

ISOENZIMAS DE LA DESHIDROGENASA LACTICA EN LA HEPATITIS VIRAL "A"

E. Brilla*, E. Barrantes*, V. Villarejos**, C. Visoná**

Key Word Index: LDH, Isoenzymes, hepatitis A, blood donors.

Resumen

En el estudio de 67 pacientes con hepatitis A, se analizó la banda cinco de la deshidrogenasa láctica (DHL₅, electroforesis), comparativamente con los anticuerpos precipitantes ADN y la alanina aminotransferasa. De seis casos estudiados durante el período prepatente, todos mostraron elevación de anticuerpos ADN en suero y en cinco se demostró hiperactividad sérica en DHL₅ antes que las transferasas, lo que hace pensar que la DHL₅ es un recurso útil para valorar procesos inflamatorios hepáticos incipientes, así como en la exclusión de donadores peligrosos en bancos de sangre. En un grupo testigo normal (61 individuos), se encontró que la DHL₅ constituye del 2,7 — 13,7 por ciento del total de actividad de la enzima. En cuatro individuos de la población sana estudiada (6,5 por ciento) se sobrepasó el valor margen de referencia para la DHL₅. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1983; 4(2):27—32].

Introducción

El estudio de diversos perfiles enzimáticos y serológicos es de gran utilidad en el diagnóstico y prognosis de las hepatitis virales (1, 7), por lo que constituye el principal marco de referencia para establecer posibilidades diagnósticas concretas.

La determinación de la actividad de la deshidrogenasa láctica total (DHL) ha ocupado tradicionalmente un papel secundario en la valoración de pacientes con hepatitis viral, dado que se la considera poco sensible o inespecífica. Sin embargo, el estudio de las isoenzimas de la deshidrogenasa láctica, ofrece mejores perspectivas diagnósticas, dada su organoespecificidad y sensibilidad (3). Debido a la dificultad para obtener sueros de enfermos con hepatitis antes de que el padecimiento sea clínicamente evidente, no se conoce con certeza el momento de aparición de hiperactividad sérica de bandas "específicas" de la DHL, ni sus interrelaciones con otros parámetros séricos u inmunológicos. Por ello, su importancia diagnóstica en la hepatitis viral aguda no ha sido bien establecida.

El presente trabajo se realizó con la finalidad de hacer una comparación de la variación de valores de la DHL₅ con respecto a otros parámetros séricos e inmunológicos en la hepatitis viral A. Además, se trató de demostrar la importancia de la determinación de los niveles de esta isoenzima en el diagnóstico temprano de la enfermedad.

* Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología, Departamento de Análisis Clínicos.

** Louisiana State University, International Center for Medical Research and Training, San José, Costa Rica.

Material y métodos

Las muestras se obtuvieron en una zona de alta endemicidad de hepatitis, como investigación paralela a estudios epidemiológicos que se realizan desde 1966, en los cantones de San Ramón y Palmare, valle agrícola de la provincia de Alajuela, Costa Rica (8, 9, 11).

Los familiares de los pacientes que sufrieron hepatitis, fueron observados clínicamente y mediante análisis de laboratorio durante su posible período de incubación, con el fin de detectar casos secundarios.

De todos los pacientes calificados como "secundarios", se recolectó de dos a seis muestras seriadas a intervalos semanales. Debido a la dispersión geográfica de la población estudiada, al gran número de contactos que se siguieron y a otras dificultades de tipo técnico, sólo a seis de los casos secundarios se les obtuvo muestras de sangre en el periodo prepatente.

El número total de casos secundarios detectados fue de 67, caracterizados de acuerdo con algunos de los siguientes parámetros clínicos y de laboratorio: presencia de ictericia, fiebre, heces acólicas, orina colúrica, hiperactividad sérica de isoenzimas DHL (Banda 5) y de alanina aminotransferasa (ALT), elevación de anticuerpos ADN de una hélice y seroconversión por anticuerpos asociados al virus de la hepatitis A. Todos los casos cursaron sin complicaciones.

Se efectuó una separación electroforética de la actividad de DHL de acuerdo a la técnica de Neremberg, modificada por Brilla (3). Las placas de electroforesis fueron interpretadas por inspección visual directa. Se realizó densitometría a la que demostraron ligera hiperactividad en la banda cinco (Quick-Scan Vis, Helena Laboratories, Beaumont, Texas). En cada placa de corrida se inoculó de cuatro a siete muestras y un suero control normal, que sirvió de referencia a la lectura. Se consideró como hiperactivos, aquellos sueros que mostraron actividad en banda cinco superior al 14 por ciento del total de la enzima. De estos, se valoró con 4⁺ aquellos sueros con DHL₅ superior al 30 por ciento de la actividad total DHL. Sueros que presentaron actividades del 14 al 18 por ciento se tabularon dudoso(±).

Se determinó el nivel de alanina aminotransferasa sérica E.C. 2.6.1.2. (anteriormente transaminasa glutámico-pirúvica) por el método de Reitman Frankel (6) con reactivos Sigma Chemical Company (Saint Louis, Missouri). El límite superior normal es 45 U/ml.

Los anticuerpos precipitantes de ADN fueron titulados por contrainmuno-electroforesis según técnica de Villarejos *et al.* (10). Se aceptó como límite superior normal el de 80 µ/ml, según el mismo autor.

La presencia de antígeno B de superficie (HBsAg) fue determinada por radioinmunoanálisis (RIA) (Ausria II, Abbott Laboratories, North Chicago, III).

Los anticuerpos contra virus A de hepatitis (anti/HAV) fueron determinados por inmunoadherencia según la técnica de Miller *et al.* (4).

Resultados

En la Figura 1 se presenta, comparativamente, el nivel promedio de la banda cinco de la deshidrogenasa láctica ("hepática") y los títulos de anticuerpos ADN y niveles de ALT. A pesar del escaso número de muestras disponibles en el período pre-patente, es importante señalar que en cinco de los seis casos estudiados, los valores DHL₅ (Banda

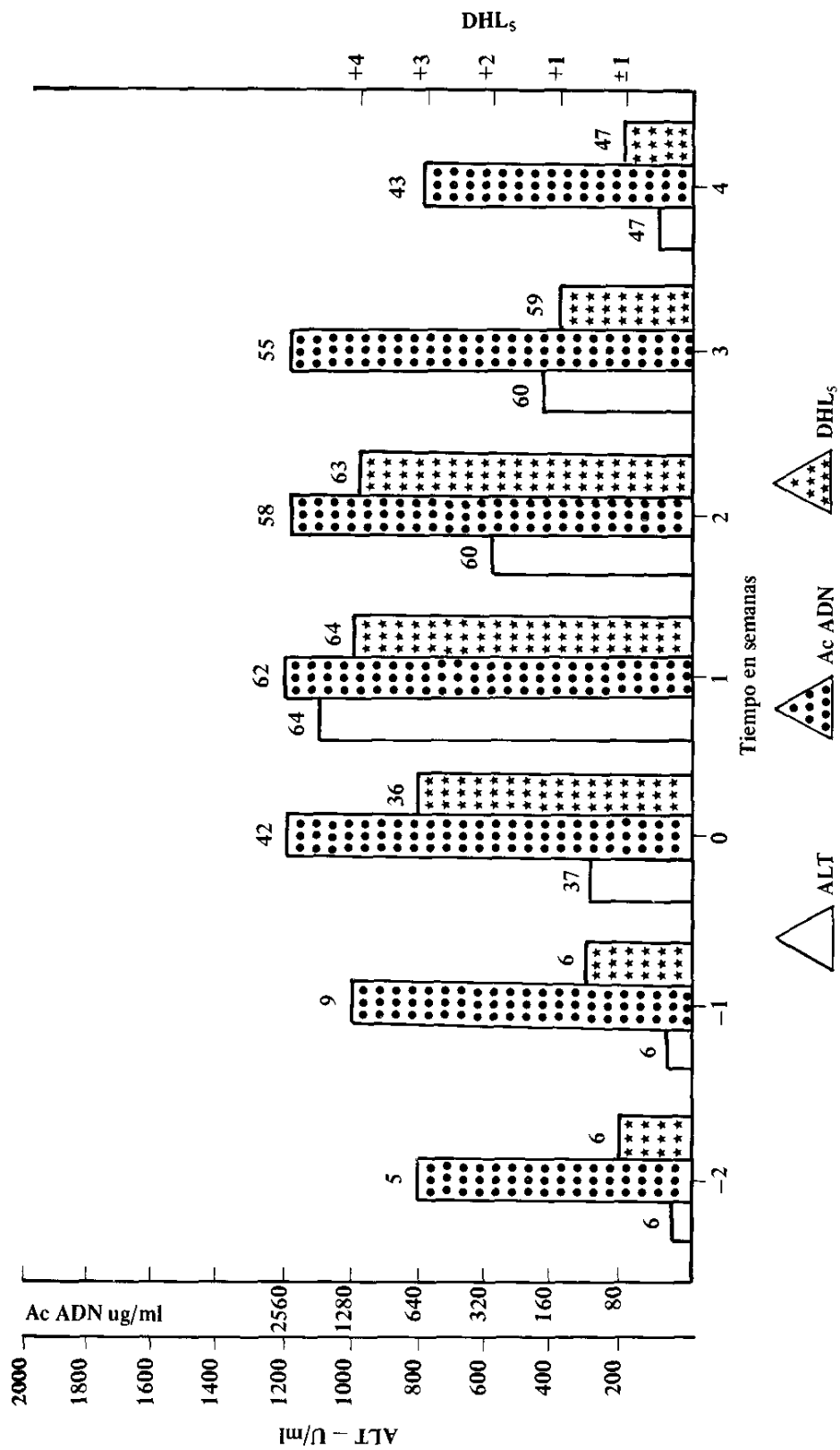


Figura 1. Números sobre las columnas indican muestras analizadas.

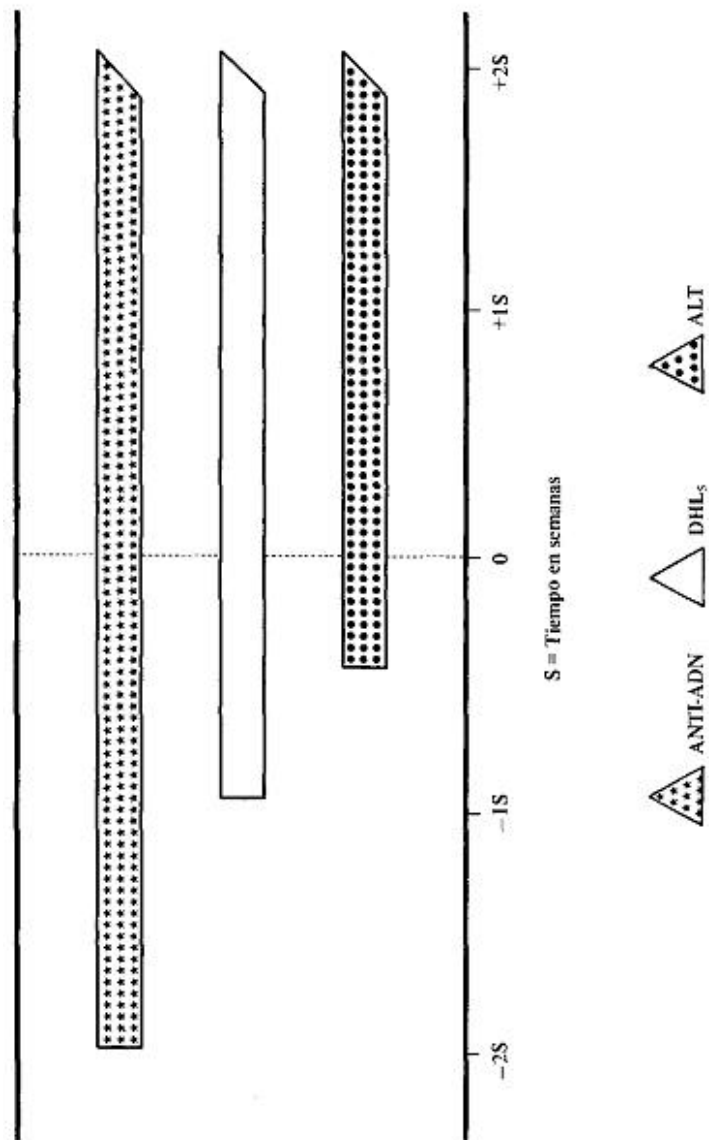


Figura 2. Relación cronológica de la hiperactividad DHL₅ con la elevación de niveles de ALT y ANTI-ADN.

“hepática”) fueron positivos antes que las transferasas. Todos los sueros de este grupo fueron hiperactivos en la banda 5 desde el inicio del período patente.

En la Figura 2 se presenta el estudio, en forma aislada, de los seis casos secundarios de hepatitis “A” observados en el período prepatente. Se observa en cinco de los pacientes moderada hiperactividad en DHL₅ (15—20 por ciento del total de la enzima), de una a dos semanas antes del inicio clínico. La hiperactividad se incrementó conforme las muestras se aproximaron al desborde clínico.

El estudio de 61 individuos aparentemente sanos, de uno y otro sexo, entre los 20 y 48 años de edad muestra un promedio aritmético DHL₅ como porcentaje del total de la actividad de la enzima de 8,2 por ciento, con un ámbito de 2,7—13,7 por ciento si se toman dos desviaciones estándar a partir del promedio. Un 6,5 por ciento de las personas mostraron una frecuencia de DHL₅ superior al 14 por ciento del total de la actividad de la enzima. Los valores obtenidos con este grupo testigo coinciden con lo reportado en la literatura (5). La presencia de hiperactividad en la banda 5 como hallazgo ocasional en población sana (6,0%), no permite asegurar, en el estudio de contactos, que el fenómeno mencionado sea indicativo de que el paciente está desarrollando una hepatitis; sin embargo, si esta evidencia se acompaña de un aumento por anticuerpos ADN, el resultado ofrece fuertes sospechas de lesión hepática incipiente y posible apertura a un caso secundario.

Discusión

Es conocido que en la hepatitis viral se produce un significativo incremento de anticuerpos anti ADN (una élíce) antes que las transferasas se muestren hiperactivas (10). Aunque los anticuerpos ADN son inespecíficos, si el aumento de estos va acompañado de hiperactividad sérica de la DHL₅, se obtiene una más fuerte evidencia de que el paciente se encuentra en el estado prepatente de una hepatitis viral clínica o subclínica.

Las isoenzimas DHL, analizadas en la perspectiva mencionada, se constituyen en un elemento más sensible que las transferasas (“transaminasas”) en la valoración de procesos inflamatorios incipientes, lo que significa, además, que se dispone de un parámetro de enorme valor en los bancos de sangre, junto a los estudios convencionales.

Debido a que la exclusión del donador peligroso por hepatitis, en bancos de sangre, se realiza mediante pruebas que detectan el virus B de la hepatitis (HBV), se ha presentado un gran aumento en la hepatitis no A, no B postransfusional, de la cual no se conocen con certeza sistemas antígeno-anticuerpo para el diagnóstico serológico.

Al presente, el modelo recomendable para tamizar en banco de sangre, comprende (2): a) el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg); b) los anticuerpos anti-“core” (anti-HBc), usualmente presentes en el intervalo de tiempo entre la desaparición del EIBsAg y la aparición de anticuerpos contra el virus B (anti-HBs); y c) transferasas, para la detección de procesos inflamatorios o necróticos con posible asiento en el hígado.

De acuerdo con este estudio, las isoenzimas DHL se constituyen en un valioso elemento para la detección de casos secundarios en período prepatente, y consecuentemente la exclusión de donadores peligrosos con hepatitis incipientes, de particular utilidad en la prevención de la hepatitis “no A — no B” postransfusional.

ABSTRACT

In a study of 67 patients with hepatitis A, the lactic dehydrogenase band 5 (LDH₅) was analyzed in serum, in comparison with alanine transaminase and anti-DNA antibodies. All six cases studied during the prepatent period, had elevated anti-DNA, and five showed activity of LDH₅ earlier than the transaminase, suggesting that this would be a useful tool for evaluating incipient inflammation of the liver and for exclusion of dangerous blood donors. In a normal control group (61 subjects), the LDH₅ constituted 2,7- 13,7 percent of the total activity of the enzyme. In 6,5 percent of the healthy group studied, the LDH₅ value exceeded the base reference value.

Bibliografía

1. Argeri, N. J., Credaro, C. N., Argeri, C. B. Posibilidades actuales en la explosión biológica del hígado. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 1978, 12(4):331— 338.
2. Bernstein, L. M. *et al.* The hepatitis knowledge base. *Annals of Internal Medicine*. 1980; 93(1):165 —222.
3. Brilla, E., Brilla, A., Visoná, C. Estudio enzimático en el Infarto Agudo del Miocardio. *Act. Méd. Cost.* 1978; 21(4):339—345.
4. Miller, W. J., Provost, P. J., McAller. Specific immuno-adherence assay for human hepatitis A Antibody: Application to diagnostic and epidemiologic investigations. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 1975; 149:254—262.
5. Nereberg, S. T. *Electrophoretic Screening Procedures*. Philadelphia: Lea and Febiger. 1973; pp. 106—114.
6. Reitman, S., Frankel, S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic puruvic transaminases. *Am. J. Clin. Path.* 1957; (28): 56—62.
7. Sher, P. Diagnostic Effectiveness of Biochemical Liver-Function Tests, as Evaluated by Discriminant Function Analysis. *Clin. Chem.* 1977, 23(4):627—630.
8. Villarejos, V. M., Gutiérrez, A., Anderson—Visoná, K., Rodríguez, A., Provost, P. J., Hilleman, R. Development of Immunity Against Hepatitis by Subclinical Infection. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1976; 153:205—208.
9. Villarejos, V. M., Gutiérrez, A., Pelon, W. Identification of a Type B Hepatitis Epidemic in Costa Rica. *Am. J. Epidemiol.* 1972; 98(5):372—378.
10. Villarejos, V. M., Arquembourg, P. C., Visoná, K. A. and Gutiérrez, A. Antibodies to Single— Stranded DNA: An aid in diagnosis of viral hepatitis. *J. Med. Virology.* 1978; 2:359—367.
11. Villarejos, V. M., Pelon, W., Picado, B., Ortiz, J. G., Jiménez, R., Navas, H. Epidemiologic Investigation of an outbreak of infectious hepatitis in Costa Rica. *Am J. Epidemiol.* 1966; 84(3): 457—466.