x} \pm 1$ ET: 6546,4 \pm 1272,4 U/10⁷ hématies), chez les nouveau-nés à terme ($\bar{x} \pm 1$ ET: 1694,8 \pm 1092,9 U/10⁷ hématies) et les prématurés (moins de 34 semaines $\bar{x} \pm 1$ ET: 1025 \pm 873,2 et plus de 34 semaines $\bar{x} \pm 1$ ET: 1420,6 \pm 471,3), ainsi que du comportement évolutif chez des nouveau nés et des prématurés avec différents âges gestationnels. Les prématurés atteints de détresse respiratoire à la naissance, ont présenté des valeurs d'anhydrase carbonique très faibles en comparaison avec celles obtenues chez les groupes de contrôles; aussi considère-t-on que la détermination de l'anhydrase carbonique est utile pour le diagnostic de cette maladie.

BIBLIOGRAFIA

1. Wyeth, P.; H. Prince: Carbonic anhydrase. Inorganic perspectives. Biol Med 1: 37, 1977.
2. Tashian, R. E. et al.: Inherited variants of human red cell carbonic anhydrase. Hemoglobin 4(5-6): 635, 1980.
3. Weatherall, D. J.; P. A. Mc Yntyre: Developmental and acquired variations in erythrocyte carbonic anhydrase isoenzymes. Br J Haematol 13: 106, 1967.
4. Kleisman, L. I. et al.: Carbonic anhydrase isoenzymes in infants with respiratory distress syndrome. Am J Dis Child 124, 1972.
5. Liversy, D. L.: On the colorimetric method of assaying carbonic anhydrase (EC 4.2.1.1). Anal Biochem 77: 552, 1977.
6. Ruiz Reyes, G. et al.: Anhidrasas carbónicas eritrocíticas y hemoglobina A₂ en recién nacidos a término y prematuros. Bol Med Hosp Infant Mex XXVII: 447, 1970.
7. Colombo, B. et al.: The pattern of fetal hemoglobin disappearance after birth. Br J Haematol 32: 79, 1976.

Recibido: 29 de julio de 1986. Aprobado: 11 de diciembre de 1986.

Lic. Alina Gutiérrez Campo. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, Ciudad de La Habana 8, Cuba.