

ISOZIMAS DEL SISTEMA TRANSAMINASA GLUTAMICO-
OXALOACETICO EN EL PERIODO NEONATAL*

DR. JESÚS KUMATE**
DRA. ELBA MENDOZA**
DR. LÁZARO BENAVIDES V.**

LA POSIBILIDAD de que una actividad enzimática radique en proteínas con características físico-químicas diferentes dentro de un mismo individuo fue adelantada desde 1948 por Warburg en relación a enzimas originadas en diversos órganos, y la primera observación de formas múltiples de una enzima procedente de un órgano fue la de Nielsens¹ en 1952 al demostrar que la deshidrogenasa láctica cristalizada de corazón bovino podía separarse en 2 componentes mediante electroforesis; en 1953 Krebs² registró la observación de que en levadura la fracción con actividad 3-glicer aldehído fosfato deshidrogenasa podía separarse en 4 componentes con cargas eléctricas diferentes y precipitación selectiva con ácidos nucleicos. Desde entonces se han estudiado muchos otros sistemas enzimáticos demostrándose la existencia de especies proteicas diversas dentro de la misma actividad genérica enzimática.³ El término "isozimas" ha sido propuesto por Markeret y Möller⁴ para designar las formas isodinámicas de aquellas enzimas derivadas del mismo órgano pero con propiedades físicas y químicas diferentes.

En el sistema de transaminasa glutámico-oxaloacética Fleischer, y asoc.⁵ mediante el empleo de adsorbentes del tipo CM-celulosa y DEAE celulosa a pH 7.0, han obtenido 2 componentes, lo que sugiere cargas eléctricas opuestas y en pruebas cinéticas se ha encontrado que la enzima catiónica tiene mayor afinidad que la aniónica hacia aspartato en presencia de concentraciones óptimas de alfa-cetoglutarato y lo inverso hacia este cetoácido ($K_M = 2.48$ y 0.7×10^{-3} M/L a pH 6.0 y 7.4 para la catiónica vs. 38.4 y 11.9×10^{-3} M/L de la aniónica); usando pruebas a pH 6.0 y 7.4 y concentraciones limitantes de aspartato a pH

* Trabajo de Sección (Química Biológica) realizado con la ayuda del Fondo RF-61091 y presentado en la sesión ordinaria del 31 de octubre de 1962.

** Departamento de Infectología (Sección de Inmunoquímica).

6.0 se han podido cuantificar las fracciones isozímica designadas por I y II; su aplicación en lesión hepática experimental en perros ha servido para demostrar que el aumento periférico deriva básicamente de la enzima I.

Córdoba y asoc.⁶ han obtenido separaciones similares en transaminasa G0 a través de antisueros obtenidos de preparaciones fraccionadas en gel de almidón; la materia prima ha sido miocardio e hígado humano, de mono (*Macacca cynomologus*) así como hígado de cerdo.

El recién nacido exhibe peculiaridades en el sistema de transaminasa glutámico-oxaloacética consistentes en niveles plasmáticos 3 ó 4 veces superiores al lactante mayor o adulto;^{7,8} el mecanismo de dicha elevación no ha sido explicado satisfactoriamente, pero en presencia de una inmadurez hepática "fisiológica" que se traduce por niveles subnormales de albúmina, colinesterasa,⁹ actividad conjugante,¹⁰ etc., no parece lógico adscribir la elevación de transaminasa a sobreproducción de tales enzimas.

La posibilidad de una relación madre-hijo que determine los niveles del producto en función de la actividad materna nos pareció importante de estudiar con objeto de analizar tales relaciones así como conocer la evolución de los valores de esa actividad enzimática en los primeros días de vida del neonato y poder valorar el significado de sus valores en este período; asimismo la discriminación de la enzima G0 en las fracciones I y II de Fleischer permitió aclarar la participación de ambos componentes en las modificaciones observadas en el suero.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cuarenta y dos madres y sus productos en el momento del parto; las muestras de sangre se obtuvieron por punción venosa en la madre y del cordón en los hijos. Los partos se realizaron por vía vaginal y la evolución del embarazo fue normal.

En 10 casos se tomaron muestras de sangre (por punción de yugular externa) de los niños al salir de la Maternidad (3º-4º día).

La determinación de la actividad transaminásica G0 se realizó según la técnica de Karmen y asoc.¹¹ en donde se mide la producción de ácido oxaloacético a partir de aspártico mediante la conjugación de una actividad enzimática extra: la deshidrogenasa málica que reduce al producto inicial al ácido málico mediante consumo de DPNH cuya desaparición es medida a 340 m μ y sirve para cuantificar el oxaloacetato generado por el sistema transaminante.

La discriminación entre fracción I y II se realizó por la técnica de Fleischer^{5, 12} en la que se determina la actividad a pH 7.4 y 6.0 en presencia de concentraciones óptimas de ácido alfaetoglutarico (2×10^{-2} M/L) y variables de aspártico (5×10^{-3} M a pH 6.0 y 1×10^{-1} M/L a pH 7.4).

Tomando en cuenta que las relaciones $\frac{7.4}{6.0}$ de las enzimas I y II en sus formas

más purificadas son de 0.544 y 0.027 la participación de ambos sistemas se pudo

calcular por la fórmula
$$R \frac{6.0}{7.4} - 0.026$$

$$\frac{0.465 - 0.026}{0.465 - 0.026} \quad 100 = \% \text{ de la enzima II; como la}$$
 actividad o pH 7.4 puede considerarse como la suma de ambas la composición relativa se determina por simple resta.

Resultados:

En las 42 madres examinadas se encontró:

Transaminasa G0-I: 4.01 unidades $\pm$ 5.34 (19.0%).

Transaminasa G0-II: 17.04 unidades $\pm$ 4.38 (81.0%).

Transaminasa G0-total: 21.05 unidades $\pm$ 5.4.

En los 42 hijos se tuvo:

Transaminasa G0-I: 4.87 unidades $\pm$ 6.27 (18.4%).

Transaminasa G0-II: 21.64 unidades $\pm$ 12.77 (81.6%).

Transaminasa G0-total: 26.5 unidades $\pm$ 13.9.

En 10 recién nacidos en los que se determinó la actividad enzimática al 3º-4º día se obtuvo:

Transaminasa G0-I: 7.6 unidades /ml (15.2%).

Transaminasa G0-II: 42.3 unidades/ml (84.8%).

Transaminasa G0-total: 49.9 unidades/ml.

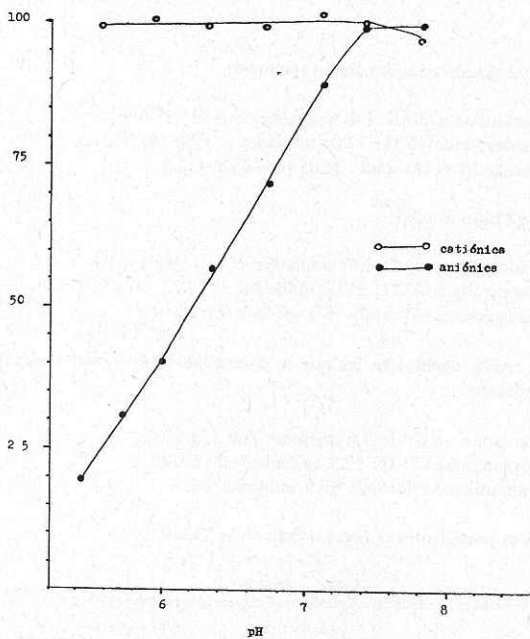
Los datos precedentes se han fundido en la Tabla 1.

TABLA 1

	Nº de casos	TRANSAMINASA G0 unidades*ml $\times$ minuto		
		I	II	Total
Madres	42	4.01	17.04	21.05
Hijos (cordón)	42	4.87	21.64	26.51
Hijos (3º-4º día)				

* 1 unidad = — 0.001 de densidad óptica.

ACTIVIDAD DE ISOZIMAS(TGO) DE MIOCARDIO
% de actividad máxima



ISOZIMAS GLUTAMICO-OXALOACETICAS SERICAS EN MADRES/HIJOS

	Nº de casos	TRANSAMINASAS G-O: (unidades/ml × minuto)*		
		I	II	Total
Madres	42	4.01 (19.0%)	17.04	21.05
Hijos (cordón)	42	4.87 (18.4%)	21.64	26.51
Hijos (3º-4º día)	10	7.60 (15.2%)	42.30	49.90

* 1 unidad = Δ 0.001 de D.O. (densidad óptica).

La comparación entre los valores maternos y los correspondientes a los productos reveló que:

- No hay diferencia significativa entre las actividades de G0-I ($p > 0.8$).
- Hay diferencia real entre los valores de G0-II ($p < 0.025$).
- Idem. con los niveles de actividad total ($p < 0.05$). Las diferencias en los neonatos entre los valores al nacimiento y al 3º-4º día son significativas en ambas fracciones ($p < 0.02$).

Se verificó la posibilidad de correlación lineal entre los valores maternos y los de cordón encontrándose que:

No hay asociación entre las actividades de TG0-I; II o las actividades totales.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en nuestra exploración muestran que desde el momento del nacimiento se encuentran diferencias significativas entre madre e hijos (niveles más elevados en el último) a expensas de la fracción II; cierta indicación al respecto había sido hecha por Kove et al.^{7,8} en 1958 al estudiar la actividad glutámico-oxaloacética y glutámico-pirúvica en el suero de 63 recién nacidos (algunos al nacimiento y otros hasta de 7 días de edad); se encontró que había tendencia hacia valores fuera de la variación normal del adulto y que persistía durante por lo menos la 1ª semana de vida. En nuestra serie de comparación entre la actividad en cordón y la exhibida 3-4 días después (determinadas simultáneamente previa conservación de la original a -30°C) reveló que en 9/10 ocasiones hubo aumento significativo de ambas fracciones de casi 100%. Parece evidente que desde el nacimiento, en el producto, existen valores aumentados de la fracción II, elevación que se hace más aparente en los siguientes 3-4 días alcanzando cifras del doble en relación a la original. Un dato importante es que en todas esas alteraciones se conserva la misma proporción de las 2 porciones enzimáticas i.e. II 82% y I 18%; esta relación difiere de la encontrada en animales. v.gr. perro,

en donde II nunca pasa del 16% y en condiciones normales puede ser casi 0; en nuestros cálculos hemos utilizado los valores de afinidad mostrados por las enzimas del miocardio humano en base a la similitud encontrada por Fleischer entre los sistemas enzimáticos de hígado y miocardio que serían los 2 órganos principales de donde derivarían las isozimas presentes en plasma. Aún con el grado implícito de inexactitud en tales suposiciones, las conclusiones no pueden afectarse en forma radical ya que la actividad medida a pH 7.4 con 1×10^{-1} M/L de aspartato, se determinan ambas porciones y a pH 6.0 con $5. \times 10^{-3}$ M/L se cuantifica casi exclusivamente la fracción II.

El que no haya una correlación significativa entre los valores maternos y las del producto sugieren que el desarrollo de dicha actividad enzimática es independiente y aparentemente no hay base para sostener procesos de transferencia durante la gestación; el aumento de la actividad en el cordón y su elevación en los siguientes 3-4 días fue un fenómeno general que no puede atribuirse a peculiaridades del parto y entre las posibilidades para explicarlo cabría señalar permeabilidad anormal de células hepáticas o sincicio miocárdico los primeros días de vida o bien eliminación deficiente de esas proteínas plasmáticas por inmadurez renal.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se estudió la actividad de transaminasa glutámico-oxaloacéticas I y II de Fleischer en el suero de 42 madres y sus productos en el momento del parto. En los recién nacidos se hicieron determinaciones posteriores al 39-49 día.

Los resultados obtenidos señalan valores significativamente elevados (20% mayores) en sangre de cordón y elevaciones aún mayores (240%) al cabo de 3-4 días en relación a los niveles maternos. La proporción de ambas isozimas se mantuvo constante en todas las situaciones (20% de fracción I y el resto la II).

No se encontró correlación entre la actividad materna y la del producto en las 2 isozimas estudiadas así como en la actividad total de madres-hijos.

Dentro de las posibilidades discutidas para explicar dichos aumentos se sugieren como viables un aumento en la permeabilidad hepática así como depuración deficiente a nivel renal y se descarta tentativamente un proceso de transferencia placentaria.

REFERENCIAS

1. Niclands, J.B.: *Studies on lactic dehydrogenase of heart. I. Purity, kinetics, and equilibria.* J. Biol. Chem. 199:373-381 (1952).
2. Krebs, E.G.: *Yeast glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. I. Electrophoresis of fractions precipitated by nucleic acid.* J. Biol. Chem. 200:471-478 (1953).
3. Wroblewski, F., et al.: *Multiple molecular forms of enzymes.* Ann. N. Y. Acad. Sc. 94:655-1030 (1961).
4. Markert, C.L., y Moller, F.: *Multiple forms of enzymes: Tissue, ontogenetic, and species specific patterns.* Proc. Nat. Acad. Sci. 45:753-763 (1959).
5. Fleischer, G.A.; Potter, C.S., y Wakim, K.G.: *Separation of 2 glutamic-oxaloacetic*

- transaminases by paper electrophoresis*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103:229-231 (1960).
6. Córdoba, F.; González, C.; Ortega, G.M., y Pérez, A.: *Separación y propiedades inmunológicas de algunas transaminasas glutámico-aspártico de mamíferos*. I. Reunión Anual Soc. Mex. Bioquímica (1962), pp. 1-17.
 7. Kove, S.; Goldstein, S., y Wróblewski, F.: *Activity of glutamic-oxaloacetic transaminase in the serum in the neonatal period*. Pediatrics 20:584-589 (1957).
 8. Kove, S.; Goldstein, S., y Wróblewski, F.: *Measurement of activity of transaminases in the serum as an aid in differential diagnosis of jaundice in the neonatal period*. Pediatrics 20:590-600 (1957).
 9. Lehman, H.; Cook, J., y Ryan, E.: *Pseudocholinesterase in early infancy*. Proc. Roy. Soc. Med. 50:147-150 (1957).
 10. Dutton, G.J.: *The mechanism of glucuronide formation*. Biochem. Pharmacol. 6:65-71 (1961).
 11. Karmen, A.: *A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum*. J. Clin. Invest. 34:131-133 (1955).
 12. Fleischer, G.A., y Wakim, K.G.: *Presence of two glutamic oxalacetic transaminases in serum of dogs following acute injury of the liver*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med 106:283-286 (1961).