

## Artículo original

## Determinación de valores de referencia de colinesterasa plasmática e intraeritrocitaria en niños de una población hospitalaria

Dres. María B. Guerra\*, Elda G. Cargnel\*, Viviana Osta\*\*, María E. Osinde\*\* y Juan C. Schkair\*\*\*

### RESUMEN

**Introducción.** Las colinesterasas plasmática e intraeritrocitaria son enzimas caracterizadas por grandes fluctuaciones interindividuales e intraindividuales, reflejadas en amplios rangos de normalidad. Esto ocasiona dificultades en la interpretación de los resultados, si no se dispone de valores basales previos del paciente. Debido a los escasos datos en la bibliografía y a la ausencia de ellos en el plano nacional, el objetivo fue determinar valores de referencia para las colinesterasas plasmática e intraeritrocitaria en la población que consulta en el Hospital de Niños "Dr. R. Gutiérrez".

**Población, material y métodos.** Se seleccionaron 158 niños y adolescentes que concurren al Servicio de Cirugía del Hospital de Niños "Dr. R. Gutiérrez", para realizar tratamiento quirúrgico electivo y programado. La colinesterasa plasmática se determinó por el método de Knedel y Bottger que utiliza butiriltiocolina como sustrato y la acetilcolinesterasa por un método cinético con acetilcolina como sustrato (método de Ellman), previo lavado y lisado de glóbulos rojos.

**Resultados.** Para la colinesterasa intraeritrocitaria, la mediana fue de 7.823 UI/l de glóbulos rojos; los percentilos 2,5 y 97,5 correspondieron a actividades de 6.056 y 10.320, respectivamente. Para la colinesterasa plasmática se obtuvo una mediana de 11.591 UI/l y actividades de 7.689 y 15.056 para los percentilos 2,5 y 97,5. No se encontró correlación con la edad, ni diferencia significativa entre ambos sexos.

**Conclusión.** Consideramos fundamental determinar valores de referencia en nuestra población para la correcta interpretación de los niveles de acetilcolinesterasa y colinesterasa plasmática en caso de exposición a tóxicos o fármacos que puedan afectar la actividad de estas enzimas o para la detección de variantes atípicas.

**Palabras clave:** acetilcolinesterasa, butirilcolinesterasa, valores de referencia.

### SUMMARY

**Introduction.** Plasmatic and intraerythrocytic cholinesterases are enzymes characterized by important inter- and intraindividual fluctuations, that are reflected in wide levels of normality. Therefore, the interpretation of results becomes very difficult if basal values of the patient are not available.

Due to a shortage of data in the bibliography and, particularly at a national level, the objective of this investigation was to establish reference values for plasmatic and intraerythrocytic cholinesterases for the population who attended to the Hospital de Niños "Dr. Ricardo Gutiérrez".

**Population, material and methods.** One hundred and fifty eight children and adolescents, who attended to the surgery service of the Hospital de Niños "Dr. Ricardo Gutiérrez" were selected to perform programmed and elective surgical interventions. Plasmatic cholinesterase was determined by Knedel and Bottger method that uses butyrylcholine as a substrate and acetylcholinesterase was determined by a kinetic method with acetylcholine as a substrate (Ellman's method), with previous wash and lysate of erythrocytes.

**Results.** The median value for intraerythrocytic cholinesterase was 7,823 IU/l erythrocytes, with percentiles 2.5<sup>th</sup> and 97.5<sup>th</sup> corresponding to activities of 6,056 and 10,320, respectively.

The median value of plasmatic cholinesterase was 11,591 IU/l, with activities of 7,689 and 15,056 for percentiles 2.5<sup>th</sup> and 97.5<sup>th</sup>. No significant correlation was found with age or gender.

**Conclusion.** We consider essential to establish reference values in our population for a proper interpretation of acetylcholinesterase and plasma cholinesterase levels in case of exposure to poisons or drugs that might affect the activity of these enzymes or for the detection of atypical variants.

**Key words:** acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, reference values.

\* Unidad de Toxicología.

\*\* Laboratorio Central.

\*\*\* Servicio de

Anestesiología.

Hospital General de Niños "Dr. Ricardo Gutiérrez".

Correspondencia:

Dra. María Beatriz Guerra  
toxiguti@yahoo.com.ar

Aclaración de intereses:

El trabajo fue realizado con recursos propios de la Unidad de Toxicología y del Laboratorio Central del Hospital.

### INTRODUCCIÓN

Los primeros estudios sobre un factor capaz de hidrolizar la acetilcolina y sus implicancias a nivel del sistema nervioso central (SNC) datan de 1914 y 1921, respectivamente.<sup>1</sup> Stedman, quien encontró actividad colinesterásica en sangre, denominó colinesterasas a ese factor en 1932.<sup>2</sup> Con posterioridad se describió la existencia de dos colinesterasas: una eritrocitaria, también denominada verdadera o acetilcolinesterasa (ACE) y otra plasmática, pseudo-colinesterasa o butirilcolinesterasa (CE).

La principal función de la ACE es la hidrólisis rápida de la acetilcolina liberada en las terminaciones nerviosas, mediando la transmisión del impulso neural en la sinapsis,<sup>3</sup> pero aún se desco-

noce la función fisiológica exacta de la CE.

Según Sanz y Repetto, que revisaron aproximadamente 2.500 publicaciones relacionadas con el tema, aún continúan apareciendo discrepancias bibliográficas, tanto en los aspectos clínicos como en las interpretaciones de los resultados del laboratorio toxicológico, sobre los niveles esperados de estas enzimas.<sup>1</sup>

Tanto la colinesterasa plasmática como la intraeritrocitaria son enzimas caracterizadas por sus grandes fluctuaciones interindividuales e intraindividuales, reflejadas en los amplios rangos de normalidad habitualmente aceptados. Esta circunstancia ocasiona dificultades para la interpretación clínico-bioquímica de los resultados si no se dispone de, por lo menos, un valor basal previo del paciente.

Hay dos situaciones que alteran los valores de la colinesterasa plasmática. Una de ellas es de origen genético y la otra por exposición a sustancias tóxicas o medicamentosas. En la primera, la colinesterasa, por su estructura atípica, es incapaz de hidrolizar la succinilcolina, con las consecuencias que esto implica para el paciente expuesto a la anestesia. En el segundo caso, la actividad de la enzima se ve inhibida, ya sea por exposición a tóxicos ambientales o por la administración de alguna medicación que disminuye o inhibe la actividad de la colinesterasa.

El gen que codifica la CE ha sido aislado y secuenciado. La biosíntesis de la enzima está controlada por el locus denominado E, que se localiza en el cromosoma 3. Existen 4 genes alélicos: E<sup>u</sup> (usual), E<sup>a</sup> (atípico), E<sup>f</sup> (fluoruro resistente) y E<sup>s</sup> (silente, sin actividad de CE en plasma) que dan origen a las cuatro variantes principales de la CE: normal, resistente a la dibucaína, resistente a fluoruro y silente. Actualmente se conocen por lo menos tres variantes alélicas más, pertenecientes al mismo locus E: E<sup>H</sup>, E<sup>K</sup> y E<sup>J</sup>, sin embargo no se conoce exactamente su significación clínica.<sup>4,6</sup>

Hasta el momento no se han identificado variantes genéticas de la ACE en seres humanos. La detección de la variante atípica de la CE se puede realizar utilizando butirilcolina como sustrato en presencia de dibucaína 10 µM y el porcentaje de inhibición se expresa como número de dibucaína (ND).

Los individuos con una CE estructuralmente normal tienen un ND mayor a 70, aquellos homocigotas con dos genes para la variante atípica resistente a la dibucaína tienen un

ND menor a 30 y la forma heterocigota presenta un ND entre 40 y 70 (aproximadamente un 3% de la población).

El conocimiento de cada una de estas variantes es importante, ya que tienen repercusión clínica evidenciada por la distinta sensibilidad ante fármacos utilizados en anestesia como la succinilcolina y el suxametonio.

Desde el punto de vista toxicológico, como estas enzimas se alteran por múltiples causas, es de gran interés clínico contar con valores de referencia pediátricos, debido a los escasos datos en la bibliografía y a su ausencia en el plano nacional. Además, el amplio rango de normalidad de los valores de las colinesterasas es explicable parcialmente por causas genéticas. Es por ello que existen muchos interrogantes acerca de su función fisiológica que no permiten una correcta interpretación y aplicación al diagnóstico. Esta circunstancia ocasiona dificultades para la interpretación clínico-bioquímica de los resultados, fundamentalmente en los casos de intoxicaciones agudas por compuestos organofosforados, donde no se dispone de valores basales previos del paciente. Por el contrario, consideramos que sería de utilidad contar con un valor basal de colinesterasa en caso que el paciente deba ser sometido a anestesia.

En el año 2000, la Unidad de Toxicología del Hospital de Niños "Dr. Ricardo Gutiérrez" recibió 1.825 consultas por intoxicación y exposición a insecticidas organofosforados y carbamatos, que representaron el 5% del total de las consultas toxicológicas.

La determinación de CE es útil para detectar tempranamente los efectos agudos de la intoxicación por compuestos organofosforados, mientras que la detección de la ACE intraeritrocitaria es útil para evaluar exposición crónica o pasada.

El conocimiento de los valores de referencia obtenidos a partir de una población pediátrica nos permitirá aplicarlos a la interpretación de cuadros clínicos vinculados a la toxicología (intoxicaciones por compuestos organofosforados y carbamatos) y a la anestesiología (reanimación posquirúrgica). Este recurso contribuirá a optimizar la terapéutica y el seguimiento de los pacientes con estos cuadros tóxicos así como a prevenir los accidentes anestésicos vinculados con los fármacos metabolizados por la colinesterasa. Asimismo, consideramos de fundamental importancia la determinación de la

CE, ya que su deficiencia congénita no produce signos ni síntomas clínicos excepto en los casos en que se administran estos fármacos.

El objetivo de este estudio fue determinar valores de referencia para las colinesterasas plasmática e intraeritrocitaria en la población que consulta en el Hospital de Niños "Dr. Ricardo Gutiérrez", para lo que se consideró la influencia de factores endógenos (sexo, edad) y exógenos (medicamentos, pesticidas, estados patológicos).

## POBLACIÓN, MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron 158 niños y adolescentes que concurren al Servicio de Cirugía del Hospital General de Niños "Dr. Ricardo Gutiérrez" durante el período setiembre 2000 marzo 2001, para realizar tratamiento quirúrgico electivo y programado que no implicaba compromiso del estado general (hernias inguinales, fimosis, criptorquidia, etc.). En todos los casos se obtuvo el consentimiento escrito de los padres para la inclusión del niño en el estudio y la aprobación del diseño del trabajo por el Comité de Docencia e Investigación de nuestro hospital.

Se diseñó y aplicó una ficha de recolección de datos en la que se registró: edad, sexo, peso y talla del paciente, procedencia (rural o urbana), contacto con plaguicidas en el hogar o de uso industrial o rural, antecedentes personales o familiares de síntomas compatibles con intoxicación con plaguicidas, antecedentes quirúrgicos, reacciones a la anestesia en el paciente o familiares de primer grado y medicación concomitante.

Se excluyeron pacientes con traumatismo o patologías preexistentes como nefropatía, alteraciones metabólicas, pacientes medicados con ácido acetilsalicílico y medicamentos inhibidores de la placa neuromuscular, como los antibióticos aminoglucósidos.

No se incluyeron pacientes con anemia o con desnutrición (peso y/o talla por debajo del percentilo 3 según las tablas del Programa de Maternidad e Infancia, Ministerio de Salud de la Nación). Se midieron niveles de transaminasas, fosfatasa alcalina y albúmina para descartar patología hepática que pudiera alterar los valores de colinesterasa plasmática.

La actividad de CE se determinó por un método colorimétrico que utiliza butiriltio-colina como sustrato (método de Knedel y Bottger) a 37° C en un autoanalizador Hitachi

912 (Roche). La ACE se determinó manualmente por un método cinético que utiliza acetilcolina como sustrato (método de Ellman) a 25° C, previo lavado y lisado de glóbulos rojos.

*Análisis estadístico:* Para el manejo de los datos se construyó una base de datos utilizando el programa Access para Windows, en el que se consignaron los datos obtenidos en el interrogatorio, medidas antropométricas y datos de laboratorio. Debido a que los valores de CE y ACE no presentaron una distribución normal se utilizó la mediana como medida de tendencia central y los percentilos 2,5 y 97,5 para determinar el rango de referencia en nuestra población. Se aplicó la prueba de Chauvenet para excluir los valores extremos de los niveles de ambas colinesterasas, que presentan muy baja frecuencia en la población y que podrían haber influido sobre el promedio y la dispersión de la muestra.

## RESULTADOS

De los 158 niños seleccionados, 9 se excluyeron del análisis por haberse obtenido sólo un valor de las colinesterasas y no ambos por problemas en la técnica de extracción.

De los 149 pacientes estudiados, 122 (81%) fueron de sexo masculino y 27 (19%) de sexo femenino. La edad media fue de  $5,6 \pm 3,5$  años (rango: 1 a 16 años). El 66% de la muestra estudiada se ubicó en el grupo etario de entre 3 y 9 años.

La mayoría de los niños procedían de áreas urbanas, principalmente del conurbano bonaerense y de la ciudad de Buenos Aires.

Se realizaron 120 determinaciones de colinesterasa intraeritrocitaria y 141 de colinesterasa plasmática, de las cuales se excluyeron 8 y 3 casos, respectivamente, luego de aplicar la prueba de Chauvenet.

Para la colinesterasa intraeritrocitaria, la mediana fue de 7.823 UI/l glóbulos rojos; el percentilo 2,5 fue de 6.056 UI/l de glóbulos rojos y el percentilo 97,5, de 10.320 UI/l de glóbulos rojos. En el caso de la colinesterasa plasmática, la mediana fue de 11.591 UI/l; el percentilo 2,5 fue de 7.689 UI/l y el percentilo 97,5, de 15.056.

En la *Tabla 1* se muestran los valores de referencia obtenidos en nuestra población.

No se encontró correlación significativa con la edad en el rango de edades estudiado.

No se encontraron diferencias significati-

vas en los valores de ambas colinesterasas entre los dos sexos (Tabla 2).

**CONCLUSIÓN**

Se determinaron los valores de referencia de colinesterasa intraeritrocitaria y de colinesterasa plasmática en la población estudiada.

TABLA 1. Valores de colinesterasa intraeritrocitaria y plasmática en la población evaluada

	Colinesterasa intraeritrocitaria (UI/litro de glóbulos rojos)	Colinesterasa plasmática (UI/I)
N	112	138
Mediana	7.823	11.591
DE	1.191	1.964
Valor mínimo	6.000	7.316
Valor máximo	11.294	16.291
Percentilo 2,5	6.056	7.689
Percentilo 5	6.153	8.151
Percentilo 95	9.987	14.899
Percentilo 97,5	10.320	15.056

TABLA 2. Valores medios de colinesterasa intraeritrocitaria y plasmática según sexo

	Varones	Mujeres	p
CE (UI/I)	11.621 ± 4.266	11.199 ± 4.397	> 0,05
ACE (UI/1 de GR)	7.698 ± 2.923	7.546 ± 2.438	> 0,05

Los valores se expresan como media ± 2 DE.  
CE=seudocolinesterasa o butirilcolinesterasa.  
ACE= acetilcolinesterasa.

TABLA 3. Estados patológicos que modifican los niveles de CE y ACE

CE	ACE
<b>Producen aumento:</b>	
Hiperlipoproteinemia	Neumonía aguda
Obesidad	Epilepsia
Síndrome nefrótico con hiperlipoproteinemia en niños	Hipotiroidismo
	Enfermedad de Hirschsprung
	Glomerulonefritis
	Fibrilación ventricular
<b>Producen disminución:</b>	
Desnutrición	Hipertiroidismo
	Hemoglobinuria paroxística esencial
	Miopatías

CE=seudocolinesterasa.  
ACE= acetilcolinesterasa.

No se encontraron diferencias entre ambos sexos.

**DISCUSIÓN**

La colinesterasa sérica o plasmática, denominada también pseudocolinesterasa, se sintetiza en el hígado y se encuentra en el plasma, hígado, cerebro (sustancia blanca), intestino, páncreas, riñón, adipocitos, piel y sus glándulas exocrinas y músculo estriado y liso. Si bien puede hidrolizar la acetilcolina, se desconoce su verdadera función fisiológica. La acción enzimática es variable según la especie y tendría actividad metabolizante y detoxificante.

La colinesterasa intraeritrocitaria hidroliza específicamente a la acetilcolina y se encuentra en los eritrocitos, tejido nervioso (sustancia gris del cerebro), músculo esquelético, eritrocitos, hígado, páncreas, bazo y riñón. Tiene una acción enzimática muy semejante en distintas especies. Su función más conocida es la hidrólisis rápida de la acetilcolina liberada en las terminaciones nerviosas.

Los valores de colinesterasas se encuentran dentro de un amplio rango de normalidad, con variaciones intraindividuales e interindividuales. Además, hay que considerar que los valores de referencia para estas enzimas varían de acuerdo con el método (sustrato) y la temperatura a la cual se mide su actividad. Por este motivo siempre es conveniente especificar el método utilizado y los rangos de referencia, para permitir la comparación entre distintos centros y facilitar la interpretación de los resultados.

Los coeficientes de variación intraindividuales oscilan entre 7 y 11% para cada enzima, con fluctuaciones máximas de 20 a 25% en personas sanas.

Los valores normales de CE varían con la edad, el sexo, la grasa corporal, los niveles de lípidos y lipoproteínas plasmáticas y el embarazo. Los recién nacidos presentan un valor de CE de aproximadamente el 50% de la concentración normal del adulto y se incrementan hasta alcanzar los valores de referencia del adulto en la pubertad. La ACE no tiene diferencia de género y a partir del primer año de edad, el niño tiene iguales valores que el adulto.

En el líquido amniótico, la presencia de actividad de ACE y los niveles elevados de alfafetoproteína se consideran evidencia presuntiva de un defecto en el tubo neural del feto. En un estudio colaborativo británico



se demostró que 99,5% de los embarazos asociados con anencefalia o espina bífida abierta tenían niveles detectables de ACE; esta situación se repite en otras malformaciones congénitas. Se debe tener en cuenta que pueden encontrarse resultados falsos positivos por contaminación del líquido amniótico con sangre fetal.<sup>1-3</sup>

Los niveles de CE y ACE se modifican en ciertos estados patológicos (Tabla 3), así como por la exposición a una diversidad de sustancias que pueden producir inhibición de su actividad en forma transitoria o reversible (Tabla 4) o en forma irreversible, como los compuestos organofosforados y ciertos fármacos antineoplásicos como la ciclofosfamida. Entre los inhibidores reversibles dependientes de la dosis de ambas colinesterasas podemos mencionar fármacos como ranitidina, cimetidina, histamina, oximetidina y cardiotónicos y entre los inhibidores reversibles dependientes de la dosis, que afectan solamente a la colinesterasa plasmática se mencionan isoproterenol, propranolol y benzodiazepinas.

Es de destacar que la CE disminuye en el envenenamiento por *Amanita phalloides*; cuando hay compromiso hepático se observa una relación entre los bajos niveles de esta enzima y la gravedad de las intoxicaciones. En este caso tiene valor pronóstico, si bien es un dato inespecífico.<sup>7</sup>

En conclusión, en el grupo etario evaluado no se encontró correlación con la edad, ni diferencia significativa en los valores obtenidos entre ambos sexos; no se observó la variación que existe entre el hombre y la mujer en el período fértil, ya que el número de pacientes mayores a 14 años fue reducido. Cabe señalar, además, que el grupo de edad seleccionado fue de niños mayores de seis meses, con lo cual la colinesterasa plasmática ya presentaba valores que se incrementan y alcanzan su pico máximo a los 5 años para luego estabilizarse y tener valores similares a los del adulto a partir de los 15 años. Estas conclusiones son coincidentes con la experiencia de estudios similares realizados en otros países, aunque la bibliografía al respecto es escasa, no así la referente a la población adulta.<sup>8</sup>

Por todo lo expuesto, consideramos fundamental contar con valores de referencia obtenidos en nuestra población con el objetivo de realizar una correcta interpretación de los niveles de acetilcolinesterasa y colinesterasa plasmática para detectar tanto las variantes atípicas

de la CE como la posible exposición a tóxicos o fármacos que puedan afectar la actividad de ambas enzimas.

### Agradecimientos

A los Dres. Alfredo Gilmour, Lilian Halpern y Eduardo Ferrer, pertenecientes al Servicio de Anestesia, sin cuya colaboración no hubiese sido posible este trabajo. Al Dr. Aldo Vizcaino por su apoyo para la realización de este proyecto.

A la Sra. Paula Adelardi por la confección de la base de datos realizada en Access. ■

TABLA 4. Inhibidores reversibles no dependientes de dosis de ambas colinesterasas

Fármacos	Insecticidas
Fisostigmina	Organoclorados (Dieldrin, Lindano)
Neostigmina	Endosulfan
Procaína	Paraquat
Cocaína	Diquat
Nicotina	Otros compuestos de amonio cuaternario
Colchicina	<b>Metales pesados</b>
Quinina	Cinc
Cafeína	Plomo
Urea	Cobre
Sulfonamidas	Mercurio
Lorazepam	<b>Otros</b>
	Hidrocarburos aromáticos
<b>Venenos y toxinas</b>	
Arañas y escorpiones	
Víboras	
Botulismo A y B	

### BIBLIOGRAFÍA

- Sanz P, Repetto M. Implicaciones toxicológicas de las enzimas colinesterasas. En: Repetto M. Toxicología avanzada. 2ª ed. Madrid: Díaz de Santos, 1995: 117-145.
- Stedman E, Eason LH. Cholinesterase. An enzyme present in the blood serum of the horse. *Biochem J* 1932; 26:2056-66.
- Tietz NW. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. 3ª ed. Philadelphia (PA): WB Saunders Co, 1987:405.
- Garry P, Dietz A, Lubrano T, Ford PC, James K, Rubinstein HM. New allele at cholinesterase locus 1. *J Med Genet* 1976; 13:38-42.
- Rubinstein HM, Dietz A, Lubrano TE. E<sup>k</sup>, another quantitative variant at cholinesterase locus 1. *J Med Genet* 1978; 15:27-29.
- Whittaker M, Britten JJ. Eh, a new allele at cholinesterase locus 1. *Hum Hered* 1987; 37:54-58.
- Piqueras J. Intoxicaciones por plantas y hongos. Barcelona: Masson 1996:136-139.
- Hutchinson AO, Widdowson EM. Cholinesterase activities in the serum of healthy British children. *Nature* 1952; 2:284-5.