

mDE

ISSN 2545-7683

FQBF

**MATERIAL
DIDÁCTICO PARA
ESTUDIANTES**

Guía Teórico-Práctica (parte 2)

BIOQUÍMICA CLÍNICA I

**FACULTAD DE QUÍMICA BIOQUÍMICA
Y FARMACIA**



Universidad Nacional
de San Luis

mDE
2022

SERIE DIDÁCTICA: MATERIAL DIDÁCTICO PARA ESTUDIANTES

Guía Teórico-Práctica (parte 2)

BIOQUÍMICA CLÍNICA I

Dra. MYRIAM L. FORNERIS

Dra. MARÍA FLORENCIA FIGUEROA

Bioq. RITA GIORDANI

Bioq. FLORENCIA CABRAL



FACULTAD DE QUÍMICA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS

2022

Decana

Dra. Mercedes Edith CAMPDERRÓS

Vice Decana

Dra. Lucía Beatriz FUENTES

Secretaria académica

Dra. Estela Isabel GASULL

Comisión de la Serie Didáctica

Coordinadora

Dra. María Cristina ALMANDOZ

Integrantes

Departamento de Bioquímica
y Ciencias Biológicas

Dra. Susana I. SÁNCHEZ

Dra. Verónica P. FILIPPA

Departamento de Farmacia

Dr. Luis A. DEL VITTO

Dra. Alejandra O. MARIA

Departamento de Química

Dra. Yamina A. DÁVILA

Dra. María de los Ángeles ÁLVAREZ

SUMARIO

La publicación periódica Serie Didáctica ha sido creada en el ámbito de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional de San Luis (Ordenanza N° 008/07-CD) con el fin de proporcionar material de estudio a los estudiantes de las Carreras de grado impartidas en la Facultad.

Actualmente, la SERIE DIDÁCTICA: MATERIAL DIDÁCTICO PARA ESTUDIANTES (Resolución N°269/16) ofrece guías de Trabajos Prácticos de Laboratorio y de campo, guías de resolución de problemas, material teórico, propuestas de estudio dirigidos y comprensión de textos, entre otros materiales, elaborados por el cuerpo docente de las diferentes Áreas de Integración Curricular de la Facultad. Estas producciones didácticas significan un aporte para cubrir necesidades académicas acordes al enfoque de cada asignatura o que no se encuentran habitualmente en bibliografía específica. Las mismas están disponibles en la página de la UNSL (<http://www.fqbf.unsl.edu.ar/mde.html>) lo que facilita la accesibilidad por parte de los estudiantes, docentes y comunidad educativa en general, garantizando la calidad de la visualización y la amplia difusión del material publicado en este sitio. De igual modo, la Serie Didáctica realiza una extensión invitando a docentes y alumnos de diferentes niveles educativos a participar, crear, producir y utilizar este espacio fomentando así el vínculo entre esta Institución y la comunidad.

En nuestra opinión, es de vital importancia producir y compartir el conocimiento con los estudiantes y la sociedad. De este modo, se tiende a facilitar los procesos de enseñanza y de aprendizaje y la transmisión de una idea directriz de conducta humana y científica, fortaleciendo los vínculos entre docentes-alumnos-conocimientos y sociedad.

Dado que la presente SERIE DIDÁCTICA resulta de la participación de numerosos actores, ante los posibles errores humanos y cambios en la ciencia, ni los editores ni cualquier otra persona que haya participado en la preparación del material didáctico garantizan íntegramente que la información sea precisa o completa.

PRESENTACIÓN DEL CURSO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA I

La presente guía de temas teóricos de aplicación práctica en el laboratorio clínico pertenece a la asignatura **BIOQUÍMICA CLÍNICA I** que se enmarca en el Ciclo Profesional del Plan de Estudio (11/10) de la Carrera de Licenciatura en Bioquímica. El Curso se dicta en el segundo cuatrimestre de 5° año (noveno cuatrimestre), es de carácter obligatorio y posee un crédito horario de 150 horas.

Requisitos para cursar Bioquímica Clínica I. El alumno deberá tener regularizadas las asignaturas: Bacteriología y Virología, Parasitología y Química Biológica Patológica. Para rendir debe aprobar previamente las mencionadas materias y la Práctica Profesional.

Modalidad de cursada. El Programa del Curso se desarrollará mediante el dictado de *clases teóricas* y *clases prácticas*, que comprende por semana: dos clases teóricas (4 h), explicación teórica de trabajos prácticos (2 h), un trabajo prácticos de laboratorio y/o de aula para la resolución de problemas de aplicación o casos clínicos (3 h) y seminarios de integración y actualización que incluyen la discusión de casos clínicos. De acuerdo con la reglamentación vigente, la regularización de la materia se logrará con el 80% de asistencia a las actividades obligatorias y con la aprobación de dos evaluaciones parciales que se realizarán a lo largo del cuatrimestre.

Esta Guía tiene como objetivo primordial presentar, de manera didáctica los contenidos de formación que corresponden a los temas del programa analítico de la asignatura Bioquímica Clínica I. Se describe en forma detallada y actualizada, los mecanismos fisiopatológicos, moleculares y las pruebas de laboratorio de las enfermedades relacionadas al metabolismo mineral y óseo, a neoplasia y marcadores tumorales y a las patologías asociadas al tejido conectivo. El desarrollo de cada tema incluye los objetivos de aprendizaje, se acompaña con tablas, ilustraciones y esquemas para una mejor comprensión del mismo y finaliza con una propuesta de resolución de casos clínicos que contribuye a la integración de los conocimientos adquiridos. Se detalla la bibliografía recomendada.

Esta presentación es la continuación de la guía titulada “Guía Teórico-Práctica de Bioquímica Clínica I”, editada por MDE en 2018 y representa nuestro deseo didáctico y a la vez que práctico, basado en el desarrollo de esta ciencia que tanto contribuye al diagnóstico y a la prevención de las enfermedades.

INDICE

Presentación de la Asignatura

I

Tema 1

METABOLISMO MINERAL Y ÓSEO. BASES FISIOLÓGICAS, FISIOPATOLOGÍA Y LABORATORIO

Objetivos	1
Introducción Teórica	1
Resolución de Casos Clínicos	68
Bibliografía	69

Tema 2

NEOPLASIA. MARCADORES TUMORALES

Objetivos	70
Introducción Teórica	70
Resolución de Casos Clínicos	115
Bibliografía	116

Tema 3

INMUNO-REUMATOLOGÍA Y ENFERMEDADES AUTOINMUNES

Objetivos	117
Introducción Teórica	117
Resolución de Casos Clínicos	155
Bibliografía	156

METABOLISMO MINERAL Y ÓSEO. BASES FISIOLÓGICAS, FISIOPATOLOGÍA Y LABORATORIO



OBJETIVOS

- Informar sobre la biología ósea: crecimiento, modelación y remodelación del esqueleto y mecanismos de mineralización.
- Comprender la etiología, fisiopatología y diagnóstico por el laboratorio de las principales enfermedades óseas metabólicas.
- Integrar los conocimientos adquiridos y las técnicas de determinación seleccionadas a partir de la resolución de casos clínicos.

INTRODUCCIÓN

El calcio (Ca) y el fosfato (P) son iones esenciales que participan en la regulación de numerosos procesos biológicos y enzimáticos del organismo. Si bien la mayor parte de estos iones se hallan depositados en el tejido óseo, su mínima fracción presente en los líquidos extracelulares desempeña un papel fundamental en la regulación homeostática. Esta homeostasis se logra a través de un estrecho y complejo sistema de control en el que participan las hormonas calciotropas (paratohormona, calcitriol y calcitonina) junto con otras hormonas sistémicas y factores paracrinos, que actúan a nivel intestinal, renal y óseo.

En la actualidad, dado el elevado número de personas que presentan trastornos relacionados con el metabolismo fosfocálcico (osteopenia, osteoporosis, hiperparatiroidismo primario, hiperparatiroidismo secundario, etc.), es importante la valoración de diferentes parámetros bioquímicos que contribuyan al correcto diagnóstico, pronóstico o seguimiento de las diversas enfermedades relacionadas con el metabolismo fosfocálcico.

FISIOLOGÍA DEL HUESO

El tejido óseo es un tipo de tejido conjuntivo especializado compuesto por sustancia orgánica mineralizada que incluye: fibras de colágeno de tipo I, asociadas a los glucosaminoglucanos y a las proteínas no colágenas; una sustancia mineral, constituida por cristales de hidroxiapatita $[Ca (PO_4)(OH)_2]$, que confiere al hueso su dureza y su resistencia, y células óseas de las series osteoblásticas y osteoclasticas. En su conjunto, la fase mineral representa el 70% del hueso, la fase orgánica el 20% y el 10% es agua.

La matriz mineralizada contiene grandes cantidades de Ca y P, cuya movilización ayuda a mantener las concentraciones séricas de estos elementos, además de contribuir a tamponar las alteraciones del equilibrio ácido-base.

Morfológicamente existen dos tipos de hueso: el cortical o compacto que constituye el 80% del esqueleto y el trabecular o esponjoso que constituye el restante 20%. El hueso cortical, compuesto de capas densamente aglomeradas de colágeno mineralizado, proporciona rigidez y es el principal componente de los huesos tubulares (Fig. 1). El hueso trabecular proporciona fuerza y elasticidad, y constituye la porción del esqueleto axial.

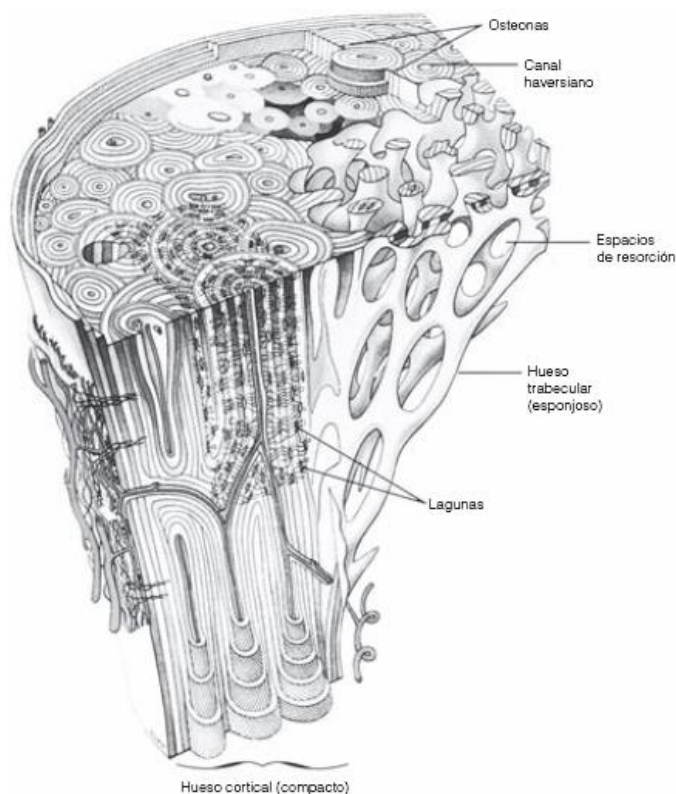


Figura 1. Diagrama que muestra la microestructura del hueso maduro observadas en cortes tanto transversal (arriba) como longitudinal. Se incluyen áreas de hueso cortical (compacto) y trabecular (esponjoso). (Greenspan. Endocrinología básica y clínica, 9a Ed. McGRAW-HILL, 2011).

El esqueleto es un órgano metabólicamente activo en continuo proceso de cambio, lo que permite que se renueve y responda a mediano y largo plazo a las necesidades mecánicas y metabólicas del organismo. Durante el período de crecimiento y desarrollo, el esqueleto es moldeado hasta alcanzar su tamaño y forma definitiva removiendo tejido óseo de ciertos sitios y depositándolos en otros, en un proceso denominado **modelación ósea** (MO). La modelación permite cambios rápidos en cantidad y distribución de hueso. El proceso de modelación también ocurre en adultos, pero como respuesta a cambios durante la sobrecarga mecánica.

Por otra parte, la regeneración continua mediante reemplazo periódico de hueso viejo por hueso nuevo se conoce como **remodelación ósea** (RO) o *turnover* óseo. Es un proceso continuo de desintegración y renovación que ocurre durante toda la vida y es imprescindible para mantener las funciones normales del esqueleto, dado que hace posible reparar microlesiones de fatiga (microfracturas), cuya acumulación comprometería la resistencia del hueso. El remodelado óseo permite la renovación de un 5% del hueso cortical y un 20% del trabecular al año, siendo susceptible a estímulos de naturaleza local y sistémica.

Durante la niñez y la adolescencia, si bien la actividad de RO es importante, queda solapada desde el punto de vista cuantitativo por el MO y el crecimiento lineal óseo concomitante. La adquisición de hueso se completa al final de los años de la adolescencia y principios del tercer decenio de la vida en mujeres y del segundo decenio de la vida en hombres. La herencia, los esteroides gonadales circulantes, la actividad física y la dieta también contribuyen a la adquisición de la masa ósea máxima de un individuo.

Una vez alcanzada la masa ósea pico, el RO es el mecanismo común por el cual ésta se modifica durante el resto de la vida. En circunstancias normales, durante la juventud el RO mantiene la masa esquelética total prácticamente invariable. Sin embargo, con el envejecimiento, menopausia o algunas enfermedades, se altera el balance de manera que la resorción predomina sobre la formación y se produce una pérdida neta de hueso (Fig. 2).

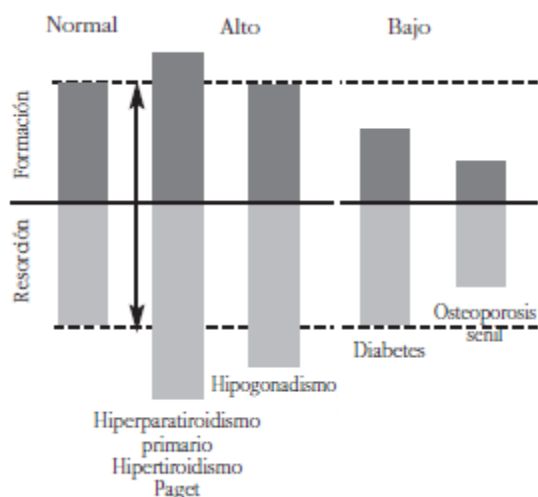


Figura 2. Heterogeneidad del remodelado óseo (Modificado de: Sosa Henríquez M, Gómez Díaz J. Rev Osteoporos Metab Miner 2010; 2: S3-S7).

Cada evento de RO involucra a grupos especializados de células como osteoblastos (OB) y osteoclastos (OC), que actúan de manera coordinada en tiempo y espacio en sitios específicos distribuidos por todo el esqueleto llamadas **Unidades de Remodelación Ósea** (URO). La matriz mineralizada es reabsorbida por los OC y luego sustituida por hueso nuevo

formado por la acción de grupos de OB. Si bien no se conocen con certeza los desencadenantes de cada nuevo ciclo de RO, la evidencia sugiere que los osteocitos (OCi), desempeñan un papel importante marcando el sitio donde debe producirse la activación de los precursores osteoclasticos para iniciar la resorción.

TIPOS CELULARES EN EL TEJIDO ÓSEO

Osteoblastos y Osteocitos

Los osteoblastos (OB) son células de origen mesodérmico y en su diferenciación, a partir de células madre de la médula ósea, intervienen citoquinas como el factor de crecimiento transformante β (TGF β), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y proteínas morfogenéticas óseas (BMPs). Se localizan en el periostio de la superficie del hueso en crecimiento y expresan constitutivamente la enzima fosfatasa alcalina (FAL), así como distintos genes que codifican para proteínas de la matriz ósea. Los OB también poseen receptores para hormonas, las cuales modulan mecanismos de diferenciación y supervivencia como: paratohormona (PTH), péptido relacionado con la PTH (PTHrp), 1,25-dihidroxitamina D, [1,25(OH) $_2$ D], hormonas sexuales y glucocorticoides.

En la diferenciación hasta el OB maduro es necesario el estímulo del factor transcripcional Cbfa1 (*Corebinding factor 1*) también llamado Runx2, cuya expresión es estimulada por la PTH (Fig. 3). El Cbfa1 regula la expresión de proteínas osteoblásticas como osterix, osteopontina, sialoproteína ósea, colágeno tipo I, osteocalcina y el ligando del receptor activador del factor nuclear kB (RANKL). La producción de RANKL por los OB y su receptor [la osteoprotegerina (OPG)] representa una señal integradora que acopla la resorción a la formación ósea.

A medida que el hueso se mineraliza, los OB dejan de tener actividad de síntesis de material osteoide y se convierten en **osteocitos** (OCi), los cuales se incluyen en el hueso rígido formando una red de células interconectadas. Esta red conecta a los OCi entre sí y con las células de la superficie (OB y células bordantes), lo que asegura la transmisión de diversas señales químicas (iones, hormonas) y mecánicas (movimiento de líquidos, deformaciones, gravedad). Se ha demostrado que alteraciones en la función osteocítica y en la desregulación en el grado de sobrevida de dichos OCi constituirían la base de desórdenes caracterizados por pérdida de hueso y fragilidad ósea.

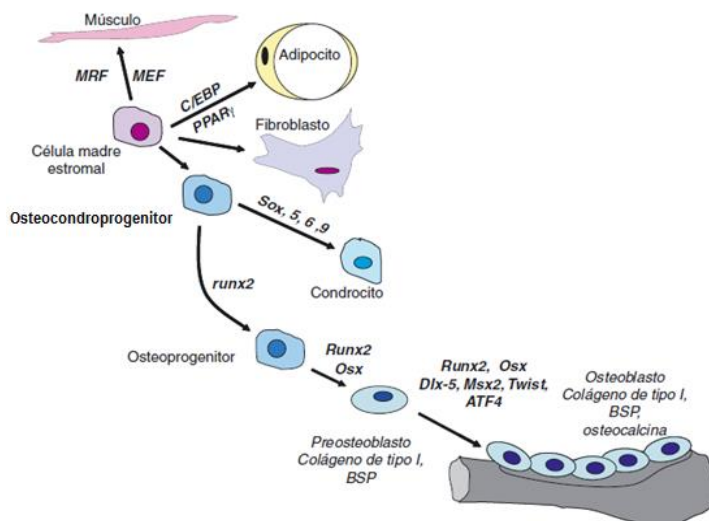


Figura 3. Diferenciación de las células osteoblásticas. Los osteoblastos se diferencian en la médula ósea a partir de un precursor mesenquimatoso, en la periferia de los vasos o en la circulación, que también puede diferenciarse en célula muscular esquelética, adipocito, condrocito o fibroblasto a través de la expresión de distintos factores de transcripción. Osterix (Osx) actúa en un paso posterior a runx2, que induce un fenotipo osteoblástico. MRF: factores reguladores miogénicos; MEF2: factor miocítico amplificador 2; C/EBP: factor de transcripción CAAT/ que potencia la unión proteica; PPAR: receptores de activación de proliferadores de peroxisomas gamma; Runx2: factor de transcripción relacionado con runt 2; BSP: sialoproteína ósea (Fisiología del tejido óseo: Thomas T y col. Podología, 2011; E-27-025-A-20. Elsevier Masson).

Osteoclastos

Los **osteoclastos** (OC) son células multinucleadas que erosionan y reabsorben el hueso ya formado, a través de la acidificación y proteólisis de los componentes de la matriz. Los OC derivan de las células madre hematopoyéticas en la vía de los monocitos. Entre los factores que regulan el proceso de diferenciación de los OC se encuentra el factor estimulante de colonias granulocito/monocito (GM-CSF) y el factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF). El GM-CSF induce resorción ósea y la formación de OC, mientras que el M-CSF actúa sobre la célula madre para mantener la supervivencia de los monocitos precursores. Los OC se caracterizan por contener fosfatasa ácida tartrato resistente en los lisosomas y receptores para calcitonina. La vida media de un OC humano es de 2 semanas, para luego entrar en apoptosis.

EVENTOS CELULARES ASOCIADOS A LA REMODELACIÓN ÓSEA

El RO se inicia en respuesta a estímulos mecánicos (microfracturas), disminución en la concentración de calcio iónico $[Ca^{2+}]$ en el líquido extracelular (LEC), hormonas o citoquinas. Estas señales son censadas por las células inmersas en la matriz mineralizada, quienes liberan factores hacia la superficie ósea, desencadenando el ciclo de remodelamiento que incluye cinco fases: activación, resorción, reversión, formación y quiescencia (Fig. 4).

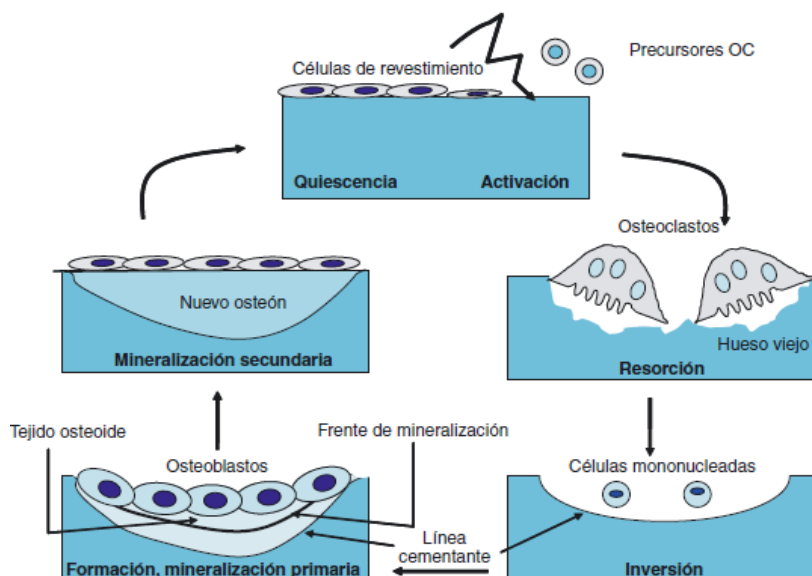


Figura 4. Remodelación ósea. Diversos estímulos llevan los preosteoclastos (OC) a una superficie ósea que se convierte en el sitio de una resorción osteoclástica. En la laguna formada, los osteoblastos depositan la matriz colágena, que se mineraliza en una segunda etapa (Fisiología del tejido óseo: Thomas T y col. Podología, 2011; E-27-025-A-20. Elsevier Masson).

1. Activación

En una URO, el comienzo del proceso de remodelación está dado por microfracturas censadas por los OCi, o por estímulo hormonal u otros factores sobre las células bordantes (*lining cells*) que recubren la superficie ósea. Las células bordantes son OB que se han achatado progresivamente para formar una capa celular alineada a lo largo de las superficies óseas inactivas. Estas células secretan RANKL, proteína que activa al receptor RANK en los pre-OC. La interacción entre RANKL y RANK permite la diferenciación y maduración de OC capaces de resorber el tejido óseo.

2. Resorción

Los pre-OC se fusionan y forman OC activos que se adhieren a la superficie ósea mediante receptores de integrinas, los cuales se unen a péptidos presentes en la matriz extracelular que contienen la secuencia arginina-glicina-aspártico. Una vez adherido a la matriz, queda delimitada una zona denominada "laguna de resorción" y se desencadena la polarización del OC, el cual emite proyecciones de membrana plasmática denominadas "ribete en cepillo" (*ruffled border*), por las cuales volcarán sus productos de secreción.

Los OC reabsorben el hueso en dos fases: primero solubilizan el mineral y luego digieren la matriz orgánica. El mineral se solubiliza acidificando el microambiente creado entre la matriz ósea y el ribete en cepillo. La acidificación (pH= 4) se logra bombeando hacia el hueso iones H^+ . Esta acidificación es acompañada por la secreción de enzimas lisosomales (fosfatasa ácida tartrato resistente [TRAP]), catepsina K y metaloproteasas de matriz

extracelular (MMP), que contribuyen a la degradación del mineral de hidroxiapatita y en forma subsiguiente a la del colágeno. Los productos de desintegración de colágeno provenientes de resorción ósea pueden analizarse en suero y orina como medidas de los índices de resorción ósea (N- y C-telopéptidos).

3. Reversión/Inversión

Durante esta etapa la laguna de resorción es reemplazada por precursores osteoblásticos (células mononucleares) formadores de hueso. Durante la resorción, los OC liberarían factores de crecimiento como el TGF β y factor de crecimiento insulínico I y II (IGFI y II), entre otros, que actuarían como sustancias quimiotácticas osteoblásticas estimulando su proliferación y diferenciación.

4. Formación

Dentro de la cavidad de resorción, los OB forman una capa sintetizando proteínas de la matriz, dando como resultado la formación de un tejido osteoide, no mineralizado, que luego se mineralizará con la incorporación de cristales de hidroxiapatita. El osteoide está compuesto en su mayor parte por colágeno tipo I (molécula helicoidal formada por dos cadenas alfa-1 y una alfa-2, rica en glicina, prolina e hidroxiprolina), y otras proteínas no colágenas (osteocalcina, osteonectina, etc.), que contribuyen al proceso de mineralización.

Una vez que el osteoide recién formado alcanza un grosor de alrededor de 20 μm , se inicia la mineralización desde los OB, a través de la liberación de vesículas que contienen iones Ca y P y enzimas que degradan a los inhibidores de la mineralización presentes en la matriz extracelular. A medida que la mineralización avanza, algunos OB quedan inmersos en la matriz y se transforman en OCi, y otros se convierten en células de revestimiento aplanadas, inactivas, sobre superficies de hueso trabecular o sufren apoptosis.

5. Quiescencia

En esta etapa finaliza la mineralización secundaria de la matriz. Se caracteriza por una acumulación de mineral en la matriz, con independencia de las células óseas, cuyo papel es fundamental en la resistencia mecánica de los huesos. La duración de un ciclo de remodelado completo es de alrededor de seis meses.

Regulación de la remodelación ósea

Los factores asociados a la regulación de la remodelación ósea incluyen hormonas locales y sistémicas, citoquinas, factores de crecimiento y efectos de la carga mecánica en el esqueleto (Tabla 1).

Tabla 1. Mecanismos de regulación involucrados en la remodelación ósea.

Factores locales
Mecánicos
Factores humorales locales
Favorecedores del aumento de masa ósea: TGFβ, INFγ, IGF, BMP, etc.
Favorecedores de disminución de masa ósea: IL-1, IL-6, TNE, GM-CSF, etc.
Factores generales
Hormonas: PTH, 1,25(OH) ₂ D, calcitonina, hormonas sexuales (estrógenos, andrógenos), GH, hormona tiroidea, corticoides, leptina
Sistema nervioso central y simpático
Vía final común
Sistema RANKL/OPG
Receptores, vías de señalización y factores de transcripción
Osteoblastos: CBFA-1/RUNX2, Osx, PPARγ/lipooxigenasa, Wnt (LPR5, Fz)
Osteoclastos: RANK, TRAF, etc.

BMP: proteínas morfogenéticas del hueso; CBFA-1/RUNX2: factor de transcripción hematopoyético; Fz: proteína frizzled; GH: hormona de crecimiento; GM-CSF: factor estimulador de colonias de granulocitos macrófagos; IGF: factor de crecimiento similar a la insulina; IL: interleuquina; INF: interferón gamma; LPR5: proteína 5 asociada al receptor LDL; Osx: osterix; PPAR/lipooxigenasa: receptor precursor de osteoblastos hacia adipocitos; PTH: paratohormona; RANK: receptor de activación del factor nuclear kB (NF-kB); RANKL/OPG: sistema ligando del RANK/osteoprotegerina; TGFβ: factor transformante β; TNF: factor de necrosis tumoral; TRAF: factores relacionados con el receptor de TNF; Wnt: proteínas Wnt (Escobar-Gómez F y col. 2009;18: 39-44).

1) Factores locales

Estos factores son producidos por los OB y las células del microambiente óseo y, actúan como intermediarios locales en respuesta a la acción de hormonas sistémicas.

Sistema RANK-L/OPG

El RANKL pertenece a la familia del factor de necrosis tumoral (TNF) y es sintetizado por algunas células del sistema inmunitario, células de la pared vascular y OB/estroma. Cuando se fija a su receptor (RANK), presente en la membrana de los precursores osteoclasticos, la parte citoplasmática de RANK interacciona con las proteínas adaptadoras TRAF. Las TRAF inician la cascada de señalización a través de la activación de las vías NF-kB, JNK y Src, que inducen la expresión de diversos genes implicados en la osteoclastogénesis. Además de promover la diferenciación de los precursores, RANKL puede potenciar la actividad de los OC maduros e inhibir su apoptosis. Diversos factores humorales como PTH, 1,25(OH)₂D, IL-6, etc. promueven la resorción del hueso incrementando la expresión de RANKL (Fig. 5).

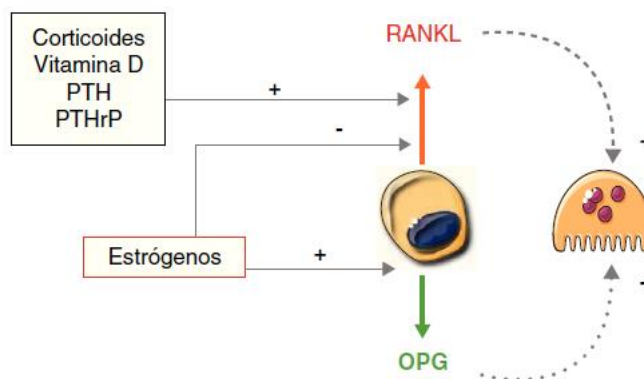


Figura 5. Efectos de los factores hormonales sobre RANKL y osteoprotegerina (OPG). (RianchoJA y Delgado-Calle J. Reumatol Clin 2011; 7:S1–S4).

Además, los OB producen osteoprotegerina (OPG), un inhibidor del RANKL. Al contrario de otros miembros de la familia de los receptores del TNF, no posee un dominio transmembrana y, por tanto, actúa como un receptor soluble en el medio extracelular. Dada su alta similitud estructural con RANK, actúa como señuelo, se fija al RANKL e impide la interacción de éste con su receptor RANK. Así, el índice entre el nivel de expresión de RANK-L y de su receptor OPG (en OB) es el que controla la resorción osteoclástica. El equilibrio entre la expresión de RANKL y OPG puede hallarse alterado en diversas enfermedades óseas metabólicas, inflamatorias y malignas.

Wnt / β -catenina

Los ligandos Wnt son glicoproteínas solubles ricas en cisteína que regulan diferentes procesos celulares, y entre ellos el remodelado óseo (Fig. 6). Las vías activadas por Wnt aumentan la masa ósea a través del compromiso de la célula mesenquimal hacia su diferenciación osteoblástica, la estimulación de la replicación de pre-OB y la inhibición de la apoptosis de OB y OCi.

En los OC, la señalización Wnt (canónica) implica la unión a receptores de membrana de la familia Frizzled (Fz) y correceptores LRP5/6 (proteína relacionada con el receptor de la lipoproteína de baja densidad 5 y 6), inhibiendo la actividad de la glucógeno sintasa quinasa 3 (GSK3), evitando la degradación de su sustrato, la β -catenina. Esta molécula se acumula en el citosol y se transloca al núcleo, donde actúa como un coactivador transcripcional del LEF/TCF (factor linfocitario de unión al promotor de células T). Si no se expresa Wnt o si su unión a los receptores se inhibe, la degradación de β -catenina es facilitada a través de un complejo de degradación formado por las proteínas APC (*Adenomatous polyposis coli*), Axin y GSK3. Esta última fosforila a β -catenina, para que sea degradada por la vía ubiquitina/proteosoma.

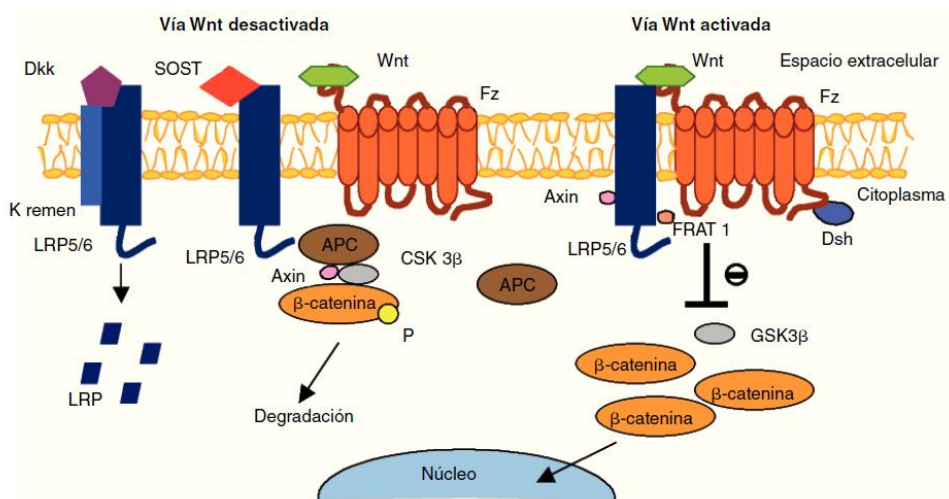


Figura 6. Vía de señalización Wnt en el osteoblasto. Cuando la vía se activa, Wnt forma un complejo con el receptor frizzled (Fz) y LRP5/6; beta-catenina se disocia de cofactores (APC, Axin y GSK3), impidiendo su fosforilación. Los cofactores Axin, Frat1 y Dsh inhiben la enzima glucógeno-sintetasa-quinasa (GSK3), alcanzando un nivel estable de beta-catenina en el citosol, que es trasladada al núcleo, donde activa genes que promueven la diferenciación del osteoblasto. En contraste, cuando la proteína Fz no está unida al ligando Wnt no se produce señal de activación. Los factores inhibidores Dkk y SOST se acoplan a LRP5/6 y bloquean la señal Wnt; por ende no se inhibe GSK3 y β-catenina es fosforilada y transportada al proteosoma para su degradación. APC: factor supresor tumoral. (Escobar-Gómez F y col.; REEMO 2009; 18: 39-44).

Las proteínas como esclerostina y Dkk1 (Dickkopf 1) se comportan como antagonistas del sistema Wnt/βcatenina. La esclerostina (o proteína del gen SOST y producida por los OCi después de mineralizarse la matriz), se une al correceptor LRP5/6 e inhibe la señalización de Wnt y reduce la formación ósea. Así, una mutación o una delección que lleva a la pérdida de la función del gen SOST están ligadas con esclerosteosis y enfermedad de Van Buchem, ambos desórdenes esqueléticos muy raros caracterizados por un aumento de la masa ósea. Por otra parte, mutaciones activadoras en el correceptor LRP5 se han reportado en pacientes con incremento en la masa ósea, mientras pérdidas en la función de LRP5 se asociaron con el síndrome de osteoporosis-seudoglioma, enfermedad autosómica recesiva caracterizada por osteogénesis imperfecta y patología ocular. En este sentido, se hallan en curso distintas investigaciones que implican la manipulación de la vía LRP5/Wnt/β-catenina como potencial diana terapéutica.

Proteínas morfogenéticas del hueso (BMP)

Las proteínas morfogenéticas del hueso (BMPs) son citoquinas que pertenecen a la superfamilia del TGFβ. Poseen múltiples funciones durante el desarrollo y en la regulación del metabolismo óseo. Las BMP son sintetizadas en células mesenquimales osteoprogenitoras, condrocitos, OB y plaquetas dentro de la matriz extracelular.

La promoción de la osteoblastogénesis se lleva a cabo por la unión de BMP a su receptor de membrana serina/treonina quinasa tipo I y II, permitiendo la formación de un complejo heterodimérico que fosforila proteínas Smad (vía canónica). Éstas, una vez activas, se dirigen al núcleo e interactúan con proteínas de unión a Smad (SBE, Smad binding element), permitiendo una respuesta transcripcional que induce la expresión del gen Runx2 y estimula la diferenciación de células precursoras mesenquimales.

El mecanismo de osteoclastogénesis a partir del cual los OC se diferencian desde células madre hematopoyéticas de médula ósea, está estrechamente regulado por factores de transcripción inflamatorios (NFAT, NF- κ B y AP-1), por ello se propone que las BMP actuarían de una manera indirecta, al inducir la secreción de moléculas reguladoras locales, lo que eventualmente afectará a los OC.

2) Factores sistémicos

Paratohormona (PTH)

La PTH es una proteína de 84 aminoácidos (aa) que controla la homeostasis del Ca por la acción directa sobre hueso y riñón e indirecta en intestino. Se secreta desde las glándulas paratiroides en respuesta al descenso de calcemia; es la hormona hipercalcemiante por excelencia al promover la resorción y actúa también como estimuladora de la formación ósea, a través de la síntesis de IGF-I y TGF β . Pese a ser una hormona, en el caso del paciente renal es considerada como una verdadera toxina urémica por aumentar progresivamente en el transcurso de la enfermedad renal crónica (ERC), y ser responsable de múltiples efectos sistémicos. La dinámica de secreción de PTH en función de la $[Ca^{2+}]$ es de naturaleza sigmoidea (Fig. 7).

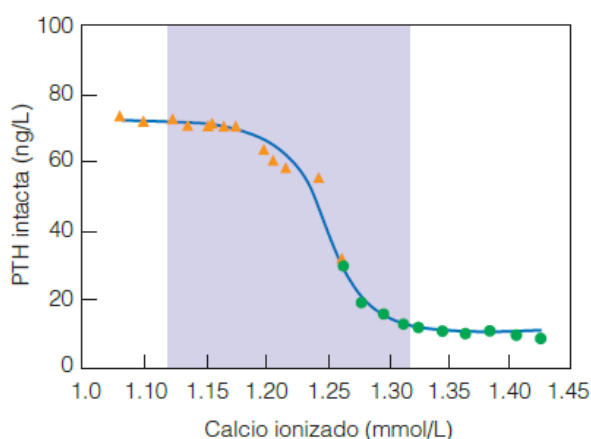


Figura 7. La relación entre las concentraciones séricas de calcio ionizado $[Ca^{2+}]$ y la de PTH en humanos. Las cifras séricas de calcio se alteran por la administración de calcio (círculos) o citrato (triángulos). La sensibilidad de las paratiroides a cambios del calcio sérico es máxima dentro del rango normal (área sombreada). Persisten concentraciones bajas de PTH en presencia de hipercalcemia (Greenspan. Endocrinología básica y clínica, 9a Ed. McGRAW-HILL, 2011).

Cuando los niveles de $[Ca^{2+}]$ se hallan dentro del intervalo de referencia, pequeñas modificaciones en su concentración darán lugar a grandes variaciones en PTH. A medida que la $[Ca^{2+}]$ aumenta, los niveles de PTH disminuyen, consiguiéndose su máxima inhibición en hipercalcemia. En contraste, a medida que la $[Ca^{2+}]$ disminuye, se produce un aumento en la secreción de PTH hasta alcanzar la velocidad de secreción máxima.

Receptor-sensor de Calcio (CaSR)

A fin de detectar la $[Ca^{2+}]$ circulante, y así regular la secreción de PTH, en la membrana de las células paratiroideas existe un receptor sensor de Ca (CaSR), acoplado a proteína G.

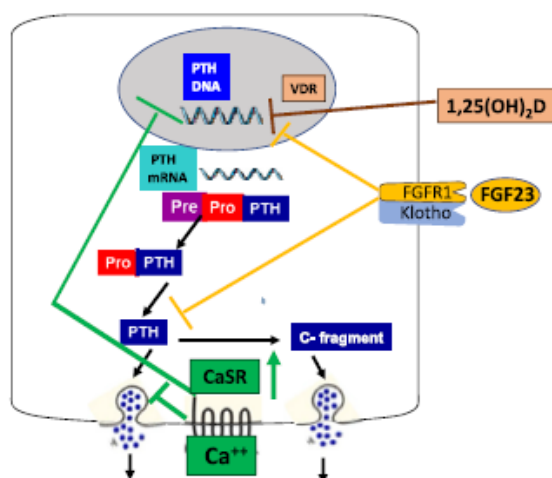


Figura 8. Acción de calcio, vitamina D $[1,25(OH)_2D]$ y factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23) sobre la síntesis de paratohormona (PTH) en la célula paratiroidea. VDR: receptor de vitamina D. CaSR: receptor sensor de calcio. FGFR1: receptor de FGF23. (Physiology of parathyroid hormone Goltzman D. Endocrinology and Metabolism Clinics of North America 2018; 47: 743-58).

El aumento del Ca extracelular provoca la activación de la fosfolipasa C (PLC) a través de la subunidad Gq del receptor. La PLC metaboliza al fosfatidilinositol 4,5 difosfato (PIP2) liberando inositol 1,4,5-trifosfato (IP3). Esto produce un aumento del Ca citosólico desde los depósitos celulares y la activación de canales de Ca voltaje-dependientes y de otros canales no específicos. Por otro lado, la subunidad Gi del CaSR inhibe la adenilatociclase (AC), y en consecuencia disminuyen los niveles de AMP cíclico (AMPc). Cuando la $[Ca^{2+}]$ del LEC disminuye, el CaSR se inactiva y la hormona preformada es liberada a circulación. Si la $[Ca^{2+}]$ del LEC aumenta, se activa el CaSR e incrementa la degradación intracelular de PTH, y se reduce la cantidad de la hormona liberada a circulación sistémica (Fig. 9). Los CaRS están presentes en riñón, tracto gastrointestinal, OB, cerebro y monocitos/macrófagos.

Síntesis y procesamiento de PTH

La hormona biológicamente activa es una cadena simple polipeptídica de 84 aa. En las células paratiroides es sintetizada como un precursor más largo (preproPTH), que contiene en el extremo amino terminal una extensión de 29 aa, que incluye una secuencia de señal de 23 aa (la secuencia pre) y una secuencia prohormona de 6 residuos. Dicho precursor, para ser activo, deberá perder esta serie de aa al atravesar el retículo endoplasmático y luego aparato de Golgi hasta transformarse en la hormona intacta (PTH 1-84), la cual se almacena en vesículas intracitosólicas en la glándula, y de allí se liberará o sufrirá proteólisis en función de las demandas metabólicas. El calcitriol es uno de los principales reguladores de la secreción de PTH, ya que actúa inhibiendo la síntesis del ARNm de la hormona.

La vida media de PTH intacta en circulación ronda los 2 a 4 minutos. Es degradada en hígado (60-70%) y en riñón (20-30%). La ruptura ocurre entre los aa 33-37, generando fragmentos de PTH Amino (N-) y Carboxilo (C-) terminal (Fig. 9). Los residuos 1 a 6 se requieren para la activación del receptor de PTH; análogos truncados que carecen de dichos residuos [PTH (7-34)] pueden unirse al receptor, pero no pueden activarlo de manera eficiente. Los fragmentos C-terminales son inactivos y, debido a que son metabolizados por el riñón, poseen una vida media superior al de la hormona entera, acumulándose en la IRC. Se conoce que ciertos fragmentos carboxi-terminales tienen una acción antagonista a la PTH 1-84 (efectos hipocalcémicos, hiperfosfatémicos e hipofosfatúricos).

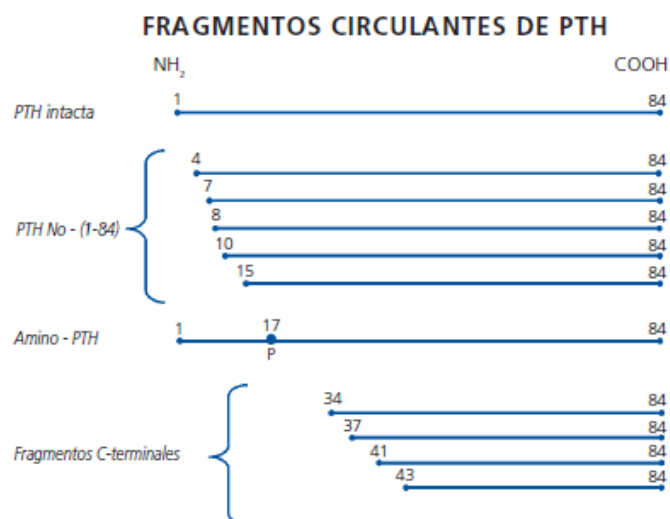


Figura 9. Diferentes péptidos paratiroides. La hormona paratiroidea (PTH 1-84) posee una zona N-terminal (34 aa), que interacciona con el receptor PTH1R y ejerce las funciones hipercalcémicas. Los fragmentos PTH No-(1-84) han perdido aa entre los aa 1 a 34. De ellos, el más abundante es el fragmento 7-84. Los fragmentos C-terminales empiezan su N estructura en la posición 34, 37, 41 y 43. La amino PTH: Tiene una secuencia de aa similar a la molécula intacta (1-84) pero presenta una fosforilación en el aa 17 (De la Piedra C y col. Medida de la PTH. Nefrología 2008; 2:123-8).

Receptor de PTH

La PTH para ejercer sus acciones biológicas utiliza el receptor de PTH tipo 1 (PTH1R), al cual une con la misma afinidad: PTH 1-84, PTH 1-34 y péptido relacionado a la PTH (PTHrp). El receptor está acoplado a proteínas G regulatorias y a la vía de transducción del AMPc-protein-quinasa A. En el esqueleto, las células del linaje osteoblástico expresan PTH1R. Los efectos de la PTH dependen de factores de transcripción tales como las proteínas de la familia CREB, los miembros del complejo AP-1 y Runx2. Existe mayor evidencia de la función de PTH1R en OB maduros, y sus efectos están menos definidos sobre células madre mesenquimales y osteocitos.

Efectos biológicos de la PTH

La principal función de la PTH es regular la $[Ca^{2+}]$ mediante efectos concertados sobre el hueso, mucosa intestinal y riñón.

- A nivel RENAL: aumenta la reabsorción de Ca a nivel del túbulo contorneado distal al mismo tiempo que disminuye la reabsorción proximal de P. El efecto fosfatúrico de la PTH puede cuantificarse calculando la resorción tubular de fosfato (TRP) a partir de las depuraciones de P y creatinina. Además, PTH estimula a la enzima α 1-hidroxilasa (necesaria para la producción local de calcitriol) favoreciendo la conversión de 25(OH)D3 en 1,25(OH)₂D3 o calcitriol, que es la vitamina D activa.
- A nivel del HUESO: estimula la resorción ósea mediante el incremento de la actividad, número y supervivencia de los OC por varios mecanismos. Los OC, que median la desintegración del hueso, carecen de receptores de PTH, de modo que la movilización de Ca se produce por mecanismos indirectos; así, la unión PTH/PTH1R promueve la liberación de citoquinas (IL-1, IL-6, RANKL, etc.) desde los OB, las cuales estimulan la actividad de los OC. La PTH posee también efectos anabólicos. En el microambiente óseo, la PTH modula la producción de factores de crecimiento locales, como IGF-I y FGF-II, que inducen la diferenciación y supervivencia de los OB. Además, PTH inhibe la expresión de SOST por los OCi, lo que constituye otro mecanismo de control y de estimulación de la formación ósea.
- A nivel INTESTINAL: PTH incrementa la absorción gastrointestinal de Ca y P en forma indirecta, a través de la producción de 1,25(OH)₂D3.

Péptido relacionado con la PTH (PTHrp)

El PTHrp o PTH similar presenta una secuencia aminoacídica homóloga a la PTH en la región amino (N-) terminal (Fig. 10) y se une a PTH1R en las células renales y óseas, y desencadena el mismo tipo de respuesta sobre la homeostasis mineral que PTH: hipercalcemia, hipofosfatemia y aumento en la producción de calcitriol. Ambas hormonas surgieron a partir de duplicación ancestral de un gen común, pero evolucionaron por

separado. En condiciones fisiológicas, las funciones de PTHrP son locales -paracrinas o autocrinas- más que sistémicas. PTHrP participa en:

- 1) Transporte de Ca transepitelial en la glándula mamaria. La PTHrP es producida por las células epiteliales alveolares durante la lactancia y, bajo el control de prolactina y el estímulo de succión, es secretada en la leche materna.
- 2) Diferenciación celular en múltiples tejidos (condrocitos, glándulas mamarias, piel, etc.).
- 3) Relajación del músculo liso en útero, vejiga, tracto gastrointestinal y pared arterial.
- 4) Maduración esquelética fetal. Actúa regulando el flujo de Ca a través de la placenta en contra del gradiente de concentración.

Cuando PTHrP es secretada por tumores malignos (carcinoma pulmonar de células escamosas y carcinoma mamario, entre otros), produce hipercalcemia grave al estimular la expresión de RANKL por OB. Así, se produce un aumento en el número de OC activados, ya sea por síntesis local de PTHrP (en metástasis óseas) o por su liberación desde células tumorales en sitios extraesqueléticos. Ambos mecanismos incrementan la resorción ósea.



Figura 10. Esquema de las diferencias y similitudes entre PTH y PTHrP en humanos. Harrison's (Endocrinology. 3rd Edition. New York, McGraw-Hill, 2013. ISBN: 978-0-07-181486-7).

Calcitonina

La calcitonina es un péptido de 32 aa, sintetizado por las células C de la glándula tiroides. La calcitonina, a través de los receptores específicos expresados sólo por los OC, inhibe de forma directa la resorción ósea: la actividad de la anhidrasa carbónica de los OC disminuye por la acción de la calcitonina, los OC pierden movilidad y se inhibe la resorción. Además, presenta una acción hipercalcémica que contribuye a disminuir los niveles de Ca.

A pesar de su efecto farmacológico hipocalcemiante, aún no se conoce la fisiología de la calcitonina en el metabolismo fosfocálcico en seres humanos. Su principal utilidad en el laboratorio clínico es como marcador tumoral en el carcinoma medular de tiroides.

Vitamina D

La vitamina D (Vit D) activa [1,25(OH)₂D₃] o calcitriol, actúa como una hormona esteroidea que induce respuestas fisiológicas en distintos tipos celulares. Regula el metabolismo del Ca promoviendo el crecimiento y remodelado óseo, y posee efectos

autocrinos o paracrinos en tejidos extrarrenales (piel, próstata, ganglios linfáticos, intestino, mama, cerebro o placenta) que expresan receptores específicos.

La Vit D se encuentra en la naturaleza en dos formas: vitamina D2 (ergocalciferol) y vitamina D3 (colecalfiferol), que por sí mismos no poseen actividad. Ambas se producen por fotólisis a partir de precursores de esteroides naturales y están disponibles en los alimentos de origen vegetal (vitamina D2) o animal (vitamina D3).

La absorción de Vit D se realiza en intestino delgado con la ayuda de las sales biliares. Los fármacos que se unen a las sales biliares, como el colestipol, y diversos síndromes de mala absorción, reducen la absorción de Vit D.

En humanos, la mayoría de la vitamina se sintetiza en forma endógena por conversión fotoquímica del 7-dehidrocolesterol (precursor del colesterol) presente en toda la epidermis y dermis (Fig. 11). La división del anillo B del 7-dehidrocolesterol para formar previtamina D3 requiere luz ultravioleta con un espectro de 280 a 320 nm. La intensidad de la luz solar, que varía según la hora del día, la estación y la latitud, así como la concentración de melanina en piel, la edad o el uso de protectores solares son factores que influyen en la síntesis cutánea de la vitamina. Después de la división del anillo B, la previtamina D3 por isomerización térmica pasa a vitamina D3 y se transporta en el torrente sanguíneo unida a la proteína de unión a vitamina D (DBP), una α -globulina producida en el hígado.

Sea cual sea el origen de la Vit D circulante (alimentario, cutáneo o farmacológico), en el hígado es hidroxilada en posición 25 por acción de enzimas tipo citocromo P450, transformándose en un derivado 25 hidroxilado: 25(OH)D. La 25(OH)D es transportada por la DBP hacia el riñón, y por la proteína de unión megalina hacia el túbulo renal proximal. Allí, la enzima 1α -hidroxilasa (CYP27B1) adiciona un segundo grupo hidroxilo en la posición 1 dando lugar al derivado **1,25-(OH)₂D**, que es el **metabolito activo de la vitamina D** y responsable de sus efectos biológicos.

La 1α -hidroxilasa se expresa también en sitios extrarrenales como queratinocitos, placenta, próstata, pulmón, corazón, cerebro, mama y células inmunes. Los niños con mutaciones inactivantes en CYP27B1 desarrollan raquitismo dependiente de Vit D tipo 1 (pseudo-raquitismo por deficiencia de Vit D). La degradación de calcitriol por la 24 hidroxilasa da como resultado a 24,25(OH)₂D inactiva.

La deficiencia de Vit D se caracteriza por niveles sanguíneos bajos de 25(OH)D, debido a la falta de sustrato para la 25-hidroxilasa. Aún en situaciones de hipovitaminosis severa, el nivel de calcitriol [1,25(OH)₂D] se mantiene dentro del rango de referencia, a expensas de un hiperparatiroidismo secundario.

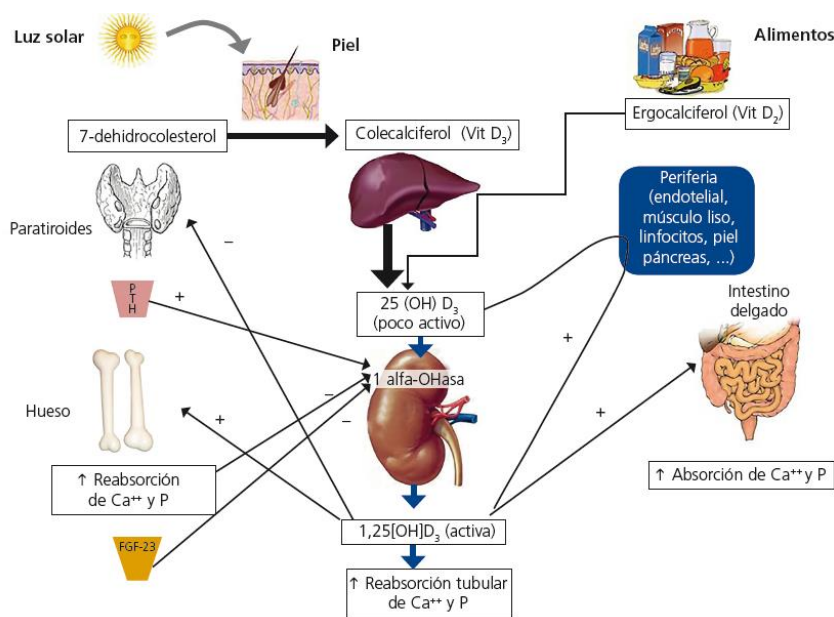


Figura 11. Vía metabólica de la vitamina D (Bover J. y col. Nefrología 2015; 35:28-41).

Regulación de vitamina D activa

La producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en riñón es estimulada por la PTH e IGF-1. El factor de crecimiento derivado de fibroblastos 23 (FGF23), concentraciones séricas altas de Ca y P y la propia $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ inhiben la síntesis de Vit D activa, mientras que aumentan la de $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ (Fig. 12). En la ERC, se observa una disminución de calcitriol en estadios 2 y 3 (por la pérdida de masa renal hay menos 1α -hidroxilasa), de megalina y retención de P.

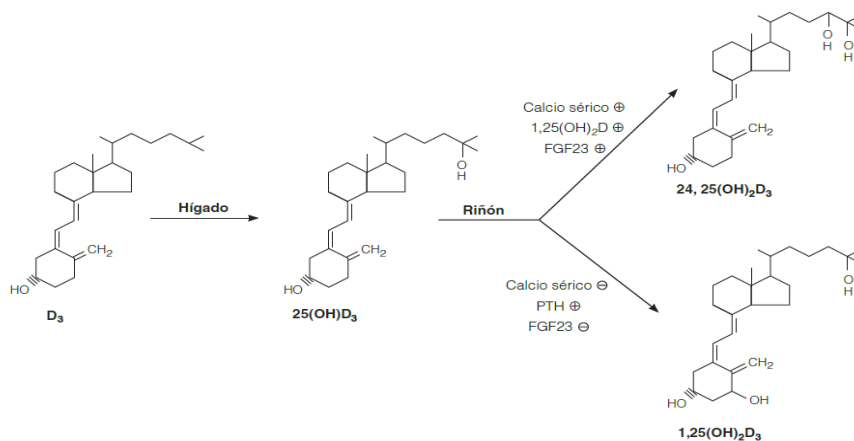


Figura 12. Factores que regulan el metabolismo de la vitamina D. Los signos de más (+) y de menos (-) denotan las reacciones enzimáticas estimuladoras e inhibitoras, respectivamente, que impulsan los pasos metabólicos (Greenspan. Endocrinología básica y clínica, 9a Ed., 2011).

Acciones biológicas de vitamina D

El calcitriol mantiene la calcemia por diversos mecanismos:

- i) Intestino: induce la activación o expresión de proteínas que intervienen en la absorción duodenal de Ca [calbindina, canal de catión receptor de potencial transitorio 6 (TRPV6), calmodulina, bomba Ca^{2+} -ATPasa, etc.]. La Vit D también aumenta la absorción de P.
- ii) Glándula paratiroides: el déficit de Vit D conlleva un aumento de la síntesis y secreción de PTH. La estimulación crónica de las células paratiroideas puede provocar hiperplasia paratiroidea o adenomas. La administración de calcitriol inhibe la síntesis de PTH, siendo un tratamiento empleado en el hiperparatiroidismo secundario ERC.
- iii) Hueso: posee la capacidad de mover Ca del hueso, lo que permite proteger la calcemia incluso cuando se realiza una dieta hipocalórica. Cuando existe déficit de Ca, se estimula la resorción ósea al inducirse la diferenciación de células precursoras hacia OC por acción de RANKL. La deficiencia de Vit D no disminuye la resorción ósea, probablemente porque altas concentraciones de PTH podrían compensar la falta de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ a nivel de la producción de RANKL. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ interviene además en la formación ósea. Promueve la diferenciación de los OB, disminuye la reabsorción ósea inducida por PTH y citoquinas, y regula la producción de proteínas de la matriz ósea como colágeno, FAL y osteocalcina. En este sentido, es muy importante un suministro de suficiente Ca y P para una adecuada mineralización del hueso. También incrementa la resistencia a fracturas y favorece la reparación de microfracturas, mediante su interacción con los OCi.
- iv) Riñón: estimula la expresión de la calbindina, TRPV5 (el homólogo renal del TRPV6 intestinal), y Ca^{2+} -ATPasa en el túbulo distal, así como la producción de $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ en el túbulo proximal. Además, acelera el transporte de Ca a nivel distal inducido por PTH.

La Vit D ejerce efectos pleiotrópicos, no calciotrópicos, sobre distintos tejidos. Entre estas acciones no clásicas de la Vit D pueden mencionarse la regulación de la:

- Secreción hormonal
- Respuesta inmune. Efectos inmunomoduladores.
- Proliferación y diferenciación celular.

Los fármacos agonistas del receptor de vitamina D (RVD) se utilizan para el tratamiento de la psoriasis (calcipotriol, tacalcitol) y se ha sugerido que ligandos del RDV serían útiles en el tratamiento de otros procesos inflamatorios.

Receptor de vitamina D (RVD)

La $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ actúa como un mensajero químico y puede inducir respuestas a nivel: 1) *genómico*, a través del receptor específico RVD actuando como un factor de transcripción regulando genes relacionados con el metabolismo mineral, el crecimiento y la diferenciación

celular y, 2) *no genómico*, a través de proteínas de membrana que implican la apertura de los canales de Ca o la activación de vías de señales que incluyen a la proteína quinasa C.

A nivel nuclear el RVD forma un heterodímero con el receptor de ácido retinoico X (RXR) y se une a secuencias hexaméricas, formando el complejo de iniciación de la transcripción (Fig. 13). El complejo *VitD/RVD-RXR-Elementos de respuesta de la Vit D* (VDREs) regula la expresión de alrededor de 900 genes. Por ejemplo, la unión del complejo RVD/RXR a un VDRE negativo en el promotor del gen de la PTH suprime la transcripción de ésta.

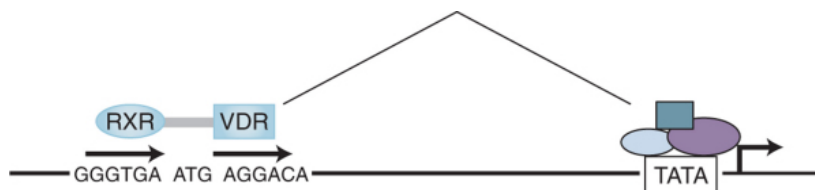


Figura 13. Mecanismo de acción genómico asociado al receptor de vitamina D (VDR). RXR: receptor de ácido retinoico X (Williams Textbook of Endocrinology 11th Ed, 2008).

Hormonas sexuales. Estrógenos.

Los esteroides sexuales representan importantes reguladores del nivel de remodelación del tejido óseo, con independencia del sexo. Los estrógenos actúan a través de dos subtipos de receptores, alfa (RE- α) y beta (RE- β); ambos se expresan en OB, OCi y OC. La acción principal de estrógenos radica en disminuir la resorción ósea actuando sobre los OC. Esto lo llevan a cabo de manera indirecta por medio de la inhibición de la síntesis de IL-6 y de RANK-L por las células estromales y osteoblásticas. Además, los estrógenos en forma directa promueven la apoptosis de OC y producen así una reducción de la pérdida de masa ósea. Cuando los niveles de estrógenos descienden, se estimula el gen SOST y aumenta la esclerostina, disminuyendo la masa ósea. Por otra parte, los efectos que ejercen los estrógenos sobre la proliferación y diferenciación celular de los OB son controvertidos. No obstante, se considera que la deficiencia estrogénica, tanto durante el crecimiento como en la edad adulta, es uno de los factores más importantes en la patogénesis de la osteoporosis.

HOMEOSTASIS DEL CALCIO

El Ca es uno de los constituyentes iónicos más importantes en el organismo y el quinto elemento por orden de abundancia. Un individuo adulto posee alrededor de 1000-1200g de calcio corporal. Se encuentra en un 99% a nivel de tejido óseo, formando cristales de hidroxapatita. Del 1% restante distribuido en el LEC, un 40% circula unido a proteínas plasmáticas (principalmente albúmina), el 50% está libre en forma iónica (Ca²⁺), que

corresponde a la fracción fisiológicamente activa, y el 10% forma sales con P y otros aniones (bicarbonato, lactato, citrato). El Ca fijado al hueso está en equilibrio dinámico con el Ca del LEC. Así, las funciones que cumple este ión en el organismo pueden dividirse en:

1. Como componente de los tejidos duros, es el responsable de mantener la rigidez esquelética y actuar como reservorio mineral.
2. Como componente de los compartimentos intra- y extracelulares, la fracción de Ca^{2+} participa en procesos como excitabilidad neuromuscular, coagulación sanguínea, secreción de hormonas y neurotransmisores (segundo mensajero), reacciones enzimáticas, etc.

La concentración plasmática de Ca total se encuentra en un rango estrecho (**8,5-10,5 mg/dL**; 2,1-2,6 mMol/L) y representa la suma de los componentes ionizados (**4,6-5,2 mg/dL**; 1,15-1,30 mMol/L) y no ionizados (Ca plasmático no difusible). El nivel de Ca plasmático es mantenido por la interacción de tres procesos dinámicos: reabsorción tubular renal, absorción intestinal y remodelación ósea. Las hormonas calciotrópas (PTH, calcitriol y en menor medida calcitonina) intervienen en la homeostasis del Ca a través de un mecanismo de retroalimentación negativo. Además, citoquinas, glucocorticoides y prostaglandinas intervienen en la liberación del Ca óseo hacia otros espacios.

Metabolismo del Ca

1- Ingesta

El Ca ingresa al organismo a través de los alimentos y su ingesta varía con el estado fisiológico del individuo (adaptación al aporte de calcio en la dieta, edad, embarazo y lactancia). En condiciones fisiológicas, la absorción intestinal es alrededor del 20-30% del Ca ingerido. El proceso de absorción es favorecido por constituyentes de los alimentos ingeridos (proteínas y citrato), ya que al complejar al Ca lo mantienen por más tiempo en solución. En cambio, constituyentes de la fibra dietaria como los fosfatos inorgánicos, los oxalatos o los fitatos que, por formación de sales de Ca que precipitan o por modificación de la velocidad de tránsito intestinal, interfieren con la absorción del mineral.

2- Absorción

La absorción de Ca se produce en el intestino delgado a través de un proceso saturable y dependiente de energía (transcelular), localizado en el duodeno y de un proceso pasivo (paracelular) que funciona a lo largo de todo el intestino (Fig. 14).

El proceso transcelular comprende tres fases: a) entrada del Ca desde el lumen a la célula intestinal a través de los canales TRPV5 y TRPV6, ubicados en la membrana de borde en cepillo, b) difusión intracelular, mediada por la proteína citosólica ligadora de Ca (calbindina) y c) extrusión del Ca al sistema vascular, mediado por la Ca-ATPasa y el anti-

porter $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ localizados en la membrana basolateral. Este mecanismo tiene capacidad adaptativa, ya que aumenta en el crecimiento, embarazo, lactancia y dieta baja en Ca. Ambos procesos, la difusión paracelular y la transcelular, son promovidos por Vit D: calcitriol estimula el transporte transcelular de Ca incrementando los niveles de expresión de los canales de Ca luminales, de las calbindinas y de los sistemas de extrusión.

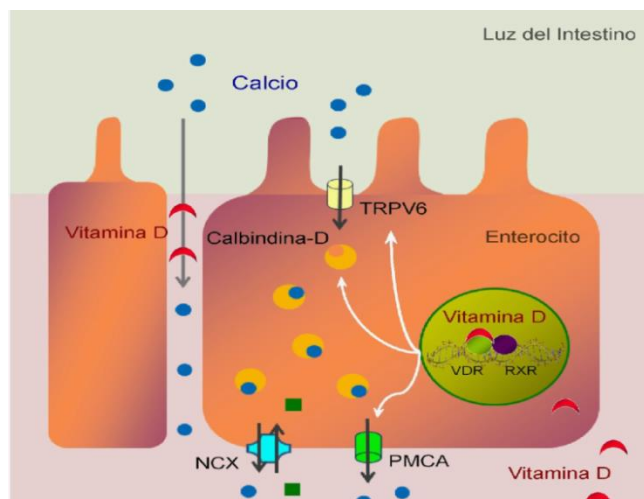


Figura 14. Absorción intestinal de calcio y su regulación por vitamina D. PMCA (calcio ATPasa de membrana plasmática); NCX (intercambiador sodio-calcio); TRPV6 (canal transportador de calcio desde la luz del intestino al interior de los enterocitos); VDR (receptor de vitamina D). (<http://las-hormonas.blogspot.com/2013/07/la-vitamina-d-de-mis-huesos.html>).

3- Eliminación y reabsorción urinaria

Una pequeña fracción de Ca se elimina de manera variable por riñón. El Ca es filtrado por el glomérulo en una cuantía que resulta del producto de la filtración glomerular por la concentración plasmática de la fracción de Ca circulante no unida a proteínas. El 65% se reabsorbe en el túbulo contorneado proximal por transporte pasivo ligado a la reabsorción de Na, menos del 20% del filtrado en el asa gruesa descendente cortical de Henle (cTAL) por vía paracelular (por el potencial transepitelial luz-positivo), y el 10% se reabsorbe en el túbulo contorneado distal y en los túbulos colectores en un proceso transcelular y activo. La nefrona distal es el principal sitio de regulación de la reabsorción de Ca por PTH y calcitriol.

El CaSR se expresa en la cTAL. Cuando se activa por la elevación sanguínea de Ca o Mg este receptor inhibe la reabsorción en la cTAL.

HOMEOSTASIS DEL FÓSFORO

El fosfato (P) es la forma principal en que se encuentra el fósforo inorgánico en los organismos vivos. Es un anión crucial para la mineralización de la matriz ósea y el desarrollo del esqueleto. Dentro de la célula, el P regula numerosos procesos enzimáticos y es un

componente esencial de los ácidos nucleicos y las membranas fosfolipídicas. El 85% del P está en el hueso (en forma de hidroxapatita), 14% está disponible a nivel celular y sólo el 1% en el espacio extracelular, circulando en forma de HPO_4^{2-} y H_2PO_4^- , en una proporción 4:1 a pH 7,4. Esta mezcla de aniones se conoce como P sérico y está poco influenciado por la concentración de proteínas plasmáticas, siendo el 90% del P inorgánico ultrafiltrado.

Es conocido que la homeostasis del P no puede separarse de la del Ca. El producto sérico de $[\text{Ca}] \times [\text{P}]$ es constante, ya que el aumento en uno de ellos produce la disminución recíproca del otro. Un bajo producto en suero corresponde a un bajo producto en el LEC, con lo que existirá una deficiente mineralización. Contrariamente, un alto producto favorece la calcificación ectópica o extracelular de los tejidos blandos.

Metabolismo del P

1- Ingesta

La homeostasis del P, en condiciones fisiológicas, depende de la relación que se establece entre ingesta y excreción. Dada la amplia distribución del P en los alimentos, es difícil que exista un déficit de origen alimentario. El adulto ingiere unos 1400 mg/día de P, con grandes oscilaciones, describiéndose déficit de P exógeno sólo en los pacientes sometidos a nutrición parenteral prolongada.

2- Absorción

La absorción intestinal se produce por un mecanismo pasivo no saturable dependiente de la concentración de P en la luz intestinal y también por un transporte activo saturable mediado por una proteína transportadora dependiente de Na (cotransportadores Na/Pi NPT2b), proceso estimulado por la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. La PTH y dietas bajas en P pueden promover dicho transporte en forma indirecta a través de sus efectos sobre la vitamina D.

3- Eliminación y reabsorción urinaria

El P absorbido se excreta por riñón, con una fracción de excreción de fosfato (FEP) del 5-20% del filtrado. A nivel del túbulo proximal se regula la reabsorción mediante cambios en la expresión apical de cotransportadores Na/Pi NPT2a y NPT2c. Su actividad se regula por:

- a) PTH, promueve la internalización del NPT2a y su degradación en los lisosomas, disminuyendo la concentración plasmática de P al incrementar la FEP.
- b) FGF23, producido por los osteocitos y con potente efecto fosfatúrico.
- c) Niveles de P (la hiperfosfatemia disminuye la actividad del cotransportador mientras la hipofosfatemia, la aumenta).

Otras hormonas afectan el transporte renal de P, aunque en menor magnitud, como hormona tiroidea, calcitonina, hormona del crecimiento y glucocorticoides (Tabla 2).

Tabla 2. Factores que alteran la regulación renal de fosfato.

Incremento de la absorción renal del fosfato	Disminución de la absorción renal
Dieta baja en fosfatos	PTH
1,25 hidroxí vitamina d	Fosfatoninas (Ejemplo: FGF23)
Hormona Tiroidea	Dieta rica en fosfatos
	Acidosis metabólica
	Deficiencia de potasio
	Glucocorticoides
	Dopamina
	Hipertensión
	Estrógenos

FGF23: Factor de crecimiento fibroblástico 23 (Rev. Colomb. Nefrol. 2017; 4: 38-56).

La hiperfosfatemia refleja generalmente desajustes en el metabolismo del P por falla renal descompensada entre la absorción intestinal y excreción urinaria, lo que ocurre cuando la TFG se acerca a los 30 mL/min.

Sistema FGF23/Klotho

Los efectos de la vía FGF23/Klotho en los niveles plasmáticos de P han puesto en evidencia la existencia de un eje endocrino hueso-riñón-paratiroides, que regula la homeostasis del fosfato. El FGF23 es una fosfatonina (factores con actividad reguladora del fósforo) y está implicado en los síndromes hipofosfatémicos raros asociados a defectos en la mineralización y deformidades óseas. Es una proteína soluble, miembro de la familia del factor de crecimiento fibroblástico (FGF), producida por los OB y OCi.

Su principal órgano blanco es el riñón, en donde provoca hipofosfatemia e hiperfosfatemia. La molécula interactúa con el receptor FGFR1, activando la vía de señal de FGF, que conlleva a una reducción de los niveles del cotransportador NPT2a, disminución de los niveles de calcitriol (por supresión de la actividad de 1α -hidroxilasa y estimulación de 24 hidroxilasa, vía CYP24A1). En la célula paratiroidea, FGF23 inhibe la expresión y secreción de PTH. Así, el descenso de los niveles plasmáticos de PTH y $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, más la disminución de reabsorción de P, llevarán a una caída de los niveles plasmáticos de P, lo que inhibirá la síntesis de FGF23 manteniendo la homeostasis del sistema (Fig. 15).

Klotho es una proteína transmembrana de 130 kDa que se expresa predominantemente en el riñón (túbulo distal, proximal y colector), en la glándula paratiroidea, plexo coroideo y endotelio. Funciona como cofactor obligado de FGF23; si bien los FGFs y sus receptores

son ubicuos, el FGFR1 responde a FGF23 sólo cuando la proteína Klotho está presente. Klotho también regula la homeostasis del Ca al modular los canales renales TRPV5.

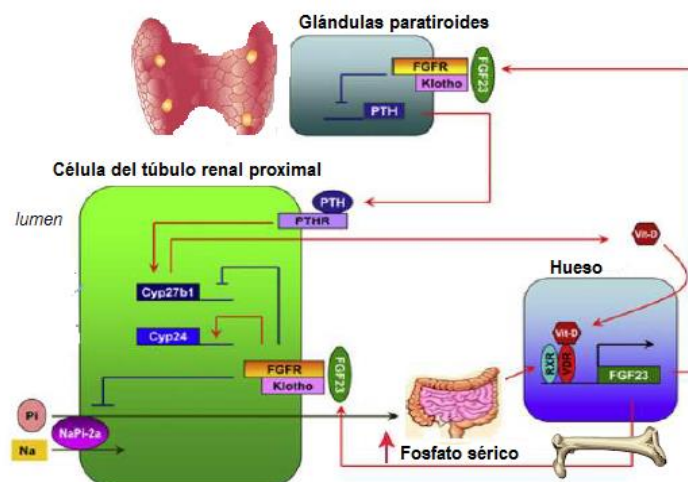


Figura 15. Regulación de la homeostasis del fósforo vía Klotho/FGF23. (Cheng C et al. Adv C Kidney Dise, 2011; 18: 91-7).

En los pacientes con ERC es frecuente observar alteraciones en el metabolismo mineral y óseo; estos pacientes cursan con estados de hiperfosfatemia, niveles disminuidos de 1,25(OH)₂D e hiperparatiroidismo secundario. Estos trastornos obedecen en parte a una disrupción del eje FGF23/Klotho. El FGF23 en plasma (fracción C-terminal) se puede determinar por técnicas de ELISA.

HOMEOSTASIS DEL MAGNESIO

El magnesio (Mg) es el segundo catión intracelular más abundante tras el potasio. Es esencial para la función de muchas enzimas, como aquellas relacionadas con la transferencia de grupos fosfato, todas las reacciones que requieren ATP y cada paso asociado con la replicación y transcripción del ADN y la traducción del ARNm.

Un adulto normal posee unos 20-30 g de Mg en depósito, el 60% se encuentran en el hueso y el 27-39% en el compartimento intracelular. El Mg extracelular se sólo alrededor del 1%. Los valores de referencia para Mg en plasma varían entre **1,7-2,2 mg/dL** (0,75-0,95 mMol/L; 1,5-1,9 mEq/L). El contenido de Mg corporal total depende del balance entre la absorción gastrointestinal y la excreción renal. El Mg ingerido se absorbe en intestino delgado, fundamentalmente en yeyuno e íleon, y mediante dos vías:

i) Canal de magnesio TRPM6 (*transient receptor potential melastatin*): constituye la ruta principal de transporte de Mg. Es un proceso activo y saturable.

ii) Ruta paracelular: mecanismo pasivo y no saturable.

El 80% del Mg en plasma es filtrado por el glomérulo, del cual un 95% es reabsorbido por la nefrona. A diferencia de otros iones, la absorción tubular de Mg ocurre en el asa gruesa de Henle, de manera pasiva a través de la vía paracelular formada por uniones intercelulares estrechas. Se establece un gradiente eléctrico generado por la reabsorción de Na a través del cotransportador $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$. En el túbulo distal, el Mg es reabsorbido a través de un mecanismo activo, que implica al canal de TRPM6.

Factores que influyen en la excreción renal de Mg

i) El principal regulador de la reabsorción renal es el propio Mg plasmático. La hipermagnesemia, así como la hipercalcemia, inhiben la reabsorción de Mg a través de la activación del CaSR de las células del asa gruesa de Henle y del túbulo distal, mientras que la hipomagnesemia la estimula.

ii) La acidosis metabólica crónica produce una pérdida renal de Mg (por disminución de la expresión del canal TRPM6), mientras que la alcalosis metabólica crónica aumenta la expresión del mencionado canal.

iii) La depleción de fosfato disminuye la reabsorción de Mg.

iv) Hormonas como $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, PTH, calcitonina, glucagón, aldosterona e insulina, entre otras, aumentan la reabsorción de Mg en el asa gruesa de Henle y el túbulo distal por mecanismos relacionados con el incremento de AMPc intracelular.

PRINCIPALES ALTERACIONES DEL METABOLISMO DEL CALCIO

HIPERCALCEMIA

La presencia de Ca sérico elevado por encima del límite superior de referencia (Ca total $>10,4\text{mg/dL}$ o Calcio ionizado $>1,4\text{mMol/L}$) se denomina hipercalcemia (hiperCa). La determinación de los niveles de Ca y PTH intacta es necesaria para dilucidar la etiología de la hiperCa. En la Fig. 16 se muestra cómo se agrupan los trastornos del metabolismo del Ca en función de dichos valores.

La mayoría de las veces la hiperCa es un hallazgo incidental de una analítica de rutina (asintomática). La hiperCa se desarrolla cuando el flujo de Ca desde el hueso y/o intestino a circulación excede su capacidad de eliminación renal. El incremento en la absorción intestinal de Ca puede ocurrir en presencia de Vit D exógena o endógena. La causa más común de hiperCa es la resorción ósea excesiva, secundaria a un aumento de los niveles de PTH o PTHrP (hiperparatiroidismo primario e hipercalcemia maligna, respectivamente).

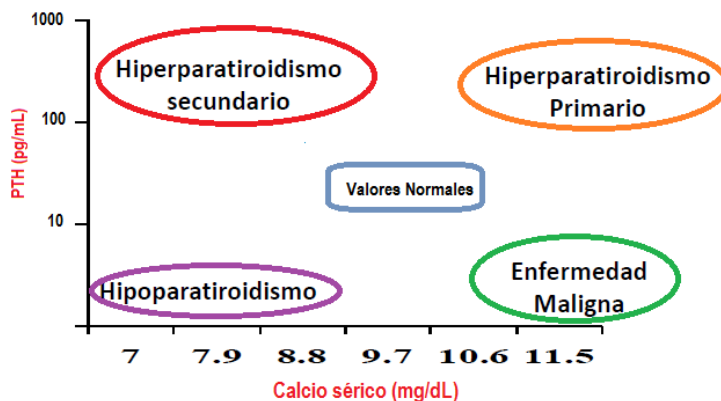


Figura 16. Patologías asociadas al metabolismo del Ca, en función de los valores de paratohormona (PTH) y calcio séricos.

En el laboratorio, casi la mitad de los casos están asociados a cáncer (hipercalcemia maligna), mientras que el hiperparatiroidismo primario (HPTP) es la causa más frecuente en la población general. Otras causas de hiperCa se detallan en la Tabla 3.

Tabla 3. Causas frecuentes de hipercalcemia

HIPERCALCEMIA
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Causas más frecuentes</i>
1 - HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO
2 - HIPERCALCEMIA TUMORAL:
<ul style="list-style-type: none"> • Enfermedades malignas: Carcinoma de pulmón, esófago, cabeza y cuello, renal, ovario y vejiga. • Metástasis óseas líticas: Mieloma múltiple y carcinoma de mama.
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Causas menos frecuentes</i>
3- Hipercalcemia hipocalciúrica familiar
4- Endocrinas:
Tirotoxicosis, insuficiencia corticosuprarrenal, neoplasias endocrinas múltiples, feocromocitoma, vipoma.
5- Fármacos:
Vitamina D, diuréticos tiazídicos, litio, vitamina A, hormona de crecimiento, etc.
6- Inmovilización prolongada
7- Enfermedades granulomatosas:
Sarcoidosis, tuberculosis, histoplasmosis, coccidioidomicosis, lepra, etc.
8- Síndrome Lácteo-alkalino
9- Otras

Sintomatología

Los síntomas y signos clínicos de hiperCa dependen de la severidad del cuadro y de su velocidad de instauración. La hiperCa de instauración lenta o con cifras cercanas al límite superior de referencia puede no detectarse por ausencia de síntomas o manifestarse a través de un patrón clínico inespecífico (náuseas, estreñimiento, poliuria-polidipsia y astenia). En el caso del hiperparatiroidismo se encontrarán nefrocalcinosis y osteítis fibrosa

quística como datos sugerentes para su diagnóstico. Si el aumento de la calcemia supera los 14 mg/dL, aparece letargia, debilidad muscular, hiporreflexia y deshidratación por poliuria intensa que puede desencadenar una crisis hipercalcémica, con shock, insuficiencia renal y coma, junto con alteraciones ECG (ensanchamiento T, acortamiento QT, bradicardia, arritmias, etc.) y posibilidad de falla cardíaca.

1- HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO (HPTP)

El HPTP se caracteriza por la producción autónoma de PTH, en la cual hay hiperCa o Ca sérico normal-alto, con valores séricos de PTH elevados o inapropiadamente «normales». El exceso de PTH produce un aumento de la resorción ósea por activación de los OC. Además de liberar Ca del hueso y disminuir su excreción renal, la PTH aumenta la producción renal de calcitriol, con el consecuente aumento de la absorción intestinal de Ca y P. A largo plazo, el HPTP puede producir una serie de complicaciones como IRC, urolitiasis, osteoporosis, fracturas por fragilidad y osteopatía fibroquística. Los pacientes con HPTP e hipercalcemia tienen más riesgo de presentar pancreatitis aguda que la población general.

La incidencia de HPTP aumenta con la edad, siendo 2-3 veces más frecuente en mujeres que en hombres. La causa más común es el adenoma paratiroideo (único en el 80-85% de los casos y múltiples en un 2-5%). La mayoría son esporádicos, sin un factor etiológico identificable. El resto de los casos obedece a hiperplasia de las glándulas paratiroides o a carcinoma paratiroideo (Fig. 17). La radioterapia de cabeza y cuello y el uso de litio por períodos prolongados se asocian con una mayor predisposición a la enfermedad. En niños el hiperparatiroidismo es poco usual, y debería sospecharse de alguna endocrinopatía con base genética, como los síndromes de neoplasia endocrina múltiple (MEN).



Figura 17. Causas más frecuentes de hiperparatiroidismo primario. (Greenspan. Endocrinología básica y clínica, 9a Ed. McGRAW-HILL, 2011).

Fenotipos en el HPTP

- I. Fenotipo clásico: hipercalcemia y síntomas específicos.
- II. Fenotipo asintomático: hipercalcemia y síntomas inespecíficos.
- III. Fenotipo normocalcémico: sin síntomas específicos, con normocalcemia y con PTH elevada, en ausencia de causas secundarias de incremento de PTH. Es una variante de la

presentación de HPTP tradicional. Se postula si esta entidad representa la primera fase del HPTP o si la normocalcemia podría estar relacionada con una resistencia parcial de la acción de la PTH sobre riñón y hueso. Ocurre aproximadamente en el 20 al 30 % de los casos de HPTP y constituye un hallazgo casual en un paciente estudiado por disminución de la densidad mineral ósea (DMO). Este fenotipo requiere el seguimiento del paciente a fin de detectar la aparición de enfermedad sintomática.

Laboratorio

El diagnóstico de HPTP se confirma con la hiperCa o Ca corregido en rango normal-alto (confirmada en 2 o 3 oportunidades), en presencia de PTH elevada o inapropiadamente normal. Descartar causas secundarias de aumento de PTH: ERC, drogas, síndromes de malabsorción, etc (Fig. 18).

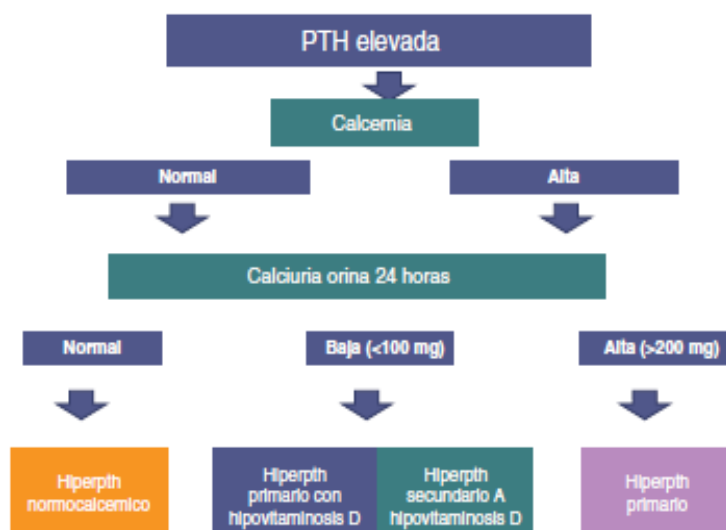


Figura 18. Algoritmo para el diagnóstico de hiperparatiroidismo (Cordellat IM. Reumatol Clin. 2012; 8:287-91).

Datos adicionales que contribuyen al diagnóstico:

- Ca en orina (corregido con valores de creatinina en orina de 24h): elevado en 40-50% de los casos. Descartar hipernatriuria.
- 25(OH)D: suele estar baja y puede asociarse con enfermedad severa. En particular, en pacientes con PTH alta y calcemia en el límite superior de referencia, la corrección de una deficiencia de Vit D pondrá de manifiesto la franca hipercalcemia, confirmando el diagnóstico hasta ese momento enmascarado.
- P sérico: la reabsorción tubular de fósforo (RTP), que normalmente oscila entre el 85%-95%, se encuentra disminuida o en el límite inferior de referencia.

- Cl sérico: elevado en presencia de acidosis metabólica, secundario a una inhibición de la reabsorción renal de bicarbonato por la PTH.
- Marcadores de recambio óseo: fosfatasa alcalina ósea, osteocalcina y *crosslaps* séricos moderadamente incrementados.

Fenotipo normocalcémico: calcio total y calcio iónico normal (repetido en varias ocasiones). PTH elevada persistentemente (repetira 3 veces en un período de 3-6 meses).

Hiperparatiroidismo y enfermedad cardiovascular

En pacientes con HPTP se ha demostrado un aumento en la morbi-mortalidad debido a enfermedades cardiovasculares. El riesgo cardiovascular es atribuible en parte a un aumento de la hipertensión, obesidad, intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina. Los mecanismos de hipertensión propuestos en pacientes con HPTP incluyen el aumento del depósito de Ca que conduce a una rigidez arterial en la enfermedad de larga duración o grave, la estimulación directa del sistema renina-aldosterona y la disfunción endotelial a través de la PTH, con aumento de la actividad simpática.

2- HIPERCALCEMIA MALIGNA

La hiperCa es la complicación metabólica más frecuente en oncología (10-30%), en especial en pacientes en estadios avanzados. Cursa habitualmente con valores de Ca total >13 mg/dL. Los principales mecanismos por los que se produce la hiperCa son:

- I.** Lesiones osteolíticas (destrucción directa del hueso por el tumor). Representa el 20% de los casos. La invasión del hueso por células tumorales activa un proceso de osteolisis con la producción de mediadores locales como prostaglandinas, TNF- α , IL-1, IL-6, RANKL y PTH-rP, entre otros. Ej: metástasis óseas del cáncer de mama, hiperCa en el mieloma múltiple.
- II.** Humoral por secreción de PTH-rP. Es el mecanismo más frecuente de la hiperCa asociada a neoplasia (80%). Ej: tumores de cabeza, cuello, esófago, cervix, pulmón, riñón, ovario y endometrio. La medición de esta proteína es de utilidad no sólo en su diagnóstico, sino como marcador terapéutico.
- III.** Secreción de calcitriol. Mucho menos común. Puede explicar la hiperCa asociada a la mayoría de los linfomas y leucemia de células T, secundaria a la desregulación de la enzima 1 α -hidroxilasa en las células tumorales.
- IV.** Secreción ectópica de PTH. Es rara; se relaciona con tumores ováricos, algunos subtipos pulmonares, rhabdiosarcomas y neoplasias pancreáticas.

En la hiperCa de origen tumoral, la PTH suprimida (excepto en los raros casos de tumores productores de PTH), junto con la clínica, orientan al diagnóstico (Tabla 4).

Tabla 4. Características entre las dos causas más comunes de hipercalcemia: el hiperparatiroidismo primario y la hipercalcemia tumoral.

HIPERPARATIROIDISMO		
HIPERCALCEMIA	PRIMARIO	TUMORAL
Curso Clínico	Gradual	Rápido comienzo y progresión de los síntomas
Síntomas	Generalmente leves	A menudo severos
Calcemias	Generalmente < 14 mg/dl	Generalmente > 14 mg/dl
Fosfatemia	Disminuida	Normal ó Disminuida
PTHi sérica	Aumentada	Normal ó Disminuída
Osteocalcina sérica	Aumentada	Disminuída
pH sérico	Disminuído (Acidosis)	Aumentado (Alcalosis)
Cloremia	Elevada (> 102 mEq/l)	Disminuída (< 102 mEq/l)
Litiasis renal	Frecuente	Infrecuente
Anemia	Poco frecuente	Muy frecuente
Eritrosedimentación	Normal	Muy aumentada
Albuminemia	Normal	Disminuída
Absorción intestinal de calcio	Aumentada	Disminuída
Radiología	Osteítis Fibrosa (OF)	No evidencia de OF

(Vega E. Separata Montpellier 2011 - Vol. 19 N°8).

3- HIPERCALCEMIA HIPOCALCIÚRICA FAMILIAR (HHF)

El síndrome de hipercalcemia hipocalciúrica familiar (HHF) se transmite en forma autosómica dominante. Se debe a una mutación que inactiva uno de los alelos del CaRS en las glándulas paratiroides y en el túbulo renal. El resultado es un aumento en el *set point* que regula la calcemia: los niveles de calcemia normales se identifican como si estuvieran bajos, por ello son requeridas $[Ca^{2+}]$ más altas para inhibir la secreción de PTH. Se presenta en adultos jóvenes como hiperCa persistente (en general, asintomática), niveles normales o algo elevados de PTH, aumento de la reabsorción tubular de Ca (con disminución del cociente Ca/creatinina) e hipermagnesemia. Es frecuente la aparición de nefrolitiasis (47%).

Diagnóstico diferencial con HPTP

$$\frac{\text{Clearance de Ca}}{\text{Clearance de Creatinina}} < 0,01$$

HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO EN SITUACIONES ESPECIALES

I- Síndromes de Neoplasia Endocrina Múltiple (MEN)

I.I Neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (MEN 1)

El MEN1 es una patología hereditaria autosómica dominante, que puede ocurrir en forma esporádica (10%), y presenta un alto grado de penetrancia. Es causada por la mutación del

gen *MEN1* que codifica para la menina, una proteína supresora de tumores. El diagnóstico clínico se realiza ante la presencia de 2 de los 3 tumores endocrinos asociados a *MEN1* (paratiroides, gastroentero-pancreáticos y/o adenohipofisario) y las pruebas genéticas confirman el diagnóstico en presencia de una mutación germinal en el gen *MEN1*.

Afecta a las glándulas paratiroides, siendo el HPTP la manifestación más precoz y frecuente (cercana al 100% a los 50 años). Suele presentarse como hiperplasia de 3 ó 4 glándulas paratiroides y es usual la recurrencia tras la paratiroidectomía subtotal. El HPTP asociado al síndrome *MEN1* difiere del producido por un adenoma paratiroideo espontáneo por cuanto su edad de comienzo es más temprana y no hay preferencia por sexo.

I.II Neoplasia endocrina múltiple tipo 2A (*MEN 2A*)

Se produce por mutaciones específicas del protooncogén *RET* que codifica un receptor transmembrana del tipo tirosina quinasa. Los principales componentes de este síndrome son: cáncer medular de tiroides, feocromocitoma e HPTP. A diferencia del *MEN1*, el HPTP en el *MEN2A* aparece de forma tardía y habitualmente hacia la tercera década, mostrando una penetrancia baja (10-30%). El HPTP suele ser asintomático o asociarse con hipercalcemia y cálculos renales. El tratamiento es quirúrgico con indicaciones idénticas a las recomendadas en el HPTP esporádico.

II- Hipercalcemia inducida por drogas

La hiperCa inducida por fármacos está causada por a) aumento de la resorción ósea (intoxicación por vitamina D y A), b) aumento de la absorción de Ca a nivel intestinal (ingesta excesiva de Ca, resinas de Ca, Vit D), c) reabsorción de Ca aumentada a nivel renal (diuréticos tiazídicos) o d) incremento de los niveles de PTH (litio). La iatrogénica es la causa más común de hiperCa neonatal, debido al aporte excesivo de suplementos de Ca.

Existe una tendencia creciente al uso de suplementos de Vit D, recetados y autoadministrados, lo que ha provocado un incremento en el número de casos de intoxicación por Vit D. El consumo de más de 50.000 UI/día de 25(OH)D eleva los niveles de 25(OH)₂D, por aumento del sustrato disponible, a valores >150 ng/mL, lo que provoca hiperCa, hipercalcemia e hiperfosfatemia, responsables de las calcificaciones vasculares y la formación de cálculos renales, si se mantienen en el tiempo.

III- Enfermedades granulomatosas

Las enfermedades granulomatosas producen hiperCa por activación ectópica de la Vit D en los macrófagos de los granulomas, aumentando los niveles de 1,25(OH)₂D y en consecuencia del Ca sérico. La más importante es la sarcoidosis, aunque también puede aparecer hiperCa en la tuberculosis y en las infecciones por hongos.

IV- Inmovilización

La alteración que acompaña a un paciente inmovilizado es la hipercalcemia. En ocasiones puede producirse hiperCa en grupos susceptibles, como adolescentes parapléjicos (su recambio óseo está aumentado) o sujetos con patologías asociadas a resorción ósea elevada (enfermedad de Paget, hipertiroidismo) cuando están en reposo absoluto.

V- Síndrome de lácteos y alcalinos

Aparece cuando se ingieren importantes cantidades de Ca y antiácidos absorbibles (Ej: leche y carbonato cálcico), por lo general como tratamiento para la dispepsia o la osteoporosis, lo que provoca hipercalcemia, alcalosis metabólica e insuficiencia renal.

La alcalosis metabólica y la hiperCa son fisiológicamente sinérgicas, y la presencia de una condición perpetúa la otra. Así, la alcalosis metabólica aumenta el transporte de Ca a través del canal TRPV5 y disminuye el transporte de Na-K-Cl en la rama gruesa ascendente de Henle. A partir del uso generalizado de los inhibidores de la bomba de protones para el tratamiento de las úlceras pépticas disminuyó en la incidencia de este síndrome.

HIPERPARATIROIDISMO SECUNDARIO

En el hiperparatiroidismo secundario el exceso de la secreción de PTH se produce en respuesta a un estado de hipocalcemia crónica (fallo renal, escasa ingesta, síndromes de malabsorción, etc.), en un intento por movilizar el Ca desde el riñón y el hueso y aumentar la producción de calcitriol (Tabla 5). No obstante, si el aumento de PTH no puede corregir el Ca plasmático, se desarrolla una hipocalcemia.

Si por el contrario se corrige la condición subyacente (por ej., la deficiencia de Vit D) un subgrupo de pacientes con hiperparatiroidismo secundario se convertirá en hipercalcémico y finalmente se detectará un HPTP. En estos casos, se dice que la hipercalcemia del HPTP ha sido "enmascarada" por el estímulo hipocalcémico coexistente.

Tabla 5. Causas de hiperparatiroidismo secundario (Cordellat IM. ReumatolClin. 2012;8:287-91).

1. Fallo renal
Alteración producción calcitriol
Hiperfosfatemia
2. ↓ ingesta Ca
3. Malabsorción Ca
Déficit vitamina D
Qx bariátrica
Enfermedad celíaca
Enfermedad pancreática (malabsorción grasas)
4. Pérdida renal de calcio
Hipercalcemia idiopática
Diuréticos de asa
5. Inhibición resorción ósea
Bifosfonatos
Síndrome hueso hambriento

Se estima que el 10-20% de los pacientes con IRC presenta hiperparatiroidismo secundario y en el 5% se trata de una forma severa. En la IRC los cambios bioquímicos ocurren progresivamente y en paralelo al deterioro del filtrado glomerular. La hipocalcemia en la IRC se asocia con un aumento de los niveles circulantes de P, y la disminución de la síntesis de calcitriol.

El descenso de Vit D y la retención de P aumentan la síntesis y secreción de PTH, e inducen hiperplasia paratiroidea. El P promueve la proliferación de células paratiroideas y disminuye la expresión de los receptores de Ca y Vit D. Además, el incremento de FGF23 en respuesta a la elevación del P sérico, suprime aún más la producción renal de Vit D, y por ende la absorción de Ca, contribuyendo al desarrollo del hiperparatiroidismo (Fig. 19).

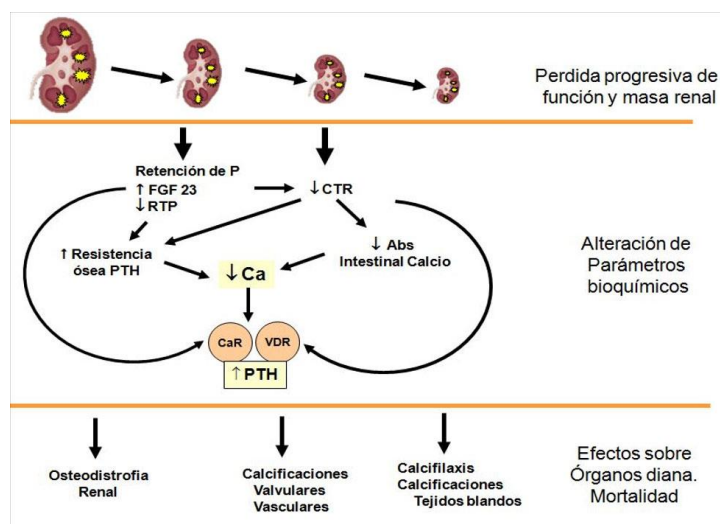


Figura 19. Alteraciones del Metabolismo Óseo y Mineral asociadas a la Enfermedad Renal Crónica (Lorenzo Sellares V. y col. Nefrología al día 2012; 7:483-503).

HIPERPARATIROIDISMO TERCIARIO (HT)

La estimulación persistente de las glándulas paratiroides lleva a su hiperplasia e hipertrofia. Con el tiempo, las células paratiroideas pueden desarrollar una función autónoma conocida como hiperparatiroidismo terciario. Esta condición puede observarse en los pacientes en diálisis, y también puede ocurrir después del trasplante renal.

CRITERIOS QUIRÚRGICOS EN EL HIPERPARATIROIDISMO

Los pacientes con HPTP bioquímicamente confirmado y sintomáticos deben ser sometidos a tratamiento quirúrgico (paratiroidectomía, PTCx). Aunque los pacientes con HPTP leve presentan una mayor incidencia de alteraciones cardiovasculares, no se ha demostrado la reversibilidad o mejoría de estas alteraciones con la cirugía.

Los criterios de PTCx en los casos de HPTP asintomático son:

- Calcio sérico: >1 mg/dL sobre el límite superior del intervalo de referencia.
- Depuración de creatinina < 60 mL/min en orina de 24h.
- Calciuria > 400 mg/24h. Nefrolitiasis o nefrocalcinosis.
- DMO disminuida: T-score < -2,5 DS en columna lumbar, cuello femoral o cadera.
- Antecedente de fractura por fragilidad.
- Edad <50 años.

La PTCx también se aplica en hiperparatiroidismo secundario que no responde al tratamiento médico.

En los últimos años se han desarrollado cirugías poco invasivas con el objetivo de atenuar el trauma quirúrgico (menor tiempo de intervención, menos posibilidad de hipocalcemia post quirúrgica y menor incidencia de daño del nervio laríngeo, entre otras ventajas). Esta técnica es ideal para pacientes cuyas imágenes muestran una localización unilateral del adenoma.

La ecografía y la centellografía con tecnecio metoxiisobutilisonitrilo (sestamibi o MIBI) son las técnicas de imagen más empleadas para la identificación preoperatoria de las glándulas paratiroides, así valorar tamaño glandular, presencia de glándulas ectópicas, etc.

El abordaje bilateral convencional se aplica en casos donde existe enfermedad multiglandular, ya sea por adenomas múltiples o hiperplasia (15% de los casos).

Monitoreo intraoperatorio de PTH

La medición de **PTH intraoperatoria** (PTHio) está indicada cuando se aplican técnicas de cirugía mínimamente invasivas en exploraciones unilaterales. Debido a que la vida media de PTH es de 3 a 5 minutos, se emplea esta propiedad para guiar al equipo quirúrgico. Permite confirmar la curación después de la remoción de un adenoma paratiroideo y tiene utilidad en detectar la presencia de tejido paratiroideo remanente hiperfuncionante después de haber resecado un presunto adenoma solitario.

Procedimiento

- Tipo de muestra: plasma con EDTA, centrifugado y separado rápidamente (línea arterial, venosa periférica o vena yugular interna).

1) PTHio Basal: durante la inducción anestésica.

2) PTHio 10 min: a los 10 minutos luego de la resección de las paratiroides patológicas.

(En paralelo a la PTHio 10min se toma biopsia de tejido intraquirúrgico para determinar por la citología si es tejido paratiroideo).

- Metodología: EQLIA

- Interpretación: No existe un consenso sobre cuál es el porcentaje de caída en los niveles de PTHio a utilizar. Se propone como criterio de respuesta una disminución igual o mayor al 50% en el HPTP y PTHio <80% en hiperparatiroidismo secundario.

En el caso de no tener una caída >50%, se pueden repetir los dosajes cada 5 minutos hasta lograr el descenso esperado o hasta que el cirujano de por finalizado el procedimiento. La persistencia de valores elevados de PTHio sugiere la presencia de tejido paratiroideo y obliga a la exploración de localizaciones tanto eutópicas como ectópicas.

HIPOCALCEMIA

La hipocalcemia (hipoCa) se define como la condición en la cual los niveles de Ca^{2+} o la calcemia total, con normo-albuminemia, se encuentran por debajo de los niveles de referencia. Se trata de una alteración bioquímica potencialmente mortal (emergencia endocrinológica), con una prevalencia cercana al 20% en pacientes hospitalizados. Los pacientes sintomáticos requieren de la corrección intravenosa de la calcemia en forma inmediata. La hipoCa puede ser también un hallazgo asintomático en el laboratorio, especialmente si se presenta bajo una forma crónica.

Sintomatología

Los principales signos y síntomas clínicos de la hipoCa aguda son producto del aumento de la irritabilidad neuromuscular periférica:

- Parestesias en la región perioral, espasmos de manos y pies, calambres.
- Irritabilidad, depresión y síntomas psicóticos.
- Laringo espasmo y crisis epilépticas (casos severos).
- Tetania (signo de Trousseau positivo: espasmo carpopedal al producir isquemia >1min, (Fig. 20). También pueden producirse alteraciones en la conducción cardíaca, con prolongación del intervalo QT en el ECG.

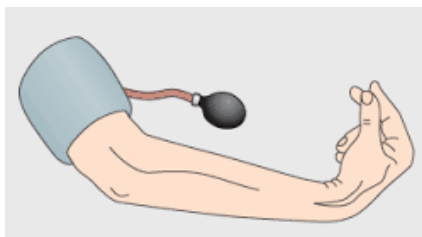


Figura 20. Signo de Trousseau.

La hipoCa crónica en niños da lugar a **raquitismo** caracterizado por alteración en la mineralización ósea asociada con retardo en el crecimiento y arqueamiento de extremidades inferiores, mientras que en el adulto provoca **osteomalacia**, con dolor óseo y debilidad

muscular. Las alteraciones óseas más frecuentes son: cráneo tabes, rosario costal, surco de Harrison, ensanchamiento metafisario y *genu valgo* o varo (Fig. 21).



Figura 21. Radiografía de ambos antebrazos (A) y rodillas (B) muestran osteopenia difusa y marcada irregularidad de las metafisis distales de ambos radios y cúbitos (flechas), con ensanchamiento secundario de las fisis o placas de crecimiento, hallazgos característicos de raquitismo. (C) Paciente a los 2 años y 5 meses que muestra a nivel osteoarticular engrosamiento metafisario, rosario costal, surco de Harrison y abdomen prominente. Extremidades inferiores muestran arqueamiento de las tibias y leve genu varo (Rev Chil Pediatr 2013; 84: 672-80).

La deficiencia o alteración en el metabolismo de Vit D representa la causa más frecuente de raquitismo; niveles de 25(OH)D <10-15 ng/mL predisponen a la aparición de este trastorno. Dado que el hueso es más susceptible al raquitismo cuanto mayor es su ritmo de crecimiento, los lactantes hasta 24 meses son considerados un grupo especialmente vulnerable. El raquitismo carencial responde muy bien al tratamiento con Vit D.

Clasificación

Según el mecanismo fisiopatológico las causas de hipoCa se pueden dividir en: (Tabla 6)

- 1-Secreción de PTH insuficiente para normalizar el Ca sérico (Hipoparatiroidismo)
- 2-Secreción normal o elevada de PTH

Tabla 6. Características biológicas de los principales síndromes con hipocalcemia.

Principales síndromes de hipocalcemia	Fosfatemia	Calciuria	PTH	Vitamina D	Calcitriol	Magnesemia
Hipoparatiroidismo	↗	↗	↘	Normal	↘	Normal o ↘
Seudohipoparatiroidismo	↗	↗	↗	Normal	Normal	Normal o ↘
Insuficiencia renal crónica	↗	↘	↗	Normal	↘	Normal
Hipocalcemia familiar secundaria a una activación del receptor sensible al calcio	↗	↗ o inapropiada	↘	Normal	↘	↘
Carencia de vitamina D	↘	↘	↗	↘	↘	Normal
Raquitismo seudocarencial de tipo I	↘	↘	↗	Normal	↘	Normal
Raquitismo seudocarencial de tipo II	↘	↘	↗	Normal	↗	Normal
Por transferencia o precipitación	↘	↘	↗	Normal	Normal o ↗	Normal o ↘

1- HIPOPARATIROIDISMO

El hipoparatiroidismo se caracteriza por valores inadecuadamente bajos o indetectables de PTH que genera hipocalcemia e hiperfosfatemia. La secreción de PTH puede estar disminuida debido a:

1.1 Destrucción de glándula paratiroides

- Cirugía: La causa más común de disminución de PTH. Se produce por la extirpación o daño inadvertido de las paratiroides durante la cirugía de tiroides, por la extirpación de excesiva cantidad de tejido paratiroideo en la cirugía del hiperparatiroidismo o tras intervenciones radicales de tumores de cabeza y cuello.
- Radioterapia
- Enfermedades sistémicas infiltrativas: hemocromatosis, enfermedad de Wilson, metástasis, talasemia.

1.2 Hipoparatiroidismo congénito

- Síndrome de DiGeorge: microdeleciones en el cromosoma 22q11 (CATCH-22), que provoca defectos cardíacos, alteraciones faciales, hipoplasia de timo, alteraciones del paladar e hipoparatiroidismo por aplasia o hipoplasia de las glándulas paratiroides.
- Hipoparatiroidismo autosómico dominante: asociado a sordera neurosensorial y displasia renal (Síndrome HDR). Se produce por mutaciones en GATA3 que es un factor de transcripción para el desarrollo de las paratiroides, riñón, oído interno, timo, y sistema nervioso central.
- Hipoparatiroidismo autosómico dominante por mutación en la secuencia del péptido señal de la pre-proPTH.

1.3 Autoinmune

- Síndrome Poliglandular Autoinmune tipo I: destrucción autoinmune del tejido paratiroideo, asociado a candidiasis mucocutánea e insuficiencia suprarrenal. Herencia autosómica recesiva por mutaciones del gen AIRE.

1.4 Alteración de secreción de PTH

-Hipomagnesemia: la hipomagnesemia severa crónica (<1mg/dL) produce un defecto de secreción de PTH y disminución de la respuesta del hueso a la acción de la PTH, mediado por una depleción intracelular de Mg. La reposición de Mg normaliza los niveles de PTH.

-Mutación activante de CaSR: La curva sigmoidea que denota la relación entre la concentración extracelular de Ca^{2+} y la intracelular de IP3 en células que poseen CaSR se

encuentra desplazada a la izquierda, por lo que la PTH no se libera con los niveles habituales de calcemia. La reabsorción renal de Ca también está disminuida.

-Hipocalcemia hipercalcémica: da lugar a hipercalcemia al inhibir la reabsorción tubular de calcio, y niveles inapropiadamente normales de PTH. Habitualmente son pacientes asintomáticos pero que, ante situaciones de estrés, como en procesos febriles, pueden manifestar convulsiones y crisis de tetania.

-Síndrome de Bartter tipo V: hipocalcemia hipercalcémica y presencia de alcalosis metabólica hipocalcémica.

-Pseudohipoparatiroidismo: endocrinopatías que cursan con hipocalcemia, hiperfosfatemia y aumento de PTH, debido a una resistencia variable a PTH, fundamentalmente a nivel del túbulo renal proximal. Se relaciona con defectos en el gen *GNAS*(20q13.2-13.3), que codifica para la proteína *Gsα*. Debido a que el locus *GNAS* está sometido a impronta genómica (*imprinting*), el fenotipo clínico asociado a las diferentes alteraciones moleculares varía en función de su origen parental, así como del tejido donde se producen.

2- SECRECIÓN NORMAL o ELEVADA DE PTH

2.1 Deficiencia o alteración en el metabolismo de Vitamina D:

-Nutricional.

-Déficit de exposición solar.

-Malabsorción digestiva (enfermedad celíaca, enfermedad de Crohn, insuficiencia pancreática, cirugía gastrointestinal para el tratamiento de la obesidad mórbida).

-Hepatopatías (defecto en la 25 hidroxilación de la molécula).

-Raquitismos Vit D dependientes (pseudo déficit de Vit D).

- Tipo IA: mutaciones en *CYP27B1* que codifica la enzima 1α -hidroxilasa, lo que provoca una marcada disminución de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ y da lugar a las manifestaciones clínicas típicas del raquitismo carencial.
- Tipo IIA: resistencia periférica parcial o total a la acción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ por mutaciones que afectan a su receptor (VDR), tanto en el dominio de unión a la Vit D, como en la zona de interacción con el ADN. La clínica es similar al raquitismo carencial, aunque existen formas más leves. Se caracteriza por unos niveles muy elevados de calcitriol, muchos de los niños afectados presentan alopecia en distinto grado.

2.2 Insuficiencia renal crónica (por múltiples mecanismos)

2.3 Hipocalcemia por precipitación y/o transferencia

- Aporte de citrato (transfusiones masivas, circuitos extracorpóreos durante la plasmaféresis).
- Hiperfosfatemia (IRC, síndrome de lisis tumoral -secundario a quimioterapia, leucemia o linfomas-, rabdomiolísis).
- Alcalosis aguda, metabólica o respiratoria.
- Transferencia hacia el hueso (durante el síndrome del «hueso hambriento», por lo general luego del tratamiento quirúrgico de un hiperparatiroidismo).
- Procesos de hipermineralización ósea (metástasis osteocondensantes en cáncer).
- Pancreatitis aguda (saponificación de Ca con ácidos grasos libres del mesenterio).

2.4 Hipocalcemia secundaria a fármacos

- Quelantes del Ca, bifosfonatos, diuréticos de asa, etc.

ENFERMEDADES DEL TEJIDO OSEO

OSTEOPOROSIS (OP)

La osteoporosis (OP) es una enfermedad esquelética caracterizada por resistencia ósea disminuida y deterioro de la microarquitectura, que predispone a un riesgo aumentado de fractura (Fig. 22). El riesgo de presentar OP depende, entre otros factores, del desarrollo esquelético del individuo, del logro de la masa ósea pico y de pérdida ósea subsecuente.

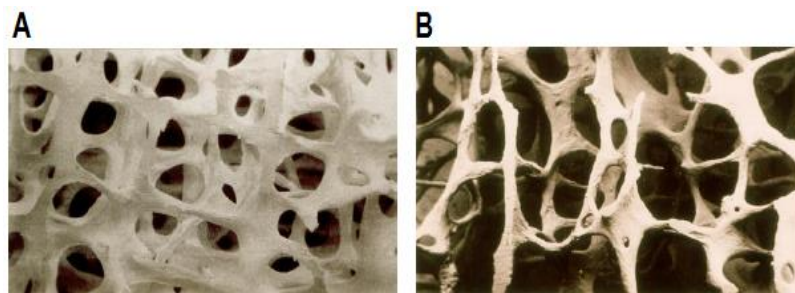


Figura 22. A) Hueso normal y B) Hueso con osteoporosis. En la OP se observa alteración en la estructura del hueso por adelgazamiento, pérdida y falta de conexión en las trabéculas óseas. (Greenspan. Endocrinología básica y clínica, 9a Ed. McGRAW-HILL, 2011)

La etiología de la OP es multifactorial, contribuyendo a ella tanto componentes genéticos como ambientales. Algunos factores de riesgo como la edad, el antecedente de fractura y el empleo de glucocorticoides por periodos prolongados, entre otros, contribuyen al riesgo de fractura independientemente de la DMO. Otros factores importantes a considerar son los relacionados con el estilo de vida, como el consumo de alcohol, tabaquismo y sedentarismo, los cuales se vinculan con una menor masa mineral ósea. La pérdida de hormonas

gonadales promueve un aumento de la reabsorción ósea mediada por citoquinas y no compensado por un incremento en la formación de hueso nuevo. En la mujer, el principal mecanismo para la pérdida rápida de hueso es la deficiencia estrogénica; es por esto que la OP también es considerada como un trastorno osteopático asociado a la edad, especialmente en mujeres posmenopáusicas.

La OP en si misma no produce ningún tipo de sintomatología. Se evidencia clínicamente por la aparición de fracturas con traumas mínimos, especialmente en fémur proximal, columna vertebral y el antebrazo distal. Se trata de una enfermedad asociada a un aumento de la morbi-mortalidad y a un deterioro en la calidad de vida del paciente, lo que implica un importante consumo de recursos sociosanitarios.

Debido a que el diagnóstico de OP basado en la aparición de fracturas es tardío, la OMS recomendó una definición clínica basada en mediciones de la DMO en unidades de desviación estándar (DE) llamadas *T-score*. La misma se basa en comparar los valores de DMO del paciente adulto con los valores de la media del adulto joven del mismo sexo y etnia. El diagnóstico de osteoporosis se establece cuando el paciente presenta una *T-score* en columna lumbar o fémur proximal inferior a -2,5DE (Tabla 7). Sin embargo, se recomienda que la evaluación del riesgo de fractura por fragilidad no se base exclusivamente en la medición de la DMO sino que tenga en cuenta además factores de riesgo clínicos.

Tabla 7. Clasificación densitométrica de la osteoporosis según la OMS (2011)

Criterios de la OMS	Valor <i>T-score</i>
Normal	1.00 a < 1.00
Osteopenia o masa ósea baja	< 1.01 a < 2.49
Osteoporosis	< 2.5 o valores menores
Osteoporosis establecida	< 2.5 o valores menores y alguna fractura por fragilidad

Además de estas cuatro categorías diagnósticas establecidas por la OMS, existe otra clasificación posible de la OP:

I) **PRIMARIA** (sin enfermedad subyacente)

- Involutiva: se asocia a un aumento del número de unidades de remodelación ósea y a un balance óseo negativo.

- Postmenopáusica (Tipo I): pérdida acelerada de DMO en mujeres >50 años, específicamente en trabéculas óseas. Asociada al déficit estrogénico.

- Senil (Tipo II): pérdida lenta de DMO a partir de los 70 años, que se atribuye a un aumento de PTH asociado a una disminución de la función renal y de la síntesis de Vit D.
- Idiopática juvenil: Se presenta entre los 8 y 14 años, con dolor de huesos y fracturas con traumatismos leves.
- Idiopática en adultos jóvenes: Hombres y mujeres premenopáusicas sin factor etiológico aparente. Se ha observado también en embarazadas.

II) **SECUNDARIA** (con enfermedad subyacente)

La OP primaria es la más frecuente y la que se presenta con mayor incidencia en mujeres caucásicas. La OP secundaria se observa sobre todo en mujeres premenopáusicas y en hombres adultos jóvenes. Las causas pueden comprender enfermedades endocrinas, gastrointestinales, reumatológicas, hematológicas, fármacos, etc. (Tabla 8). Es importante realizar el diagnóstico diferencial entre las dos clasificaciones, puesto que la OP secundaria puede revertirse al tratar la enfermedad que la origina.

Tabla 8. Causas de osteoporosis secundaria.

<p>ENDOCRINAS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hipogonadismo - Hiperparatiroidismo - Hipertiroidismo - Hipovitaminosis D - Síndrome de Cushing - Amenorrea premenopáusica - Menopausia precoz - Diabetes Mellitus - S. Addison 	<p>HEMATOLÓGICAS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mieloma múltiple - Leucemia - Mastocitosis
<p>REUMATOLÓGICAS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Artritis reumatoidea - Espondilitis anquilosante - Lupus sistémico diseminado 	<p>RENALES</p> <ul style="list-style-type: none"> - Insuficiencia renal crónica - Acidosis tubular - Hipercalciuria idiopática
<p>GASTROINTESTINALES</p> <ul style="list-style-type: none"> - Enfermedad celíaca - Insuficiencia hepática - Malabsorción - Cirugía bariátrica - Gastrectomía - Insuficiencia pancreática 	<p>OTRAS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Trasplante de órganos - Consumo de alcohol - Sarcoidosis - Anorexia nerviosa - Esclerosis múltiple - HIV - Hemocromatosis - Plejías - Inmovilización prolongada

(Oviedo S. Osteoporosis secundaria (Rev. Med. Clin. Condes 2013; 24: 805-11).

Laboratorio

Se recomienda realizar un estudio analítico básico para descartar causas secundarias de OP. Las pruebas de laboratorio básicas para identificar OP secundaria y realizar el diagnóstico diferencial con otras enfermedades óseas incluyen: VSG, hemograma, glucemia, albúmina y proteínas totales, creatinina, pruebas de función hepática, Ca y P sérico, calciuria y Vit D.

Se realizan pruebas adicionales en caso de sospecha de un proceso asociado:

- PTH (hiperparatiroidismo primario o secundario)
- TSH (hipertiroidismo)
- Proteinograma electroforético y cadenas livianas (mieloma múltiple)
- Anticuerpos antitransglutaminasa (celiaquía)
- Cortisol orina 24 h (Cushing)
- Triptasa sérica (mastocitosis)
- Gonadotrofinas y hormonas sexuales (personas jóvenes)
- Estudio genético (osteogénesis imperfecta, hipofosfatasa, otras)

La determinación de los marcadores bioquímicos de remodelado puede contribuir en la valoración de la respuesta al tratamiento, dado que se observan cambios en los mismos de forma muy precoz en respuesta a la terapia. En la práctica clínica se utiliza principalmente como marcador de formación el propéptido aminoterminal del procolágeno tipo 1 (P1NP) y como marcador de resorción el telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo I (CTX).

PRINCIPALES ALTERACIONES DEL METABOLISMO DEL FOSFORO

HIPOFOSFATEMIA

La hipofosfatemia (hipoP) es común a todos los tipos de raquitismo y, según cuál sea su mecanismo de producción, se clasifican como calcipénicos o fosfopénicos (Tabla 9).

Tabla 9. Clasificación de los principales raquitismos según su etiopatogenia

	<i>Calcipénicos</i>	<i>Fosfopénicos</i>
Adquiridas	<p>Carencial por déficit de vitamina D</p> <p>Carencial por dieta pobre en calcio</p>	<p>Déficit nutricional de fosfatos</p> <p>Osteomalacia tumoral</p> <p>Nefropatías tubulares adquiridas</p>
Hereditarias	<p>Vitamina D dependiente tipo 1</p> <p>Vitamina D dependiente tipo 2</p>	<p>Raquitismos hipofosfatémicos hereditarios:</p> <ul style="list-style-type: none"> - RH hipofosfatémico ligado al X - RH hipofosfatémico AD - RH hipofosfatémico AR - RH hipofosfatémico con hiper calciuria Síndrome de Fanconi congénito

RH: raquitismo hereditario. AD: autosómico dominante, AR: autosómico recesivo (Pediatr Int 2015; XIX: 477).

RAQUITISMOS HIPOFOSFATÉMICOS

Son un conjunto heterogéneo de entidades de origen genético o adquirido, que se caracterizan por desarrollar raquitismo y osteomalacia por alteraciones en el metabolismo del P. La Fig. 23 describe el algoritmo diagnóstico en un niño con clínica de raquitismo.

1- Causas ADQUIRIDAS:

La hipoP puede ocurrir por déficit en la absorción intestinal del mineral o por pérdidas patológicas en el riñón, siendo esta última causada por anomalías tubulares *per se* o por el efecto sobre el túbulo de factores circulantes como el FGF23 (origen tumoral, etc.). La nutrición parenteral prolongada puede provocar deficiencia de P. En respuesta a la hipoP aumenta la actividad de la FAL para reclutar el P a partir del pirofosfato óseo. La clínica puede confundirse con el raquitismo carencial; radiográficamente se aprecian los hallazgos raquíuticos de los cartílagos de crecimiento, pero suele estar ausente la osteopenia.

2- Causas HEREDITARIAS

2.1 Raquitismo hereditario hipofosfatémico ligado al X:

Es la forma más frecuente de los raquitismo hipofosfatémico hereditario (1:20.000 nacidos vivos). Se debe a una mutación en el gen *PHEX*, ubicado en el brazo corto del cromosoma X. Este gen codifica para una metaloproteinasa que se expresa en hueso y dientes, cuyo sustrato es el factor fosfatúrico humoral FGF-23, lo que produce un aumento en los niveles circulantes del mismo. La herencia es dominante ligada al X. La manifestación clínica más común es el retardo en el crecimiento corporal con talla baja. Con el transcurso del tiempo aparecen deformaciones de los miembros inferiores (genu valgum o genu varum) debido a la presencia de lesiones raquíuticas epifisarias en la parte distal del fémur y proximal de la tibia. También son frecuentes las alteraciones dentarias. En los casos graves pueden presentarse deformaciones óseas (coxa vara o tibias en forma de sable).

Cursa con aumento de la FAL, fosfatúria y RTP% disminuida. La concentración de Ca sérico puede hallarse normal o reducida. Los niveles de PTH son habitualmente normales. Sin embargo, algunos pacientes pueden desarrollar, después de períodos largos de tratamiento con fosfatos, hiperparatiroidismo secundario o terciario.

2.2 Raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante (RHAD):

Se caracteriza por la pérdida renal de P con desarrollo de hipoP persistente de carácter familiar. Está causado por mutaciones de ganancia de función en FGF23 que impiden su escisión proteolítica e incrementan su vida media en circulación. Presenta una forma autosómica dominante de herencia, con penetrancia variable; algunos miembros pueden no manifestar alteraciones del crecimiento mientras que en otros se observa raquitismo y osteomalacia, deformidades en las extremidades inferiores, dolor de huesos, baja estatura, anomalías dentales y alteración del metabolismo de la Vit D.

2.3 Raquitismos hipofosfatémicos autosómicos recesivos:

Tipo 1: Mutaciones inactivantes del gen DMP1, que codifica para la proteína DMP1 (Dentin Matrix Protein-1), la cual se expresa principalmente en líneas celulares de osteoblastos y osteocitos.

Tipo 2: Mutaciones del gen ENPP1, ubicado en el cromosoma 6q23, que codifica la pirofosfatasa/fosfodiesterasa 1 (ENPP1). Estas mutaciones incrementan la producción de FGF23, por lo que disminuye la RTP. En forma semejante a la variable de RHAD, los pacientes afectados pueden presentar crecimiento normal, en tanto que otros desarrollan deformidades óseas importantes (*genu valgum*) y retraso grave del crecimiento corporal.

2.4 Raquitismo hereditario hipofosfatémico con hipercalciuria

Se trata de un trastorno autosómico recesivo relacionado con mutaciones en el gen SLC34A3 que codifica el cotransportador Na/Pi NPT2c expresado en la membrana apical de las células tubulares proximales renales. A diferencia de las otras formas de raquitismo hipofosfatémico, cursa con niveles elevados de 1,25(OH)₂D, hipercalciuria y PTH deprimida. La clínica es variable, desde pacientes con patología ósea y signos de raquitismo u osteomalacia, hasta aquellos que se diagnostican únicamente por la aparición de nefrolitiasis o nefrocalcinosis secundaria a la hipercalciuria.

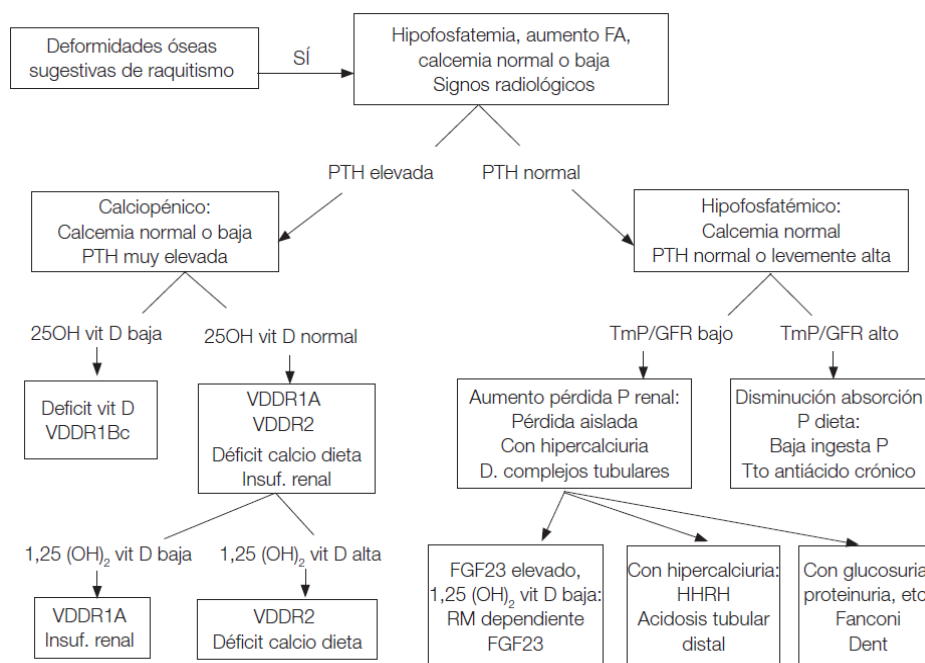


Figura 23. Algoritmo diagnóstico de un niño con clínica de raquitismo. -Raquitismo vitamina D-dependiente tipo 2A (VDDR2A): defecto en el receptor de la vitamina D.VDDR2B: Raquitismo vitamina D-dependiente tipo 2B, defecto posterior a la unión de la vitamina D a su receptor; VDDR1A: Raquitismo vitamina D-dependiente tipo 1A, defecto en la actividad de la 1 α -hidroxilasa; VDDR1B: Raquitismo vitamina D-dependiente tipo 1B, defecto en la actividad de la 25-hidroxilasa. (Ramon-Krauel M. *Rev Esp Endocrinol Pediatr* 2018; 9 (1)).

SINDROME DE FANCONI

El síndrome de Fanconi (SF) es una disfunción generalizada del túbulo proximal renal, caracterizada por hipofosfatemia debido a fosfaturia, glucosuria renal (sin hiperglucemia), aminoaciduria y proteinuria tubular. Puede existir acidosis metabólica hipoclorémica, hipovolemia con poliuria, polidipsia e hipocalcemia.

La etiología del SF incluye **enfermedades hereditarias** (enfermedad de Dent, cistinosis, tirosinemia tipo 1, galactosemia, enfermedad de Wilson, intolerancia hereditaria a la fructosa y miopatías mitocondriales) y **causas adquiridas** (secundarias a medicamentos y a metales pesados). Debido a la hipofosfatemia, se produce clínica de raquitismo u osteomalacia.

PRINCIPALES ALTERACIONES DEL METABOLISMO DEL MAGNESIO

HIPOMAGNESEMIA

La hipomagnesemia, definida como una concentración plasmática de Mg inferior a 1,7 mg/dL (<0,75 mmol/L o <1,5 mEq/L) se asocia con 4 posibles mecanismos:

- I.** Redistribución, provocada por traslocación de Mg del LEC al intracelular. Esto puede ocurrir en el denominado síndrome del hueso hambriento, en el cual el Mg se deposita en el hueso. Se observa en casos de hiperparatiroidismo post-paratiroidectomía o después de una tiroidectomía. La hipomagnesemia puede producirse también debido a hiperinsulinemia durante el tratamiento de la cetoacidosis diabética o en el síndrome de realimentación.
- II.** Disminución de la ingesta. Es poco frecuente. Puede ocurrir en desnutridos, alcohólicos y pacientes con nutrición parenteral total durante tiempos prolongados.
- III.** Pérdida gastrointestinal. Asociada a diarreas crónicas o resección quirúrgica del intestino. Se han reportado también mutaciones autosómicas recesivas en el gen TRPM6 que provocan hipomagnesemia con hipocalcemia secundaria.
- IV.** Pérdida renal. Alteraciones tubulares de carácter hereditarias que disminuyen la reabsorción renal de Mg (síndrome de Gitelman, síndrome de Bartter tipo III, etc.).

EL LABORATORIO EN EL ESTUDIO DEL METABOLISMO MINERAL Y ÓSEO

Mediante la determinación de parámetros específicos en sangre y orina (Tabla 10), el laboratorio contribuye a:

- Determinación del grado remodelación ósea.
- Diagnóstico diferencial y seguimiento de alteraciones del metabolismo mineral y óseo.

- Evaluación de la respuesta al tratamiento.
- Cirugía de paratiroides.

Dado que los disturbios en el metabolismo óseo-mineral son prevalentes en la ERC y generan complicaciones que se asocian con el incremento de la mortalidad cardiovascular, los valores séricos de Ca, P, FAL, PTH, Vit D, gases en sangre, ionograma, entre otros, deben ser determinados periódicamente a partir de estadio 3 de ERC.

Tabla 10. Principales parámetros bioquímicos en el laboratorio mineral-óseo

Sangre	Orina
Calcio Total	Calcio
Calcio iónico	Fósforo
Magnesio	Magnesio
Fósforo	Sodio
PTHi	Úrico, Citrato, Oxálico, Cistina(Litiasis)
25 Vit D	Marcadores Resorción
Marcadores Formación	
Marcadores Resorción	

En conjunto con las determinaciones específicas (Tabla 10), es importante evaluar parámetros bioquímicos como: hemograma, hepatograma, proteinograma, perfil tiroideo, gonadotrofinas y hormonas sexuales, para descartar otras enfermedades que pueden ser la causa primaria de las alteraciones metabólicas esqueléticas.

Determinación de Calcio Total

Se recomienda la determinación de Ca total como método de cribado en el estudio de las alteraciones en el metabolismo del Ca.

Consideraciones pre-analíticas:

La muestra de suero debe obtenerse en ayunas, ya que tras la ingesta de una dieta rica en Ca pueden elevarse sus niveles circulantes. Asimismo, debe evitarse el éstasis venoso por aplicación de torniquete.

Metodología:

El método de referencia para la determinación de la Ca total en suero es la espectrofotometría de absorción atómica. En el laboratorio se determina por distintos métodos espectrofotométricos automatizados y validados que emplean indicadores

metalocrómicos (o-cresolphataleín-complexona, arsenazo III, etc). Los valores de referencia (VR) dependen de la edad y de la metodología. VR: 8,5-10,5 mg/dL (2,1–2,6 mmol/L).

Efecto de la concentración de albúmina:

Los cambios en la concentración de albúmina, muy frecuentes en pacientes hospitalizados (malnutrición, síndrome nefrótico, etc.), alteran la relación entre el Ca total y el ionizado. Se considera que por cada 1 g/L de descenso de albúmina, el Ca sérico total disminuye 0,8 mg/dL. Por esta razón, la calcemia total no refleja en estos casos el Ca funcionalmente activo del individuo. Además, la calcemia puede aumentar en forma ficticia por una concentración elevada de proteínas (hemoconcentración, paraproteinemia, etc.). En este sentido, se han desarrollado fórmulas para corregir la [Ca], aunque sólo resultan orientativas y aplicables en condiciones normales de pH y temperatura.

a) Calcio corregido por albúmina: agregar 0,8 mg/dL a la calcemia medida por cada gramo de reducción de albúmina sérica por debajo de 4 g/dL.

$$\text{Ca corregido} = \text{calcio total} + 0,8 \times (4 - \text{Albúmina del paciente})$$

b) Calcio corregido por proteínas totales: calcemia medida, dividida por un factor que se obtiene sumando 0,55 al cociente proteinemia total/16.

$$\text{Ca corregido} = \text{calcio total} / [0,55 \times (\text{proteínas totales (g/dL)}/16)]$$

El pH, algunos fármacos y los ácidos grasos afectan la unión del calcio a las proteínas, por lo que el cálculo de los niveles de Ca corregido en estos casos puede dar lugar a errores. Así, por ejemplo, la acidosis produce un aumento de la fracción de ion Ca^{2+} , mientras que la alcalosis disminuye el Ca^{2+} por aumento de su unión a albúmina.

Determinación de Calcio Iónico

En pacientes críticamente enfermos, con hipoalbuminemia (o hipoproteinemia), uremia y/o alteraciones del equilibrio ácido-base, se recomienda la medida de calcio ionizado en lugar de la de calcio total debido a la inexactitud de las estimaciones de Ca total corregido por fórmula en estos pacientes (Tabla 11).

Consideraciones pre-analíticas:

Venipuntura sin estasis y procesamiento rápido. La aplicación del torniquete por tiempo prolongado puede provocar una disminución del pH y dar valores falsamente elevados de Ca^{2+} . Debe evitarse la hemólisis (hemoglobina >300 mg/dL disminuye *in vitro* la [Ca] libre).

Para sangre total, el anticoagulante debe ser heparina de Li o Na (≤ 15 IU/mL de sangre). Se recomienda el empleo de jeringas con heparina liofilizada para evitar la dilución por exceso de anticoagulante y seguir las recomendaciones internacionales para gasometría.

Si se utiliza suero, el tubo de extracción debe llenarse completamente y no destaparse hasta el momento del análisis para mantener la anaerobiosis. Si en la muestra se realizan otras determinaciones, la medida de Ca^{2+} debe ser la primera en realizarse. Se recomienda analizar la parte de la muestra más próxima al fondo del tubo (antes del coágulo o del gel separador), en donde los cambios por la apertura del tubo tardan más en producirse.

Metodología:

El método de referencia para la determinación de la $[\text{Ca}^{2+}]$ según la IFCC es la potenciometría directa con electrodo selectivo-ión Ca combinado con un electrodo externo de referencia. Estos sistemas suelen estar incorporados en analizadores de pH y gases (equipos multiparamétricos).

Tabla 11. Circunstancias en la que existe una discordancia entre la calcemia total y la ionizada.

Circunstancias	Calcemia total	Calcemia ionizada
Albúmina	Baja	Normal
Albúmina alta	Alta	Normal
Hipergammaglobulinemia (mieloma)	Alta	Normal
Alcalosis aguda ^a	Normal	Baja
Acidosis aguda ^a	Normal	Alta
Elevación brusca de los fosfatos, des citratos ^b	Normal	Baja
Gadolinio ^c	Baja	Normal
Estroncio ^c	Alta	Normal

^aLas variaciones agudas del pH sanguíneo hacen variar la calcemia ionizada por unión del calcio ionizado a la albúmina en caso de alcalosis o de liberación del calcio ionizado de la albúmina en caso de acidosis. ^bUn aumento brusco de los fosfatos o de los citratos disminuye, por precipitación, la calcemia ionizada sin modificar la calcemia total. ^cEl gadolinio utilizado en la resonancia magnética interfiere con el método de determinación colorimétrico del calcio total y puede sugerir pseudohipocalcemia. A la inversa, el estroncio puede, con el método colorimétrico, sugerir pseudohipercalcemia. (Hipocalcemia, Boulanger H. y col. EMC-Tratado de medicina 2014; 18: 1-7).

Determinación de Fósforo

Consideraciones pre-analíticas:

En la medición de fosfatos (P) la muestra de elección es suero, a fin de evitar la interferencia que generan la mayoría de los anticoagulantes. Una vez extraída la sangre, el suero debe separarse rápidamente, ya que el contacto prolongado con los hematíes puede reducir la [P]. Las muestras no deben estar hemolizadas, dado que los glóbulos rojos son ricos en ésteres de P, y pueden ocasionar resultados falsamente elevados.

Metodología:

La determinación de P inorgánico puede realizarse por técnicas espectrofotométricas automatizadas en donde los iones P reaccionan con molibdato de amonio para formar complejos de fosfomolibdato. También se pueden emplear sustancias reductoras que generan azul de molibdeno. Se han descrito técnicas enzimáticas para cuantificar P basadas en una serie de reacciones que culminan con la formación de NADPH y su posterior medición por espectrofotometría.

Valores de Referencia:

La [P] sanguínea es más alta en los primeros años de la vida y disminuye progresivamente con la edad. La somatotropina aumenta la resorción tubular de P y los estrógenos la disminuyen. La ingesta de carbohidratos o el aporte de soluciones glucosadas en sujetos en ayunas puede disminuir la fosfatemia al inducir la entrada de P a la célula.

- Recién nacidos: 3,6-8,2 mg/dL
- Neonatos: 4,4-7,5 mg/dL
- Niños y adolescentes: 3,7-7,3 mg/dL
- Adultos: 2,5-4,5 mg/dL

Producto [Ca] x [P]:

Es la concentración de Ca en suero (s) multiplicado por la concentración sérica de P.

$[\text{Ca}] \times [\text{P}] = \text{Ca s (mg/dL)} \times \text{P s (mg/dL)}$	VR: $<55 \text{ mg}^2/\text{dL}^2$
---	------------------------------------

La formación de CaHPO_4 , que se hidroliza en forma gradual para formar hidroxapatita, depende del producto [Ca] x [P]. Un valor [Ca] x [P] elevado se asocia con aumento en el riesgo de morbi-mortalidad cardiovascular, calcificación vascular e hiperparatiroidismo

secundario. La concentración de P en suero es responsable de la mayor parte de la variabilidad en el producto $[Ca] \times [P]$.

Determinación de Magnesio

En el laboratorio clínico puede determinarse **Mg total** en suero o **Mg iónico** en suero o plasma. No deben usarse muestras hemolizadas debido a la gran concentración de Mg presente en los glóbulos rojos. El método de elección para la determinación de la concentración de Mg es la espectrometría de absorción atómica. En el laboratorio se utilizan para la determinación de Mg total métodos colorimétricos de punto final basados en la unión del Mg a un indicador metalocrómico (calmagita, azul de xilidilo, etc.) a pH alcalino. La presencia de EGTA en el reactivo evita la interferencia del Ca. El Mg^{2+} en plasma es la forma fisiológicamente activa y además la forma que mejor refleja las reservas intracelulares de Mg. Se determina por potenciometría.

Determinación de paratohormona (PTH)

Consideraciones pre-analíticas:

Se sugiere como muestra óptima para PTH la sangre recolectada en tubos con EDTA (lila), ya que es más estable que en suero. El plasma debe ser separado dentro de las 24h y el procesamiento de la muestra debe realizarse dentro de las 72h, con el espécimen preservado a 4°C. En caso de emplear suero, la centrifugación debe ser inmediata y la muestra tiene que ser procesada dentro de las 3 a 4h posteriores a su obtención. La extracción sanguínea debe realizarse por la mañana, en ayunas, ya que PTH (al igual que Ca y P) muestran variaciones circadianas y tras la ingesta de alimentos. En pacientes sometidos a diálisis, la muestra debe obtenerse antes de iniciar la sesión. Se ha reportado que la PTH en sangre obtenida de una vía central es 30% mayor comparada con la obtenida de sangre periférica (pacientes en hemodiálisis, muestras intraoperatorias).

Metodología: Ensayos de PTH

Los ensayos de 1° generación para el dosaje de PTH eran radioinmunoensayos (RIA) competitivos que empleaban un único anticuerpo dirigido a regiones carboxiterminal o media de la molécula (Fig. 23). Tenían como desventaja su inespecificidad, ya que además de la PTH (1-84) valoraban todos los demás fragmentos de PTH circulantes.

Posteriormente, se diseñaron los ensayos de 2° generación (o PTH intacta), basados en un primer anticuerpo de captura dirigido contra la región C-terminal (entre aa 34-84) y un segundo anticuerpo de detección contra la región N-terminal de la molécula (entre aa 15-32). Además de dosar PTH 1-84, estos ensayos miden diversos fragmentos no 1-84 (entre

ellos un fragmento inactivo 7-84) y la «amino PTH» que posee una secuencia de aa similar a la molécula intacta (1-84), se encuentra fosforilada en el aa 17 y se sobreexpresa en diversas patologías, como el carcinoma de paratiroides.

Para resolver el problema del cruzamiento con el fragmento 7-84 se desarrollaron los ensayos de 3° generación (también llamados bio-PTH) en los que el segundo anticuerpo se dirige a la porción más distal del N-terminal (entre aa 1-4), por lo que determinan solo la PTH 1-84. Estos ensayos se encuentran automatizados en plataformas con detección por quimioluminiscencia o electroquimioluminiscencia.

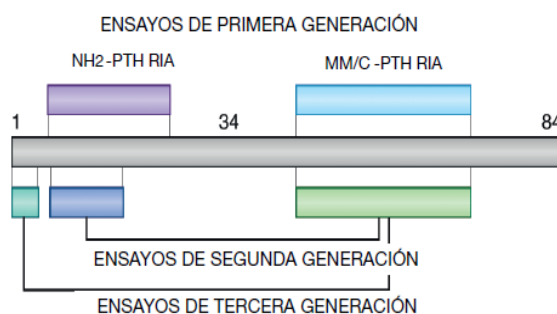


Figura 23. Diferentes anticuerpos dirigidos a la molécula de PTH en los ensayos de primera, segunda y tercera generación. Fradinger E. Actualizaciones en Osteología, 2015.

En la práctica, los ensayos de PTH de 2° y 3° generación tienen sensibilidad y especificidad suficientes para detectar no sólo concentraciones aumentadas de PTH en trastornos hiperparatiroides, sino también niveles suprimidos de PTH en sujetos con hipercalcemia no paratiroidea. Sin embargo, dado que los fragmentos C-terminales se eliminan por vía renal y se acumulan cuando existe disminución del filtrado glomerular (Fig. 24), se obtienen resultados de PTH más elevados con los métodos de 2° generación. Por otra parte, el uso de suplementos de biotina puede interferir en los resultados dependiendo del método de inmunoensayo utilizado.

La falta de homogeneidad de los distintos fabricantes a la hora de calibrar sus ensayos provoca una elevada variabilidad inter-metodológica en la medición de PTH en la práctica clínica. La calibración de los ensayos de PTH por los fabricantes debe realizarse contra el estándar internacional humano recombinante para PTH 1–84 (WHO International Standard; NIBSC code: 95/646).

Los laboratorios deben garantizar la manipulación adecuada de las muestras, informar el método de medición empleado y reportar cualquier cambio en la metodología o muestra de origen (suero o plasma), a fin de facilitar una correcta interpretación de los resultados.

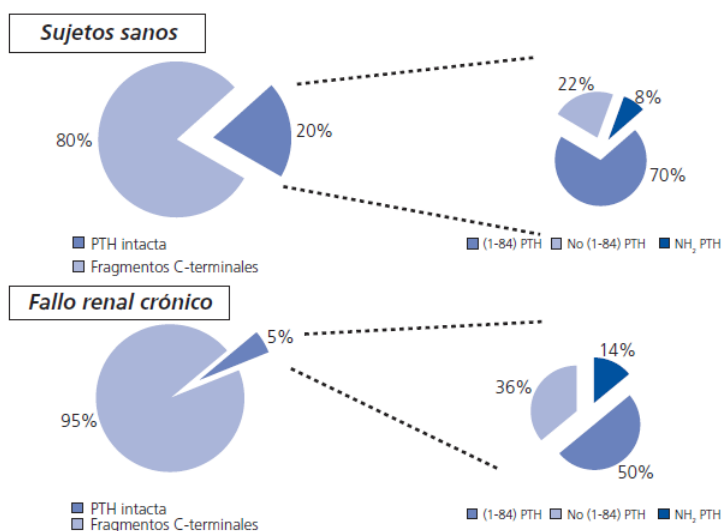


Figura 24. Péptidos paratiroideos circulantes. En individuos sanos la cantidad de C-PTH circulante es mayor (80%) al de la molécula intacta (20%) por su vida media más corta (5-8 minutos). Los fragmentos C-PTH se eliminan por vía renal. En la insuficiencia renal, los fragmentos C-PTH están en una proporción del 95%. Lo que se detecta como «PTH intacta» con los métodos de 2º generación incluye una serie de péptidos diferentes [(PTH 1-84), PTH No 1-84 y amino PTH], la proporción de los cuales es diferente en la insuficiencia renal (De La Piedra C. y col. Nefrología 2008; 2: 123-8).

Valores de referencia:

Los VR de PTH dependen del tipo de muestra y metodología empleada, estado nutricional, nivel de suficiencia de Vit D, edad, índice de masa corporal y función renal, entre otros. Se ha descrito que los niveles de PTH aumentan con la edad, aunque no es claro si dicho aumento ocurre en forma independiente de 25(OH)D, P, función renal o Ca, parámetros que también varían según la edad del paciente.

PTH en pacientes en la ERC

El método *gold standard* para el diagnóstico y clasificación de los desórdenes óseos es la biopsia ósea dinámica de cresta ilíaca con doble marcaje con tetraciclinas y estudio histomorfométrico. Es un procedimiento costoso, muy invasivo y doloroso. Se ha demostrado una pobre correlación entre PTH y el recambio óseo, sin embargo, a pesar de su debilidad como biomarcador, la PTH (en relación con los de Ca y P) es la mejor opción para evaluar el recambio óseo en forma no invasiva (Tabla 12). Los pacientes con ERC tienen tasas de recambio óseo que pueden ir desde anormalmente bajo hasta muy altas.

Tabla 12. Niveles y frecuencia de las determinaciones para la PTH.

Estadio ERC	Filtrado glomerular (mL/min)	Niveles de PTH (pg/mL)	Frecuencia de determinación
3a y 3b	30-59	< 65	6-12 meses
4	15-29	65-110	3-6 meses
5 No diálisis	< 15	65-110	3 meses
5 Diálisis		2-9 veces valor normal	3 meses

(2º Consenso de metabolismo óseo-mineral, 2017. Soc. Argentina de Nefrología).

Estadíos ERC 3 a 5 (sin diálisis)

- Niveles de PTH >450-500 pg/mL son indicativos de enfermedad ósea de alto remodelado (osteítis fibrosa o forma mixta) y excluyen la enfermedad de bajo remodelado con una elevada especificidad.
- Niveles de PTH <100-120 pg/mL se asocian con enfermedad ósea de bajo remodelado (forma adinámica u osteomalacia) con un alto valor predictivo positivo.

Pacientes en diálisis

- Se sugiere mantener los niveles de PTH en el rango de 2 a 9 veces el VR (77-347 pg/mL). Un cambio marcado de PTH dentro del rango obliga a iniciar un cambio de tratamiento.

Determinación de Vitamina D

Como se mencionó antes, la Vit D debe ser hidroxilada para ejercer sus funciones biológicas (Fig. 25).

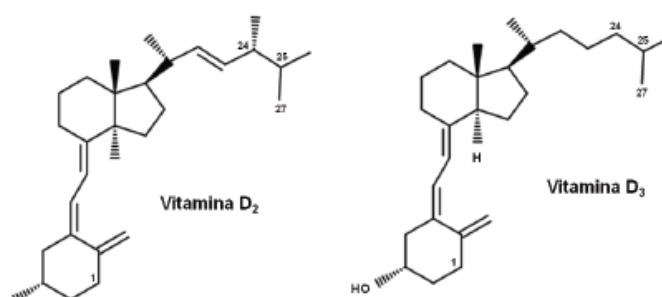


Figura 25. Estructura química de la vitamina D [25(OH)D].

Si bien la 1,25(OH)D es el metabolito activo, no se lo utiliza como marcador de estado nutricional por su vida media corta y porque su síntesis está estrictamente regulada por la PTH, el Ca, el P y el FGF23. La 25(OH)D se considera el mejor biomarcador para evaluar el estado de la Vit D en la sangre debido a que:

- i) Refleja tanto la producción endógena de Vit D como el consumo por dieta.
- ii) Es un metabolito inactivo, por lo tanto no es regulado en forma estricta.
- iii) Posee una concentración alta (VR: 30-100 ng/mL) en comparación con otros analitos relacionados (1.000 veces mayor que la de 1,25(OH)D).
- iv) Es estable en suero (vida media relativamente larga, alrededor de 3 semanas).
- v) Correlaciona mejor con los síntomas y signos de la deficiencia de Vit D que 1,25(OH)D.

Metodología:

El método de referencia la determinación de Vit D es la cromatografía líquida asociada a espectrometría de masa/masa (LC-MS/MS). Existen otros métodos de detección directa como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a la detección por radiación ultravioleta, etc. Son métodos que permiten cuantificar en forma independiente 25(OH)D₂ (ergoferol) y el 25(OH)D₃ (calcidiol), pero son lentos y consumen un gran volumen de muestra, por lo que no son aplicables al laboratorio de rutina.

Los métodos para evaluar los niveles de 25(OH)D a nivel clínico son en su mayoría inmunoensayos automatizados (métodos químico y electroquimioluminiscentes) que emplean anticuerpos específicos para 25(OH)D₂ y 25(OH)D₃ (vitamina D total). Sin embargo, casi todos los estudios clínicos con los cuales se han definido los actuales niveles de corte de deficiencia o suficiencia de Vit D se realizaron utilizando el primer método de radioinmunoanálisis (RIA) que se desarrolló y que aprobó la FDA: el de DiaSorin.

Los inmunoensayos para la cuantificación de 25(OH)D presentan inconvenientes como:

- i) Efecto matriz: dada la naturaleza lipofílica de Vit D, la presencia de lípidos y otros elementos del suero/plasma pueden modificar la afinidad de unión al anticuerpo de captura.
- ii) Disociación de la 25(OH)D a su proteína de transporte (DBP): representa un paso clave en todo ensayo, ya que para su análisis se requiere que la 25(OH)D no esté unida a DBP. En los RIA, HPLC y EM se realiza una extracción previa con solventes orgánicos, que liberan en forma óptima a toda la 25(OH)D de su unión con la DBP. En los ensayos automatizados cada proveedor define tratamientos diferentes para la liberación de la hormona unida a la proteína transportadora, aunque la separación puede no ser completa, en particular en patologías en las que se encuentra alterada la concentración de DBP (hemodializados, pacientes críticos y embarazadas).
- iii) Especificidad: la presencia de múltiples metabolitos de Vit D (Tabla 13) pueden interferir en los ensayos, ya que la afinidad del anticuerpo por ellos es variable. Es indispensable que el anticuerpo utilizado reconozca tanto a la 25(OH)D₃ como a la 25(OH)D₂; la infraestimación de 25(OH)D₂ observada con algunos fabricantes plantea un problema para establecer el estatus de Vit D, en especial en pacientes tratados con suplementos de vitamina D₂. Por otra parte, los métodos disponibles en la actualidad tienen una reactividad

cruzada del 100% con la 24,25(OH)₂D, un producto de la degradación de la 25(OH)D₃ cuya síntesis se estimula en la ERC, con lo que podría sobrestimarse la eficacia de la suplementación y no corregir de manera adecuada la deficiencia de Vit D.

Tabla 13. Metabolitos de la vitamina D.

Metabolito	Descripción
25(OH) D ₃	La sumatoria conforma la 25(OH) D (25-hidroxivitamina D), también conocida como calcidiol. Estos dos metabolitos son producidos por la hidroxilación de la vitamina D ₂ y D ₃ en el hígado.
25(OH) D ₂	
3-epi-25(OH) D ₃	Se creía que este epímero estaba presente sólo en recién nacidos sin embargo, recientemente se ha detectado en un número limitado de adultos. La importancia clínica de 3-epi-25(OH) D ₃ es aún incierta, pero puede interferir en la cuantificación de la 25(OH) D y con ello, en la fiabilidad del resultado.
1,25(OH) ₂ D ₃	Conforman la 1,25(OH) ₂ D (1,25-dihidroxivitamina D); es la forma hormonal más activa de la VD, también conocida como calcitriol. Se produce por hidroxilación en los riñones o en otros tejidos de 25(OH) D ₃ y 25(OH) D ₂
1,25(OH) ₂ D ₂	
24,25(OH) ₂ D ₃	

(Serrano N y col.. Cuantificación de vitamina D: de la investigación a la práctica clínica. Revista Biosalud 2017; 16: 67-79).

iv) Calibración: Se han reportado discrepancias entre los datos de 25(OH)D medidos por diferentes laboratorios. Los inmunoensayos utilizan calibradores de referencia (SRM 972 y SRM 2972) desarrollados por el *National Institute of Standards and Technology* (NIST) en 2009, cuya finalidad es intentar disminuir la variabilidad entre los diferentes métodos.

v) Otros: anticuerpos heterófilos o ciertos fármacos pueden interferir con los inmunoensayos de Vit D. Si existen discrepancias entre la clínica y el valor hallado en el laboratorio, se sugiere realizar diluciones seriadas de la muestra, medirla en otra plataforma analítica o tratar el espécimen con reactivos que bloquean los anticuerpos heterófilos.

Valores de Referencia:

Suelen aceptarse los siguientes puntos de corte para 25(OH)D sérico:

- <20 ng/mL para definir la **deficiencia** de Vit D.
- 21-30 ng/mL como niveles **subóptimos (insuficiencia)** de Vit D.
- >31 ng/mL como valores **suficientes**.

Debe repetirse la determinación de 25(OH)D durante el tratamiento de la deficiencia de Vit D. En enfermos renales se sugieren niveles ≥30 ng/mL para todos los estadios de ERC. Se sugiere el seguimiento del paciente por la misma metodología y en el mismo laboratorio.

Se prefiere que los laboratorios informen la Vit D como **Vitamina D total** (D₂ + D₃), ya que informar por separado puede generar confusión.

Determinación de 1,25(OH)₂D

La medición de 1,25(OH)₂D está indicada en los casos en los que exista una patología con trastornos del metabolismo fosfocálcico/Vit D: pacientes con ERC, hiperparatiroidismo primario, sarcoidosis, osteomalacia oncogénica, raquitismo resistente a Vit D, pseudo-raquitismo por deficiencia de Vit D y raquitismo hipofosfatémico.

MARCADORES DE REMODELADO ÓSEO (MRO)

La densitometría ósea es la técnica actual establecida para medir la DMO y constituye un potente predictor de futuras fracturas. Sin embargo, los cambios en la DMO son lentos. En este sentido, la aplicación clínica de los marcadores metabólicos óseos ofrece una determinación más dinámica del remodelado, reflejando con precisión el estado del metabolismo del hueso en el momento de la determinación. Por lo tanto, los marcadores de remodelado óseo (MRO) brindan información diferente pero complementaria a la DMO.

Clásicamente se han subdividido en marcadores de formación y de resorción, si bien algunos de ellos pueden reflejar ambos procesos (Tabla 14):

- **Marcadores de formación:** Son productos derivados de osteoblastos activos y que se expresan en diferentes estadios de la diferenciación. Se miden en suero o plasma.
- **Marcadores de resorción:** La mayoría de los marcadores de resorción son producto de la degradación del colágeno. El resto expresa actividad de enzimas osteoclásticas. Pueden medirse en sangre o en orina.

Tabla 14. Marcadores bioquímicos de recambio óseo.

Marcadores de formación	Marcadores de resorción
Suero Fosfatasa alcalina total (FA) Fosfatasa alcalina ósea (FAO) Osteocalcina (OC) Propéptido C-terminal del protocolágeno tipo I (PICP) Propéptido N-terminal del protocolágeno tipo I (PINP)	Suero Fosfatasa ácida tartrato-resistente (TRAP) Telopéptido C-terminal del colágeno tipo I (ICTP) β-CrossLaps (β-CTX) Telopéptido N-terminal del colágeno tipo I (NTX) Orina Excreción urinaria de calcio Hidroxiprolina Piridinolina (Pir) Deoxipiridinolina (Dpir) Telopéptido C-terminal del colágeno tipo I (ICTP) α-CrossLaps (α-CTX) Telopéptido N-terminal del colágeno tipo I (NTX)

(Romero Barco CM y col. Reumatol Clin. 2012; 8:149-52).

Los MRO son útiles en la evaluación y el manejo de diversas enfermedades metabólicas óseas como enfermedad de Paget, metástasis óseas osteoblásticas y osteodistrofia renal, entre otras (Tabla 15). Sin embargo, los MRO no deben emplearse con fines diagnósticos. Reflejan la actividad metabólica del hueso (aumento o disminución del recambio óseo), pero no cumplen funciones en la modulación de la homeostasis esquelética.

En mujeres postmenopáusicas, los MRO se emplean en la monitorización de la terapia anti-resortiva; su actividad disminuye con el tratamiento, mientras que la no disminución sería indicativa de poca adherencia a la terapia o ausencia de respuesta a ésta.

Tabla 15. Enfermedades que modifican la remodelación ósea.

Patologías que cursan con alteraciones de los marcadores de remodelación ósea	
- Osteoporosis	- Insuficiencia Renal
- Hiper cortisolismo	- Enf. celíaca
- Hipogonadismo	- Artritis reumatoidea
- Hipertiroidismo	- Inmovilización
- Hiperparatiroidismo	- Mieloma múltiple
- Enf. de Paget	- Hipercalcemia maligna

Limitaciones en el uso de MRO

Un marcador debe reunir ciertas condiciones para ser considerado útil:

- 1- Demostrar diferencia en la tasa de turnover óseo pre y post menopausia.
- 2- Tener variación analítica mínima.
- 3- Ser capaz de demostrar un cambio significativo en respuesta al tratamiento.
- 4- Poder demostrar cambios a corto plazo para la toma de decisiones.

En los últimos años se han desarrollado diversas técnicas para determinar la concentración de los MRO específicos. Sin embargo, la notable variabilidad analítica y biológica que poseen limita aún su aplicabilidad clínica. En términos generales, los marcadores óseos séricos presentan menor variabilidad biológica que los urinarios y es por ello que son más consistentes y reproducibles.

Las causas de variabilidad pueden dividirse en:

- Variabilidad pre-analítica: Tiene un fuerte efecto sobre los MRO.
 - i) Controlable: dieta, ejercicio físico, ritmos circadianos, cambios estacionales.
 - Marcadores séricos: tomar la muestra en ayunas por la mañana.
 - Marcadores urinarios: se cuantifican en la segunda muestra de la mañana, en ayunas.

ii) No controlable: edad, sexo, etnia, reparación de fracturas, función renal y hepática, otras enfermedades asociadas, etc. Para minimizar su efecto, sería preciso usar VR adecuados para cada circunstancia.

- Variabilidad analítica (intraensayo e interensayo): persiste a pesar de haber disminuido sensiblemente con los métodos automatizados. Actualmente se trabaja en la estandarización de los métodos de medición, el establecimiento de VR para los diferentes analitos y la disponibilidad de estándares de referencia confiables.

El grupo de trabajo IOF-IFCC (*International Osteoporosis Foundation; International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*) propuso al propéptido del procolágeno tipo 1 (PINP) y CTX séricos como marcadores de referencia de formación y resorción ósea, respectivamente. Estos marcadores fueron seleccionados porque se consideran que cumplen con las siguientes condiciones: reflejo de la respuesta al tratamiento, baja variabilidad intraindividual, clara caracterización bioquímica y accesibilidad para laboratorios en la práctica asistencial.

Fosfatasa Alcalina Ósea (FAO)

Las Fosfatasas Alcalinas (FAL) son un grupo de isoenzimas que catalizan la hidrólisis de ésteres fosfóricos para proveer una alta concentración de fosfato y favorecer mineralización (actividad máxima a pH 9-10). Su estructura es glicoproteica y se encuentran ligadas a las membranas celulares. Se conocen tres genes vinculados con las FAL. Uno de ellos codifica las isoenzimas hepática, ósea, renal y placentaria del primer trimestre, las que se diferencian por su patrón de glicosilación, el cual determina distintas propiedades fisicoquímicas y antigénicas. Otros dos genes codifican las isoenzimas intestinal y placentaria del tercer trimestre. En adultos, la fosfatasa alcalina ósea (FAO) representa alrededor del 40% de la FAL total, pero durante periodos de crecimiento (niñez y adolescencia) predomina la FAO, mientras que en el tercer trimestre del embarazo cobra importancia la isoenzima placentaria. La FAO es una isoenzima sintetizada por los OB y sus precursores, y participa del proceso de calcificación del osteoide. Por ello, su aumento en suero es indicador indirecto de actividad osteoblástica.

Para evaluar el origen de un aumento de FAL total existen diferentes métodos:

- 1) Determinación de gamma glutamil-transpeptidasa y 5'-nucleotidasa (en presencia de alteraciones hepatobiliares, aumentan en forma paralela a la isoenzima hepática; valores dentro del intervalo de referencia orientan hacia una etiología ósea).
- 2) Determinación de FAO por inmunoensayos (ELISA o IRMA, con anticuerpos monoclonales). Los fabricantes reportan aún cierta reactividad cruzada con la isoforma hepática, lo que limita su utilidad en presencia de daño hepático.

3) Inactivación diferencial por calor (a 56 °C, la isoenzima hepática es termoestable y la ósea es termolábil).

4) Electroforesis.

5) Precipitación con lectina de germen de trigo (afinidad por los residuos de ácido siálico, por lo que se une a la isoenzima ósea, que se halla más sializada que la hepática).

La determinación de FAO posee baja sensibilidad y especificidad en condiciones en las que el nivel de incremento del remodelamiento óseo es mediano, como en la osteoporosis. Sin embargo, representa el marcador óseo de elección en caso de enfermedad renal. El diagnóstico y seguimiento de pacientes con enfermedad de Paget puede realizarse con FAL total. Las principales causas de aumento de FAO se señalan en la Tabla 16.

Tabla 16. Causas de aumento de fosfatasa alcalina ósea sérica

CAUSAS DE AUMENTO DE FOSFATASA ALCALINA ÓSEA SÉRICA
Crecimiento (niños-adolescentes)
Curación de fracturas
Hipertiroidismo
Hiperparatiroidismo
Osteomalacia
Enfermedad de Paget del hueso
Osteosarcoma
Metástasis óseas osteoblásticas

(Kolinski SC y Plantalech L. Rev. Hosp. Ital. B. Aires 2017; 37, 2)

OSTEOCALCINA (Bone GLA Protein-BGP)

La osteocalcina (OC) es un péptido de 49 aa sintetizado por los OB que se incorpora en la matriz extracelular del hueso. Constituye el componente proteico no colágeno más importante de la matriz ósea. Se sintetiza como una molécula precursora, la pro-OC, bajo el control de la Vit D. Luego es carboxilada en residuos de ácido glutámico (posiciones 17, 21 y 24), originando la OC carboxilada (OCc), por un mecanismo dependiente de Vit K. Esta modificación postraduccional provoca un cambio conformacional que estabiliza la proteína y le confiere afinidad por Ca^{2+} y la hidroxiapatita del hueso (Fig. 26). La porción que no se incorpora al hueso difunde al suero, y allí se evalúa como un marcador de formación ósea.

Una fracción de la OC sintetizada no se incorpora al hueso por presentar menos de 3 residuos carboxilados y se la conoce como OC subcarboxilada (OCsc); puede derivar de una carboxilación parcial durante su síntesis o descarboxilación de la OCc en el microambiente ácido inducido durante la resorción ósea. Concentraciones elevadas de

OCsc en circulación se asocian a fragilidad ósea y a un incremento del riesgo de fractura, además de constituir un marcador clínico del estado de suficiencia de Vit K.

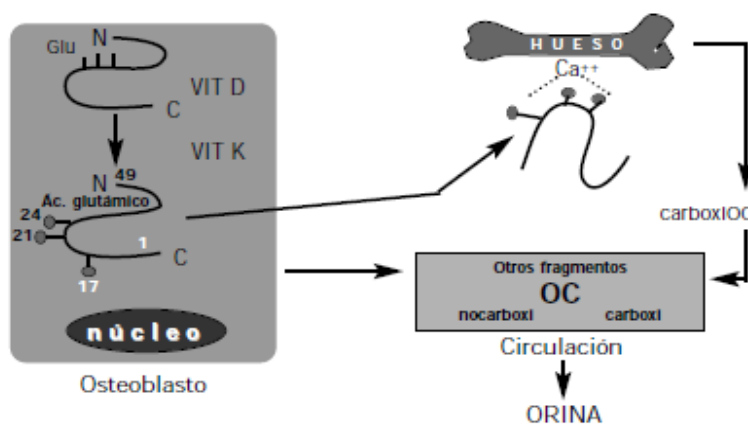


Figura 26. Metabolismo de la osteocalcina (Acta Bioquím Clín Latinoam 2009; 43: 177-93).

Laboratorio

La OC en suero es un “pool” heterogéneo de moléculas con estructuras diferentes:

- **OC intacta (1-49):** Fragmento NH₂ terminal reconocido por anticuerpos monoclonales dirigidos a la región 5-13 y 25-37. Al no dosar el fragmento lábil 44 - 49 COOH terminal (C-Mid), se elimina el problema de la inestabilidad de la molécula (Fig. 27).
- **Fragmento N-Mid (1-43):** La OC intacta es muy inestable *in vitro* debido al desdoblamiento proteásico a nivel de los aa 43 y 44, generando el fragmento N-Mid (1-43), el cual poseen mayor estabilidad que la OC (1-49).

La diferente reactividad de los distintos fragmentos circulantes provoca variaciones en función de los distintos inmunoensayos utilizados, lo cual limita la utilidad de la OC en la práctica clínica. Los VR dependen del test empleado, por lo que cada laboratorio debería verificar si los intervalos de referencia informados por el fabricante pueden aplicarse a su grupo de pacientes, y en caso de ser necesario, establecer sus propios valores.

Algunos autores sugieren que los inmunoensayos que miden la molécula intacta más el fragmento N-Mid garantizan resultados de medición más estables en el laboratorio de rutina.

La **OCsc**: se determina generalmente por ensayos de electroquimioluminiscencia que reconoce el N-Mid OC. Se trata de ensayos de dos pasos, que comprenden la depleción de la OCc presente en la muestra por su afinidad con hidroxapatita, seguido de la medición del OC no unida, que corresponde a la OCsc.

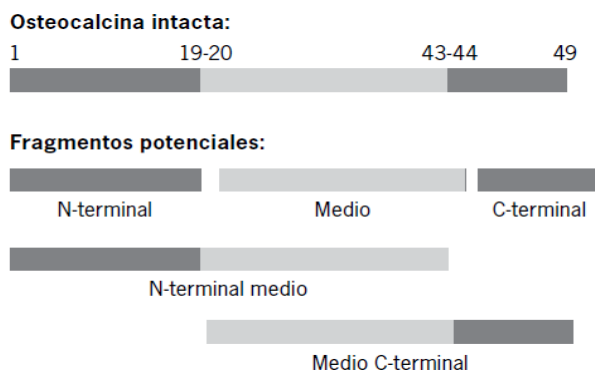


Figura 27. Degradación de la osteocalcina (Rev Hosp Clín Univ Chile 2016; 27: 55-63).

Consideraciones pre-analíticas:

La OC sigue un ritmo circadiano caracterizado por un recambio óseo nocturno, con un máximo de secreción a las 4 am y un nadir a las 5 pm. La toma de muestra debe realizarse en ayunas entre las 8-9 h.

Muestra: suero o plasma (heparina, EDTA). Evitar la hemólisis, ya que los eritrocitos contienen proteasas que degradan la OC. Los sueros lipémicos pueden dar valores falsamente reducidos por unión de la OC a los lípidos.

Los valores de OC son mayores en niños que en adultos, con un pico en la pubertad. En adultos las concentraciones son relativamente estables. En el HPTP y secundario, en la enfermedad de Paget y en la IRC los niveles de OC se incrementan, mientras que disminuyen por el tratamiento con corticoides y en la osteomalacia. Se emplea en el monitoreo de la respuesta a hormona de crecimiento (GH) en trastornos por déficit de GH.

PÉPTIDOS DE PROCOLÁGENO:

Propéptido C-terminal del procolágeno tipo I (P1CP)

Propéptido N-terminal del Procolágeno tipo I (PCNP)

La molécula de colágeno tipo I es el principal constituyente de la matriz ósea y se sintetiza en el interior de los OB en forma de un precursor, el procolágeno tipo I, que cuando es liberado al exterior se escinde en sus extremos amino (P1NP) y carboxiterminal (PCNP). A pesar de que estos propéptidos también son sintetizados en piel, tendones, ligamentos, córnea, vasos sanguíneos y cartílago, entre otros tejidos, su fuente principal es el hueso. La cuantificación de P1NP y PCNP en plasma es un reflejo de la velocidad de formación de nuevo colágeno tipo I, que se relaciona con la cantidad de matriz ósea sintetizada. Ambos siguen un ritmo circadiano con valores pico en la mañana, y usualmente no están influenciados por la dieta. Son útiles en el monitoreo de los pacientes tratados con hormona paratiroidea o 1,25(OH)D y en casos de inmovilización prolongada. Algunos estudios

demuestran que en la osteoporosis, el P1NP tiene una mayor sensibilidad que el PCNP, por lo que fue recomendado por la *International Osteoporosis Foundation* (IOF) y otras organizaciones como marcador de formación de elección y como analito de referencia en estudios clínicos. P1NP no presenta correlación significativa con la edad, pero sí respecto al sexo, hallándose concentraciones más elevadas de P1NP en mujeres que en hombres.

Laboratorio

Muestra: Suero. Extraer la muestra en ayunas, entre las 8 y 10 h.

Metodología: quimioluminiscencia, electroquimioluminiscencia.

MARCADORES DE RESORCION OSEA O DE ACTIVIDAD OSTEOCLASTICA

HIDROXIPROLINA (OHP)

Proviene de la hidroxilación post transcripcional de prolina y representa el aa más abundante de las fibras de colágeno maduro (10%). El 90% de la hidroxiprolina (OHP) es liberada durante la degradación del colágeno tipo I y en plasma se la puede encontrar bajo tres formas: libre, unida a péptidos y unida a proteínas.

La OHP es metabolizada antes de ser excretada a nivel renal. Su excreción urinaria (10-15%) es un índice de la actividad de resorción ósea, pero también de formación (debido a que un porcentaje significativo de colágeno recientemente sintetizado puede ser rápidamente degradado). Por ello, la excreción de OHP es mayor en los niños y adolescentes que en adultos. Su eliminación urinaria está influida por alteraciones en la función hepatorenal y por la ingesta.

Laboratorio

Muestra: orina de 24h (durante la recolección debe mantenerse la muestra en la heladera). Se recomienda la supresión de carnes rojas y blancas, helado, gelatina, mermeladas o dulces durante los 2 días previos a la recogida de la orina.

Metodologías disponibles:

- Técnicas colorimétricas: Se determina por oxidación y posterior reacción HOP oxidada con 4-dimetilaminobenzaldehído (DMAB), que da como resultado un producto coloreado que se lee a 560nm, proporcional a la OHP presente en la muestra. En la orina, aproximadamente el 90% de la OHP se encuentra unida en pequeños péptidos, por lo que resulta indispensable su hidrólisis previa. VR: 15-60 mg/24h.
- HPLC en fase reversa.

Se considera a la OHP un marcador poco sensible y específico de resorción ósea debido a que puede ser afectada por la síntesis de nuevo colágeno, a su patrón metabólico y a la alta variación diurna que presenta. No obstante, posee utilidad como marcador de resorción en el hiperparatiroidismo, el hipoparatiroidismo y el seguimiento de la enfermedad de Paget.

ENLACES CRUZADOS (*cross links*) DEL COLÁGENO:

Piridinolina (Pyr)

Deoxipiridinolina (D-Pyr)

Cuando el colágeno se deposita sobre la matriz ósea, lo hace en forma de fibrillas longitudinales. Estas fibrillas son inmaduras y no tienen la fuerza de tensión necesaria hasta que no son estabilizadas por una serie de uniones covalentes intra e intermoleculares (*cross links*), que dan lugar a estructuras cíclicas llamadas piridinolinas: si el residuo que interactúa dentro de la molécula de colágeno es la hidroxilisina el producto de entrecruzamiento maduro se denomina piridinolina (Pyr), mientras que si se trata de un residuo de lisina se lo denomina deoxipiridinolina (D-Pyr).

Cuando el colágeno comienza su degradación en los procesos de resorción ósea, pueden liberarse puentes de Pyr o D-Pyr (libres o asociados a péptidos). Se excretan por orina en forma libre (~ 40%) y ligada a péptidos (~ 60%). Su excreción es más alta por la noche, no está influida por la dieta y no sufren metabolización ni reutilización posterior. Los *cross links* no son exclusivos del hueso, pero como el tejido óseo es el mayor reservorio del colágeno tipo 1 y se remodela más rápidamente que el resto de los tejidos conectivos, se considera que la mayoría de los *cross links* presentes en la orina de un adulto derivan de la resorción ósea. La D-Pyr urinaria es más específica que la Pyr como marcador de resorción ósea, ya que se localiza casi exclusivamente en hueso y dentina.

Los *cross links* están directamente relacionados con la resorción del colágeno, principalmente en estados de enfermedad activa; se hallan elevados en la infancia y adolescencia, menopausia, enfermedad de Paget, hiperparatiroidismo y en la hipercalcemia maligna, y disminuyen durante el tratamiento con fármacos antirresortivos.

Laboratorio

Muestra: orina de 24 horas, primera orina de la mañana en ayunas u orina de 2h (recogida 2h después de la primera micción de la mañana). Todas las determinaciones urinarias se pueden expresar como un cociente de la excreción de creatinina.

Metodología: RIA, ELISA, HPLC, quimioluminiscencia. La deoxipiridinolina libre medida por inmunoensayo constituye los "*pyrilinks-D*".

TELOPEPTIDOS del COLÁGENO TIPO 1

N-Telopéptidos (NTx)

C-Telopéptidos (CTx) o beta crosslaps

Los telopéptidos (o fracción no helicoidal del colágeno) C-terminal (CTx) y N-terminal (NTx) son productos de la degradación del colágeno tipo I, liberados durante la actividad de los OC, y son marcadores de la pérdida de proteína colágena del hueso (Fig. 28). Se producen en relación estequiométrica 1:1, y sus concentraciones séricas se correlacionan con la intensidad de la degradación de las fibras de colágeno tipo I.

Las primeras determinaciones séricas de CTx reconocían el fragmento ICTP, que fue pronto abandonado por su escasa sensibilidad y especificidad. En la actualidad se prefiere determinar un octapéptido de la cadena alfa-1 que, dependiendo de la beta-isomerización o no del residuo de ácido aspártico, se denominan *beta-crosslaps* (β CTx) o *alfa-crosslap*. Durante la resorción ósea, ambas formas se liberan a circulación y se eliminan por orina. Se acepta que la isomerización aumenta con la edad del hueso y alcanza un equilibrio a los tres años de mineralización del mismo. En la actualidad, β CTx sérico es considerado como una de las determinaciones bioquímicas de resorción ósea de mayor sensibilidad y especificidad.

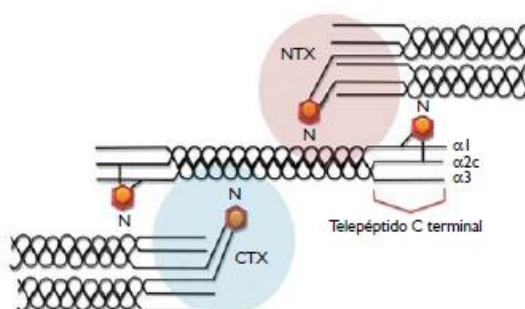


Figura 28. Telopéptido carboxi y amino terminal del colágeno tipo I (Barba EJR. Marcadores de remodelado óseo y osteoporosis (Rev Mex Patol Clin 2011; 58: 113-37).

Las concentraciones de fragmentos CTx pueden estar muy influidas por la ingesta, por lo que deben determinarse siempre en ayunas, desventaja que no presentan los NTx. Los niveles máximos de CTx en sangre se observan durante la madrugada (2 a 6 a.m).

Los niveles de telopéptidos en sangre u orina se incrementan en pacientes con enfermedades óseas asociadas a aumento de la resorción (osteoporosis posmenopáusica) y disminuyen en respuesta al tratamiento antiresortivo. El riesgo relativo de fractura de cadera está aumentado en pacientes con baja masa ósea y niveles elevados de NTx y CTx.

Laboratorio

Muestra: Suero (extraer la muestra en ayunas, entre las 8 y 10 h). Orina (segunda orina de la mañana, en ayunas).

Metodología: ELISA, quimioluminiscencia, electroquimioluminiscencia.

Otros marcadores de resorción ósea

Una limitación atribuida a los MRO clásicos es su falta de especificidad, por ello en la actualidad se está valorando la utilidad de otros analitos como:

- Fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP5b): enzima secretada por los OC durante la resorción activa del hueso.
- Catepsina K: proteasa expresada de forma abundante y selectiva en los lisosomas de los OC (en el borde rugoso del OC maduro y en la laguna de resorción sobre la superficie ósea). Capacidad para degradar el colágeno tipo I.
- Sialoproteína ósea: Constituye entre 5-10% de la matriz no colágena del hueso y participa en organización supramolecular de la matriz extracelular de tejidos mineralizados.
- Sistema RANK/RANKL-OPG: determinantes del grado de resorción ósea.

DETERMINACIONES URINARIAS (Ca, P, Mg)

Las determinaciones urinarias de **calcio**, **fósforo** y **magnesio** son necesarias en el diagnóstico diferencial y monitorización de los cálculos renales, así como en la evaluación de su excreción renal ante niveles anómalos de estos analitos en sangre.

Pueden expresarse como **índices**, que representan los mg o mEq del analito a estudiar (x) que aparecen en la orina en relación a la creatinina filtrada (Cr). Se calcula dividiendo la concentración de ambas en orina (U_x/U_{Cr}).

Calcio urinario (24 h)

La concentración de calcio urinario (Ca U/24h) es resultado de los procesos de absorción intestinal, remodelación ósea y reabsorción tubular proximal y distal del Ca. Posee baja sensibilidad y especificidad debido a factores como ingesta de Ca, Na, K, proteínas, niveles de PTH y estrógenos, entre otros. Se recomienda medir en forma paralela el Na urinario/24h (dietas bajas en Na tienden a disminuir la calciuria y viceversa).

<p>Calcio U/24h= 100-250 mg/24h en la mujer 100-300 mg/24h en el hombre</p>
--

El Ca U/24h es la única muestra normalizada para diferenciar entre HPTP e hipercalcemia hipocalciúrica familiar.

Los valores de Ca U pueden también expresarse en función del peso corporal del paciente (mg/kg/día). Se aplica en niños, para minimizar las variaciones en la excreción de Ca U relacionadas con la edad.

$$\text{Calcio/kg peso} = \frac{\text{Ca U (mg /24h)}}{\text{peso (kg)}} \quad \text{VR: hasta 4 mg/kg/día}$$

La excreción de Ca U puede expresarse considerando la concentración de creatinina en orina (Cr U), para comprobar la correcta recolección de la muestra.

$$\text{Calcio/Cr U} = \frac{\text{Ca U (mg/24h)}}{\text{Cr U (mg/24h)}} \quad \text{VR: <0,30 mg/mg}$$

Consideraciones preanalíticas:

Pueden producirse precipitaciones de sales de Ca durante la recolección o retraso en el procesamiento de la muestra, especialmente en orinas alcalinas con alta concentración de fosfatos. Para evitar la cristalización de fosfato cálcico y oxalato cálcico es recomendable la acidificación de la orina durante la recogida y conservación (HCl 6N).

Calcio urinario (2 h)

De forma práctica, si no es posible realizar una recolección de orina de 24 h, los niveles de calciuria pueden estimarse a partir de la [Ca] y creatinina obtenidas en una muestra aislada de orina, valorando la proporción o relación entre ambas. Una relación Ca/Cr, expresada en mg/mg >0,2 sugiere hipercalciuria. Se mide en la segunda orina de la mañana (obtenida en ayunas, luego de finalizada la recolección de la orina de 24h), después de beber 200mL de agua destilada.

$$\text{Calcio U/Cr U de ayuno (mg/2h)} \quad \text{VR <0,11}$$

El índice Ca/Cr U posee una elevada variabilidad dependiendo de la edad, sexo, etnia, dieta, área geográfica, etc, por lo que cada laboratorio debería establecer sus propios intervalos de referencia.

Una vez descubierta la hipercalciuria, el paso siguiente consiste en contrastarla contra los niveles de calcio en sangre. En función de la presencia de normo o de hipercalcemia, se desarrollan los distintos algoritmos diagnósticos (Fig. 29).

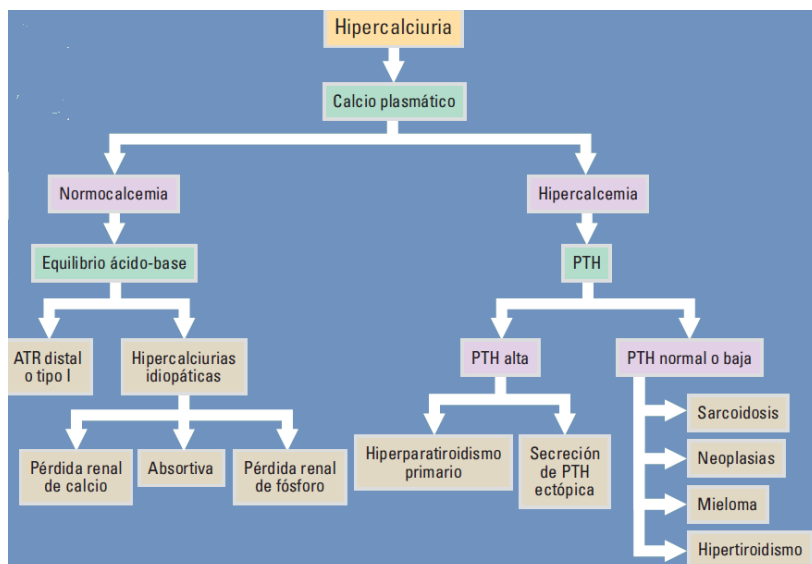


Figura 29. Protocolo diagnóstico de las alteraciones en la calciuria y la fosfaturia (Menacho Miguel JA y Arribas A. Medicine 2007; 9: 5232-4).

Fósforo urinario

La eliminación promedio de fosfato en orina (P_u) suele ser de 1g/24h, y puede variar según la dieta entre 0,5 y 3 g/24h, dependiendo fundamentalmente del aporte exógeno y de la acción de la PTH, aunque está influido también por otros factores (hormonas tiroideas, acidosis, corticoides, catecolaminas). Se lo encuentra bajo la forma de fosfato bicálcico, tricálcico y amonio-magnésico, y tiende a precipitar a pH alcalino. Mediante el uso de distintos cocientes o índices se intenta expresar de forma más precisa la eliminación de P_u.

Fracción de Excreción de Fosfato (FEP%):

Se refiere al volumen de sangre que queda desprovisto de P por cada 100mL de filtrado. El P absorbido se excreta por riñón, con una FEP del 5-20% del filtrado.

$$FEP\% = \frac{(P_u \times Cr_S)}{(P_s \times Cr_U)} \times 100$$

P_u = P en orina; Cr_S = Creatinina en suero; P_s = P en suero; Cr_U = Creatinina en orina

Reabsorción Tubular de Fosfatos (RTP%):

Forma habitual de determinar la fosfaturia en la práctica clínica. Corresponde a la fracción de P excretado que es reabsorbido por el riñón. Se emplea orina de 24h y una muestra de sangre en ayunas al final de la recolección de la muestra de orina. Valores de RTP <85% con hipofosfatemia indican la pérdida renal de fosfatos. Una desventaja de esta prueba es la dependencia de la ingesta de fosfatos.

$$\text{RTF}\% = \left[1 - \frac{(\text{P u} \times \text{Cr S})}{\text{P s} \times \text{Cr U}} \right] \times 100 \quad \text{VR: } >85\%$$

En general se considera una reabsorción correcta si es superior 85%. Sin embargo, en presencia de hipofosfatemia debe ser >95%. En este sentido, la **ratio reabsorción tubular máxima de fosfato para el filtrado glomerular** (TmP/GFR) es un mejor método ya que valora la reabsorción de fosfato a nivel renal teniendo en cuenta el nivel de fosfato en plasma. El TmP/GFR se puede calcular mediante fórmulas o bien utilizando el nomograma de Walton y Bijvoet. Los valores de TmP/GFR son edad dependiente.

Para RTP ≤ 0,86:	TmP/GFR = RTP x P (plasma)
Para RTP > 0,86:	TmP/GFR = {(0,3 x RTP)/[1-(0,8 x RTP)]} x P (plasma)

Magnesio

En el laboratorio clínico puede determinarse Mg total en orina de 24h, su fracción de excreción en función del filtrado glomerular o la relación magnesio/creatinina (o índice magnesio/creatinina) en orina de 2h.

Fracción de excreción de Mg (FEMg%):

$$\text{FEMg} = \frac{\text{Mg U} \times \text{Cr S}}{0,7 \times \text{Mg S} \times \text{Cr U}} \times 100 \quad \text{VR: } 3 - 5\%$$

Mg U= Mg en orina; Cr S= Creatinina en suero; Cr U=Creatinina en orina.

Mg S= Mg en suero (se multiplica por 0,7 dado que el 70% del Mg plasmático filtra a nivel glomerular y el resto se encuentra unido a albúmina).

Una FEMg >5% en orina de 24h o una magnesuria >30mg/24h en el contexto de una hipomagnesemia indicarían pérdida renal de Mg, ya sea por defectos intrínsecos en la función tubular o por efecto de drogas perdedoras de Mg.

Luego de estudiar el material de este capítulo, el estudiante estará en condiciones de resolver los siguientes de Casos Clínicos:

1- José, 71 años. Antecedentes: diabético tipo 2 desde hace 10 años, con buen control metabólico e hipertenso, tratado con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. Desde hace algunos meses presenta un cuadro ocasional de coxalgia que no responde a AINES. Laboratorio: FAL 799 UI/L (VR: 30-90 UI/L); hidroxiprolina urinaria 120 mg/24h (VR: 15-45 mg/24 h); GGT y 5'-nucleotidasa dentro de los VR. Radiografía de columna lumbar y pelvis: alteración de la textura ósea en cuerpos

vertebrales y hemipelvis derecha con esclerosis y engrosamiento trabecular. Gammagrafía ósea con Tc 99m: focos de concentración en columna lumbar, hemipelvis derecha y cresta iliaca izquierda.

- a) ¿Qué diagnóstico presuntivo podría proponer?
- b) Explique la fisiopatología de la enfermedad propuesta en el punto a.
- c) ¿Qué otros marcadores de remodelado óseo podrían cuantificarse?
- d) ¿Qué muestra emplea para la determinación de FAL?

2- Niña de 10 meses de edad, ingresa al Servicio de Urgencias de Pediatría por episodios de convulsiones tónicas generalizadas en las últimas 8 horas. Peso y talla en el percentilo 50. Alimentada solo con lactancia materna. Desde el nacimiento recibe poca exposición solar. Laboratorio: Hb 9,9 g/dL; calcio total 6 mg/dL (VR: 8,5–10,5 mg/dL); calcio iónico 0,51 mmol/L (VR: 1-1,2 mmol/L); fosfato 3,3 mg/dL (VR: 3,5-5,5 mg/dL); FAL 713 UI/L (VR: <396 UI/L); PTH 14,1 pmol/L (VR: 0,5-5,5 pmol/L) y 25OH Vit D 9 pg/mL (VR: 25-66 pg/mL). Función renal e ionograma urinario normales. Radiografía de tórax: osteoporosis generalizada y un ensanchamiento de la metafisis proximal del húmero.

- a) ¿Qué diagnóstico presuntivo podría proponer?
- b) ¿Con qué entidades debería realizarse el diagnóstico diferencial?

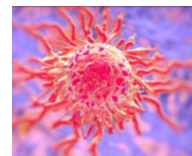
3- Ana, 67 años, acude al servicio de Urgencias por debilidad generalizada, inestabilidad de la marcha y mareos de una semana de evolución. Refiere que desde hace 3 días presenta náuseas, estreñimiento y poliuria, sequedad de piel y mucosas, afebril, PA 90/60 mmHg. Antecedentes: paratiroidectomía por adenoma paratiroideo, realizada 1 mes atrás. Fue dada de alta con 4g de calcio oral, calcitriol 0,25 mcg/día y calcidiol 0,266 mg/mensual. Laboratorio: Hb 15 g/dL (VR: 12-18 g/dL); glucosa 112 mg/dL (VR: 70-110 mg/dL); urea 125 mg/dL, creatinina 1,75 mg/dL; CKD-EPI 45,1 mL/min; proteínas totales 9 g/dL; albúmina 5,5 g/dL; Na⁺ 131 mmol/L; K⁺ 3,3 mmol/L; Cl⁻ 85 mmol/L; pH 7,45; CO₃H⁻ sérico 36 mEq/L; calcio total 17,5 mg/dL (VR: 8,5-10,5 mg/dL); P 3,5 mg/dL (VR: 2,8-4,1 mg/dL) y Mg⁺⁺ 1,9 mg/dL (1,6-2,5 mg/dL). PTH suprimida (<2,5 pg/mL) y 25(OH) Vit D 189 ng/mL (VR: 15-80 ng/mL, verano). ECG: bloqueo de rama izquierda e intervalo QT acortado.

- a) ¿Qué diagnóstico presuntivo podría proponer?
- b) ¿Cómo explicaría los signos y síntomas que presenta la paciente?
- c) ¿Qué alteraciones renales, del medio interno y del EAB están presentes?
- d) ¿Qué interferente puede provocar un falso aumento de los niveles de vitamina D?

BIBLIOGRAFÍA

- Goltzman, D. (2018). Physiology of parathyroid hormone. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 47, 743-758.
- Restrepo-Giraldo, J., Arévalo-Novoa, M., Toro-Ramos, L.M. (2015). Metabolismo mineral y óseo: visión general y sus métodos de medición. *Medicina y Laboratorio* 21, 511-538.
- Albalade Ramon, M., De Sequera Ortíz, P, Rodríguez Portillo, M. (2021). Trastornos del calcio, el fósforo y el magnesio. *Nefrología al Día* (pp 1-47). Consultado desde: <http://www.nefrologiaaldia.org/es-articulo-trastornos-del-calcio-fosforo-magnesio-206>.
- Melmed, S., Polonsky, K.S., Larsen P.R., HM Kronenberg H.M. (2017). *Williams. Tratado de Endocrinología* (13th Ed). Madrid, España: Elsevier.
- Song, L. (2017). Calcium and bone metabolism indices. *Advances in Clinical Chemistry* 82, 1-46.
- Larry Jameson, J.L. (2017). *Harrison's Endocrinology* (4th Ed). Madrid, España: McGraw-Hill Education.
- Lombardi, G., Barbaro, M., Locatelli M., Banfi G. (2017). Novel bone metabolism-associated hormones: the importance of the pre-analytical phase for understanding their physiological roles. *Endocrine* 56, 460-484.
- Arenas, M.D. (2020). Alteraciones del metabolismo mineral: calcio, fósforo, PTH, vitamina D, FGF-23, klotho. *Nefrología al día*. Consultado desde: <https://www.nefrologiaaldia.org/311>.

NEOPLASIA. MARCADORES TUMORALES



OBJETIVOS

- Revisar los conceptos sobre el desarrollo tumoral.
- Conocer los principales marcadores tumorales y su aplicación en las enfermedades neoplásicas.
- Interpretar los cambios de la concentración sérica de un marcador tumoral durante el seguimiento de un tumor a través de casos clínicos.

INTRODUCCIÓN

En los seres humanos, el desarrollo y la supervivencia dependen de la regulación controlada del crecimiento, la diferenciación y la muerte de tipos celulares para mantener la integridad del organismo. Las células poseen una regulación compleja que impiden la replicación de células dañadas y permiten su reparación, pero si fallan los mecanismos de control del crecimiento, esto puede condicionar a la aparición de Cáncer. El proceso por el cual las células normales se transforman en cancerosas se denomina Carcinogénesis.

Cáncer, es un término genérico que designa un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo; también se habla de «tumores malignos» o «neoplasias malignas». Una característica definitoria del cáncer es la multiplicación descontrolada de células anormales, que se extienden más allá de sus límites habituales y así invadir tejidos adyacentes o propagarse a otros órganos por vía linfática o hematogena, en un proceso que se denomina metástasis, la cual es la principal causa de muerte.

Presentación del Cáncer

El cáncer es una de las principales patologías que afectan a la población a nivel mundial. En nuestro país, esta patología representa la segunda causa de muerte tras las enfermedades cardiovasculares (entre 35 y 65 años de edad), lo que se aproxima a lo observado en países desarrollados. De acuerdo a las estimaciones de incidencia del Observatorio Global de Cáncer de la OMS (2018), el cáncer de mayor incidencia es el de mama (tasa de 73 p/100.000 mujeres); siguen los tumores de próstata (42 p/100.000 varones) y el colorrectal (31 p/100.000 varones).

El cáncer en un estado localizado o sistémico es un elemento frecuente del diagnóstico diferencial de diversas molestias comunes. Aunque no todas sus formas son curables al

momento del diagnóstico, realizar éste lo más temprano posible en su evolución natural y definir tratamientos que prevengan o retrasen su diseminación sistémica, proporciona a los pacientes la mejor oportunidad de curación o una prolongación significativa de su vida.

Algunos tipos de cáncer, en particular el mamario, colónico y quizá el pulmonar en determinados pacientes pueden prevenirse mediante la detección apropiada de los pacientes asintomáticos; es decir que la detección temprana es el punto del espectro de las intervenciones posibles cuando el cáncer es curable. Los estudios de detección actuales que han conducido a mejoría en los desenlaces clínicos incluyen al cáncer de: mama (mamografía), cérvix (Papanicolau), colon y recto (tacto rectal, prueba de sangre oculta en heces y colonoscopia), cuello uterino (prueba del virus del papiloma humano), próstata (prueba de antígeno prostático específico [APE] y ultrasonografía transrectal) y el melanoma maligno (autoexamen), entre otros.

Biología de la célula cancerosa

Cuando las células comienzan a proliferar de forma rápida y desordenada forman un tumor. Es benigno si el crecimiento es local y lento (no invade tejidos), y en general, se extraen por cirugía. En cambio, en un tumor maligno el crecimiento celular no es regulado, por evitar la muerte celular y por la invasión de tejidos. En ciertas ocasiones, las células cancerosas pierden sus características y evolucionan hacia un estado más embrionario. De esta forma, pueden ir desde un tipo bien diferenciado (similar a las células normales) y crecer más lentamente, hasta una forma indiferenciada (no se asemeja a las células normales) y tiende a crecer y a diseminarse con rapidez. Los tumores malignos se nombran según su origen: los provenientes de tejido epitelial se llaman carcinomas, los derivados de tejidos mesenquimáticos son sarcomas y los que se originan en tejido hemopoyético son leucemias, linfomas y discrasias de células plasmáticas (incluyendo mieloma múltiple).

El cáncer es una enfermedad de bases genéticas

El cáncer surge de una serie de alteraciones somáticas en el ADN que culminan en la proliferación celular irrestricta y comprenden cambios secuenciales en el ADN como las mutaciones. Pueden aparecer como consecuencia de errores aleatorios en la réplica, exposición a carcinógenos (físicos: radiación, químicos: hidrocarburo policíclico y, biológicos: virus, entre otros), o por defectos en los procesos de reparación del DNA (Tabla 1). Muchos de los cánceres aparecen de manera esporádica, pero también en algunas familias que poseen una mutación germinal en un gen oncológico se observa agrupamiento de algunas neoplasias, es decir, aparecen en varios de sus miembros.

Tabla 1. Tipos de alteraciones genéticas en cáncer

Alteración genética	Definición	Ejemplo
Cambio en secuencia del gen	Deleciones o inserciones de unos cuantos nucleótidos en la secuencia del gen, no pueden detectarse mediante el análisis citogenético y deben emplearse técnicas como secuenciación o RT-PCR	Por ejemplo, mutaciones sin-sentido en el gen <i>K-RAS</i> que se produce en más del 80% de los cánceres pancreáticos
Alteraciones en el número de cromosomas	Alteraciones que implican pérdidas o ganancias de cromosomas enteros	Aneuploidía; pérdida del cromosoma 10 en glioblastomas, la ganancia del cromosoma 7 en los carcinomas renales, entre otros
Translocaciones cromosómicas	Estas alteraciones pueden detectarse citogenéticamente como fusiones de diferentes cromosomas o de segmentos no contiguos de un solo cromosoma, se pueden dar fusiones entre dos genes diferentes	Cromosoma Philadelphia en leucemias crónicas
Amplificaciones genéticas	A nivel molecular son múltiples copias de un «amplicón» que contiene un gen promotor del crecimiento. Los amplicones contienen $0,5 \pm 10$ megabases de ADN, y son diferentes de las duplicaciones de regiones cromosómicas, mucho más grandes de las que resultan de la aneuploidía y las translocaciones	Amplificación de N-myc que se produce en el 30% de los neuroblastomas avanzados

RT-PCR, reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa.

En el ser humano, muchas neoplasias son de origen monoclonal, aunque son necesarias mutaciones múltiples y sucesivas para desarrollar células malignas. Las mutaciones múltiples pueden llevar al desarrollo de heterogeneidad celular en los tumores malignos, debido a la presencia de subpoblaciones de células con fenotipos distintos, cuyas características biológicas dependen de las interacciones con el tejido circundante y el sistema inmune, de modo que se vincula cada neoplasia con un “único individuo”. El proceso de formación y progresión del tumor también puede generar diversidades biológicas en focos metastásicos y entre focos metastásicos diferentes. Por lo tanto, en la diferenciación de las células de un tumor intervienen distintos factores tales como velocidad de crecimiento, receptores de la membrana, inmunogenicidad, expresión de marcadores tumorales, capacidades invasivas y metástasis y respuesta a sustancias citotóxicas.

Capacidades comunes de las células tumorales

Estas características son adquiridas en los diversos tipos celulares por distintos mecanismos y eventos durante el proceso carcinogénico. En los mecanismos biológicos de esta regulación intervienen procesos de adhesión celular, ciclo celular, angiogénesis, oncogenes, genes supresores de tumores, etc. (Fig. 1). La mayoría de protooncogenes y genes supresores de tumores tienen una función asociada a la transducción de la señal, mimetizando los efectos de la estimulación mitógena permanente y desacoplando así a las células de sus mecanismos normales de control.

Los procesos moleculares que darían lugar a la formación y progresión tumoral son:

1. Inactivación de genes supresores de tumores.
2. Activación de oncogenes.
3. Alteración de los genes implicados en la reparación de ADN.

4. Alteración de los genes implicados en la apoptosis celular.
5. Inestabilidad genética (microsatélites y cromosómica).
6. Otros mecanismos, como la activación de telomerasa, reacciones de depurinación, etc.



Figura 1. Alteraciones esenciales para la transformación maligna. Todos los cánceres despliegan cambios fundamentales en la fisiología celular, que se consideran rasgos característicos que determinan el fenotipo maligno (Modificado de Hanahan Weinberg, Cell 2011; 144: 646-674).

Como consecuencia de dichas alteraciones, las células tumorales adquieren una serie de funciones y capacidades, entre las que se destacan:

1. Señales de proliferación: las células cancerosas pueden proliferar, aumentando la producción de factores de crecimiento por sí mismas, obteniéndolos de otras células por estimulación, aumentando los receptores de superficie para determinados ligandos o manteniendo activados constitutivamente componentes de la cascada de señalización.
2. Evasión de señales de supresión del crecimiento: en las células tumorales las vías del control del ciclo celular no funcionan correctamente. Cabe mencionar la alteración de dos proteínas supresoras de tumores determinantes en el control del ciclo celular: PTEN (por desfosforilación) y la inactivación de p53, y las cascadas de señalización de dichas proteínas.
3. Capacidad replicativa incontrolada (inmortalidad): en ciertos tipos de cáncer se ha visto la sobreexpresión de telomerasas (enzimas necesarias para mantener la estabilidad en los extremos cromosómicos), que favorece la «vida» celular, en contrapartida a su entrada en senescencia y apoptosis.
4. Evasión de la apoptosis: entre los mecanismos implicados en la apoptosis se observa el incremento de la síntesis de factores con actividad anti-apoptótica (Bcl2) en detrimento de los pro-apoptóticos (Bax/Bak) (Fig. 2).

5. Angiogénesis (crecimiento y proliferación de vasos sanguíneos): necesaria para el apoyo nutricional, la eliminación de desechos y la oxigenación del cáncer.

6. Capacidad de invasión y metástasis: las metástasis tumorales son la causa de la mayoría de las muertes por cáncer y se deben a la interacción entre procesos intrínsecos a las células tumorales y señales iniciadas por el entorno tisular.

Además, se crea un estado de tolerancia inmunológica hacia las células cancerosas, que no son eliminadas por el sistema inmune a pesar de que las células tumorales expresan neoantígenos que podrían estimular una respuesta. Esta tolerancia inmunológica se desarrolla en el paciente inmunocompetente.

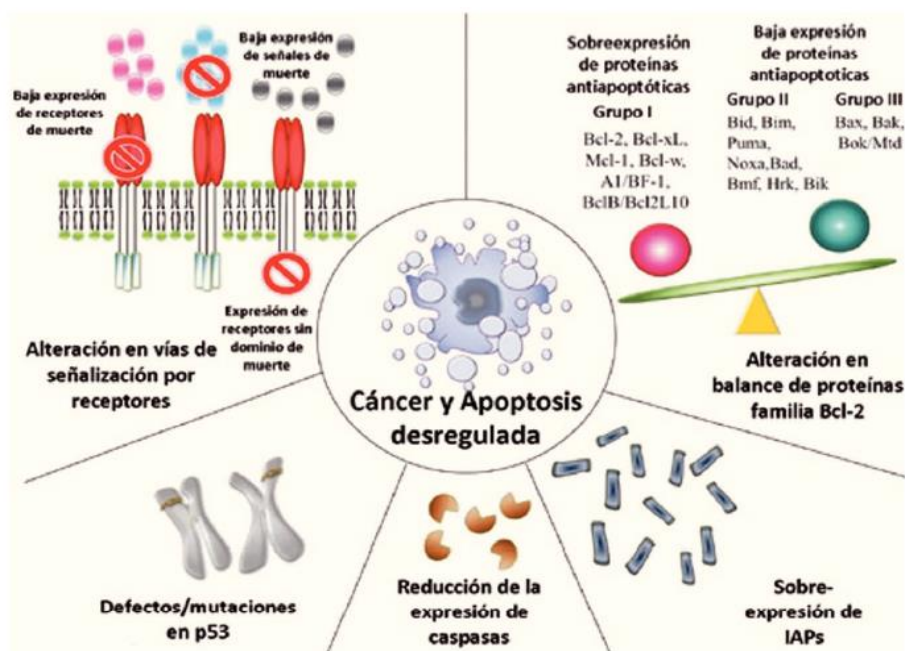


Figura 2. Mecanismos que llevan a la evasión de apoptosis y carcinogénesis (Modificado de Wong R. Exp Clin Cancer Res 2011; 30:87).

Capacidad de invasión y metástasis

La formación de metástasis tumorales implica una serie de etapas (Fig. 3):

1. Invasión del tejido circundante por las células tumorales que proliferan, degradan la matriz extracelular y crean nuevos sistemas (neangiogénesis).
2. Intravasación de las células tumorales en los vasos linfáticos y capilares, lo que les da acceso a diseminación por circulación, de forma inicial a los ganglios y tejidos próximos.
3. Extravasación y asentamiento en tejidos, conformación de un microambiente favorable para la proliferación tumoral y angiogénesis, con el consecuente desarrollo de la metástasis.
4. Cambios en el citoesqueleto. La pérdida de adhesión celular está favorecida por una menor expresión o función de moléculas de adhesión a otras células y a la matriz

extracelular. Hay mayor expresión de proteasas que participan en la degradación de la matriz extracelular.

5. Angiogénesis. Depende de la estimulación por factores angiogénicos, entre los cuales se destaca el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF). Este factor estimula la diferenciación, multiplicación y quimiotaxis de las células endoteliales, y la reestructuración de los vasos neoformados.

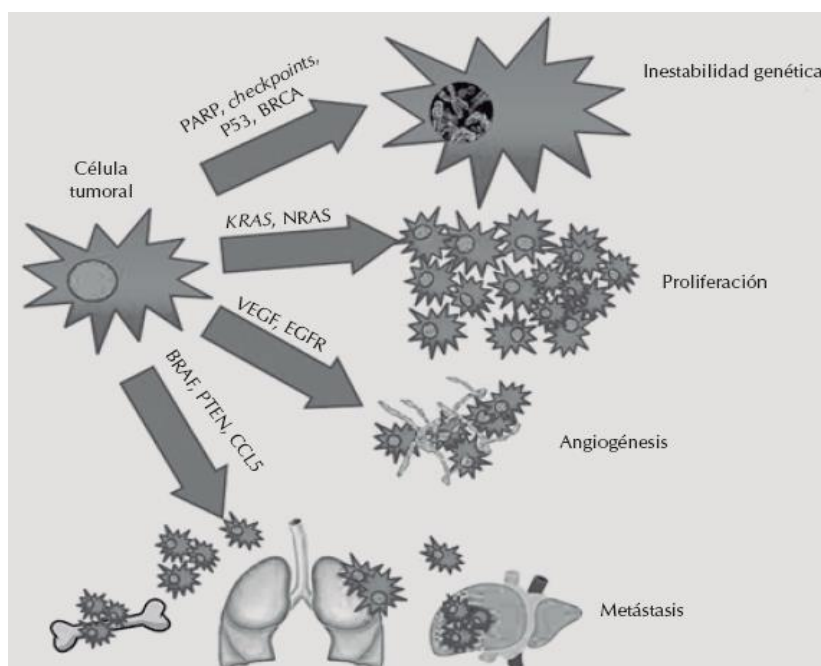


Figura 3. Marcadores moleculares relacionados con estabilidad genética, proliferación, angiogénesis y metástasis de células tumorales (Pérez y col., Rev Esp Méd Quir. 2017; 22: 171-181).

Alteración genética y carcinogénesis: progresión tumoral en el cáncer colorrectal

A modo de ejemplo se muestra una secuencia de alteraciones que se producen en el desarrollo carcinogénico del cáncer colorrectal: (Fig. 4)

1. Fase de formación de pólipos. Inicialmente se producen en el tejido mutaciones en el gen supresor tumoral APC, que causa la transcripción de diversos genes. Se han observado mutaciones en el gen APC en más del 80% de los carcinomas colorrectales.
2. Fase adenomatosa. Se producen mutaciones en el gen *k-ras*. Este gen pertenece a la familia de oncogenes RAS (N-RAS y H-Ras), que se caracterizan por su papel en la señalización celular. En consecuencia el *K-ras* permanece constantemente activado y se mantiene la señal de proliferación celular. Las mutaciones en *k-ras* también se han asociado con mayor displasia y mayor tamaño. Así, se han encontrado mutaciones en *k-ras* en el 10% de los adenomas (< 1 cm) y en más del 50 % de los adenomas mayores de 1cm.

3. Carcinoma. El desarrollo del carcinoma está acompañado por una pérdida en el tejido del gen supresor p53. Las mutaciones de p53 son poco frecuentes en los adenomas, pero se observan en más del 70% de los carcinomas de colon. La mutación del gen p53 o la sobreexpresión de la proteína se asocia con menor supervivencia de los pacientes.

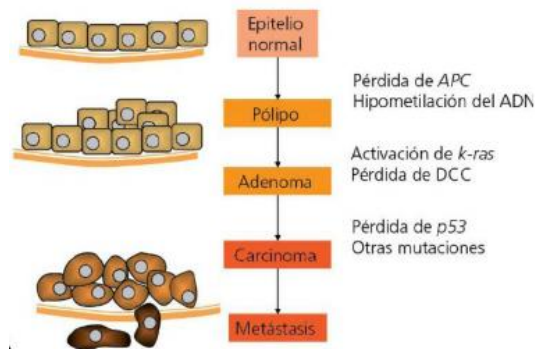


Figura 4. Progresión tumoral en el cáncer colorrectal.

Desarrollo tumoral

El proceso de desarrollo de un cáncer comprende cuatro fases, que se van sucediendo a lo largo de los años (Fig. 5).

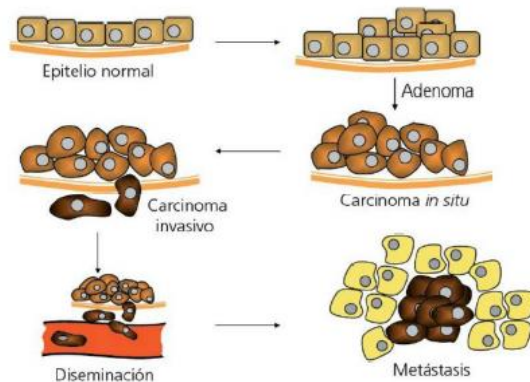


Figura 5. Etapas del desarrollo de un tumor.

1. *Fase de inducción*, puede durar muchos años, en la cual hay una exposición a carcinógenos.
2. *Carcinoma in situ*, las células transformadas se convierten en un cáncer que permanece localizado y no invade otros tejidos.
3. *Fase invasiva*, las células proliferan, atraviesan la membrana basal y profundizan para alcanzar la circulación sanguínea y linfática.

4. *Fase de diseminación*, que dura entre 1 y 5 años. Las células cancerosas migran a sitios distantes del tumor y se forman nuevos capilares para aportar sangre al tumor.

Estadificación y calificación de grado de los tumores

Se utilizan dos métodos básicos para clasificar al cáncer de acuerdo al grado (las características histológicas o celulares del tumor) y la estadificación (la diseminación clínica de la enfermedad). Ambos métodos se utilizan para determinar el curso de la enfermedad y ayudan en la selección del tratamiento adecuado o el plan de manejo.

La determinación del grado de los tumores comprende el examen microscópico de las células cancerosas para determinar su nivel de diferenciación y el número de mitosis. Los cánceres se clasifican como grados o estadios I, II, III y IV según la creciente anaplasia o la falta de diferenciación.

1. *Estadio 0*, que corresponde al carcinoma *in situ*, que está limitado a la capa de células en que se inició y no ha invadido tejidos profundos.
2. *Estadio I-III*. Cuanto más alto sea el número, más extensa es la enfermedad, en relación con el tamaño del tumor o la diseminación a los ganglios linfáticos vecinos o a los tejidos adyacentes al tumor primario.
3. *Estadio IV*. El cáncer se ha diseminado a otros tejidos distantes.

La estadificación del cáncer utiliza métodos para determinar la extensión y diseminación de la enfermedad. Se recurre a la cirugía para determinar el tamaño del tumor y la invasión a ganglios linfáticos. La estadificación clínica del cáncer tiene el propósito de agrupar a las personas según la extensión de su enfermedad. Es útil en la determinación de las opciones de tratamiento para la persona individual, calcular el pronóstico y comparar los resultados de los diferentes regímenes de tratamiento. En la mayoría de las instalaciones se utiliza el sistema TNM del American Joint Committee on Cancer (AJCC). Este sistema clasifica la enfermedad en etapas utilizando 3 componentes tumorales (Tabla 2):

- T se refiere al tamaño y diseminación local del tumor primario.
- N se refiere al compromiso de los ganglios linfáticos regionales.
- M describe el grado de compromiso metastásico.

El momento en que se hace la estadificación se indica como estadificación diagnóstica-clínica (cTNM), estadificación posquirúrgica patológica de la resección (pTNM), estadificación de evaluación quirúrgica (sRNM), estadificación de repetición de tratamiento (rTNM) y estadificación según autopsia (aTNM).

Tabla 2. Sistema de clasificación TNM

T (tumor)	
Tx	Tumor que no es posible valorar en forma adecuada.
T0	Sin evidencia de tumor primario.
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> .
T1-4	Aumento progresivo en el tamaño del tumor o el compromiso.
N (ganglios, [nodes])	
Nx	No es posible evaluar los ganglios regionales.
N0	Sin evidencia de metástasis a ganglios regionales.
N1-3	Creciente compromiso de ganglios linfáticos regionales.
M (metástasis)	
Mx	No se evaluó.
M0	Sin metástasis a distancia.
M1	Metástasis a distancia presentes, especificar sitios.

Manifestaciones sistémicas

Muchas de las manifestaciones clínicas del cáncer, que incluyen anorexia y caquexia, fatiga y trastornos del sueño, y anemia, no están relacionadas en forma directa con la presencia de una masa tumoral sino con las vías metabólicas alteradas, la presencia de citoquinas y otros mediadores circulantes.

Síndromes paraneoplásicos

Además de los signos y síntomas en los sitios de enfermedad primaria y metastásica, el cáncer en ocasiones produce manifestaciones en sitios que no están afectados en forma directa por la enfermedad, que se denominan colectivamente *síndromes paraneoplásicos*. Algunas de estas manifestaciones son causadas por la síntesis de hormonas en las células cancerosas y otras, por la producción de factores circulantes que producen síndromes hematopoyéticos, neurológicos y dermatológicos. Estos síndromes se asocian con más frecuencia a las neoplasias malignas pulmonares, de mama y hematológicas.

Los tumores benignos y malignos producen una variedad de hormonas peptídicas. Aunque no se expresan de manera normal, las vías bioquímicas para su síntesis (p. ej., las hormonas antidiurética [HAD], adrenocorticotrópica [ACTH] y paratiroidea [PTH]) se encuentran en la mayoría de las células. Por ello, los tres síndromes endocrinos más frecuentes relacionados con cáncer son el síndrome de secreción inadecuada de HAD, el síndrome de Cushing debido a la producción ectópica de ACTH e hipercalcemia. La hipercalcemia de la neoplasia maligna no parece estar relacionada con la PTH sino a una proteína relacionada con PTH (PTHrp) que comparte varias acciones biológicas con la PTH. La hipercalcemia también es causada en ocasiones por cánceres como el mieloma múltiple o las metástasis óseas de otros cánceres.

Algunos síndromes paraneoplásicos se relacionan con la producción de mediadores circulantes que producen complicaciones hematológicas. Por ejemplo, diferentes tipos de cáncer producen factores procoagulación lo que contribuye a un aumento de riesgo de trombosis venosa y endocarditis trombótica no bacteriana. En ocasiones, accidentes trombóticos inexplicables son la primera indicación de una neoplasia maligna no diagnosticada.

Métodos diagnósticos

El desarrollo de nuevas tecnologías ha permitido conocer diversos aspectos de la fisiología celular. Se utilizan varios procedimientos en el diagnóstico del cáncer, que incluyen pruebas en sangre, exploraciones endoscópicas, ecografía, radiografías, imagen por resonancia magnética, tomografía computarizada y tomografía por emisión de positrones, entre otras.

El estudio de las células cancerosas tanto a nivel celular, molecular, metabólico y genético ha permitido mejorar las estrategias preventivas, diagnósticas, terapéuticas y pronósticas para los pacientes afectados o en riesgo de cáncer. En el ámbito clínico, esto se ha traducido en la introducción de Marcadores Tumorales o Biomarcadores Tumorales y la identificación de potenciales blancos terapéuticos.

La revisión presentada aborda parte del conocimiento generado en las últimas décadas sobre la fisiopatología del cáncer. Por una parte, la identificación de moléculas que son expresadas sólo por células tumorales ha permitido la introducción de nuevos biomarcadores específicos para mejorar, por ejemplo, el diagnóstico tumoral (ARN mensajero PCA3 en cáncer de próstata) o de respuesta a terapia (alfa-feto proteína, AFP, en tumores de células germinales). Por otra parte, la identificación de potenciales blancos terapéuticos ha motivado el incremento de la investigación farmacológica de la última década. En la Fig. 6, se mencionan algunas de las terapias actualmente en uso y cómo estas se enfocan a tratar una característica específica que puede verse sobreexpresada en algún tipo tumoral. El desarrollo e introducción de terapias dirigidas ha logrado mejorar la efectividad antitumoral y disminuir los efectos secundarios respecto a terapias tradicionales. Además, han cobrado importancia los estudios moleculares enfocados en la detección de mutaciones específicas o patrones de expresión como la detección de la sobreexpresión de erbB2 en cáncer de mama, indicador de mal pronóstico y resistencia a tamoxifeno (antiestrógeno).

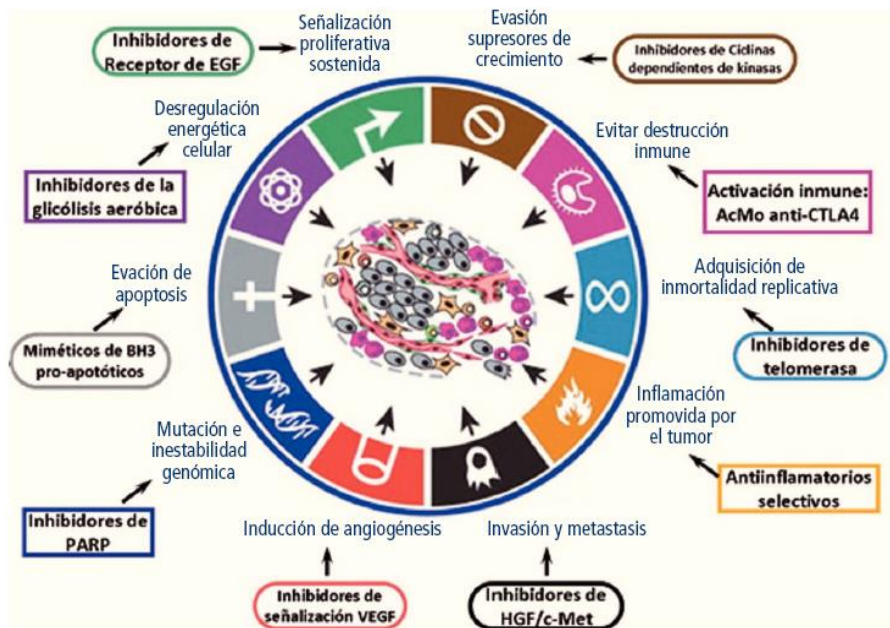


Figura 6. Enfoque terapéutico de los hallmarks del cáncer (Modificado de Hanahan Weinberg, Cell 2011; 144: 646-674).

MARCADORES TUMORALES

La práctica clínica en oncología tiene un ímpetu creciente en el diagnóstico temprano, el pronóstico adecuado y el cribado de malignidad en grupos asintomáticos. Los marcadores tumorales (MT) asumen un papel cada vez más importante en todos los aspectos de la atención del cáncer, desde la detección hasta el seguimiento después del tratamiento.

Los marcadores tumorales (MT) son un grupo heterogéneo de moléculas de características muy variadas, producidas o inducidas por las células neoplásicas que reflejan su crecimiento y actividad, y que permiten conocer la presencia, evolución o respuesta terapéutica de un tumor maligno. Los MT son el resultado de:

- Re-expresión de Ag de diferenciación (momento inadecuado)
- Sobre-expresión de Ag comunes (cantidad inadecuada)
- Síntesis ectópica de hormonas (lugar inadecuado)

Los MT se comportan como indicadores o señales a distancia de la presencia de una neoplasia. Sin embargo, no son específicos del tumor, ya que pueden encontrarse concentraciones elevadas en situaciones fisiológicas o patológicas no tumorales. La señal de alarma aparece cuando existen incrementos anormales en circulación, como consecuencia de la elevada proliferación y de la dediferenciación celular.

Los MT están presentes en los tejidos o fluidos corporales (sangre, orina, líquido pleural, líquido ascítico, líquido cefalorraquídeo) y se miden cuantitativamente por métodos químicos, inmunológicos o moleculares. Algunos MT están asociados con un tipo de cáncer mientras que otros, se relacionan a varios tipos de cáncer.

Aunque existen decenas de marcadores que están siendo estudiados para el diagnóstico, seguimiento y pronóstico de los distintos tumores, ninguno ha demostrado la suficiente evidencia para recomendar su uso rutinario en cualquier cáncer y sus etapas, debido a que muchos de ellos pueden verse alterados en patologías benignas o fisiológicas.

Especificidad y sensibilidad de un MT

La utilidad clínica de un MT se vuelve dependiente casi por completo de su especificidad y sensibilidad. Cuando se dice que un examen de MT tiene una sensibilidad de 100%, el mismo servirá para detectar a todos los pacientes con un tipo particular de cáncer, en tanto un examen con especificidad de 100% identificará sólo a los pacientes con el tipo específico de tumor y no a aquellos con enfermedades benignas. Hasta el presente, ninguno de los MT descubiertos alcanza el 100% de especificidad y sensibilidad de un MT ideal.

Un MT ideal debería cumplir con las siguientes características:

- **Sensibilidad alta** en su medición, en particular en los estadios iniciales.
- **Especificidad alta** (baja tasa de falsos positivos).
- **Diferenciar** pacientes con patología maligna de pacientes con patología no maligna.
- **Detectar metástasis** antes de que sea clínicamente evidente.
- **Mostrar correlación** con el volumen y la extensión del tumor.
- **Reflejar la efectividad del tratamiento.**
- **Reaparecer** en caso de recidivas y pueda **predecir la recurrencia** de forma temprana.
- Fácil de **cuantificar** (por métodos automatizados y de bajo costo).

Para evaluar la utilidad clínica de un MT, es necesario establecer intervalos de referencia, calcular valores predictivos, evaluar la distribución de concentraciones de los marcadores, y determinar su aplicación en el manejo de enfermedades.

Los **intervalos de referencia** de un MT se obtienen de una población sana, preferentemente individuos de la misma edad y el mismo sexo, y también de aquellos que padecen el cáncer de interés. Para tener aplicaciones específicas, como el uso de MT en el diagnóstico y tratamiento del cáncer, un punto de corte de decisión puede ser más apropiado que considerar el límite superior de referencia poblacional.

El **modelo de valor predictivo** incluye la sensibilidad clínica, especificidad y valor predictivo de una prueba. Si se varía el punto de corte de decisión, la sensibilidad clínica y la especificidad cambiarán en direcciones opuestas. Un enfoque útil para evaluar múltiples pruebas para el mismo analito o marcadores múltiples para el mismo cáncer, es el uso de las curvas ROC, ya que permite, por superposición de curvas de varios marcadores, señalar el punto de corte de decisión en el que se logra la mayor sensibilidad y especificidad (Fig. 7). La aplicación del modelo de valor predictivo es difícil para los analitos que no son diagnósticos de una sola enfermedad. Las concentraciones de la mayoría de los MT están elevadas en más de una condición de enfermedad. Cuando el modelo de valor predictivo se utiliza, es necesario seleccionar cuidadosamente una población que incluya grupos con y sin enfermedad y la decisión debe basarse sobre las preguntas clínicas específicas formuladas.

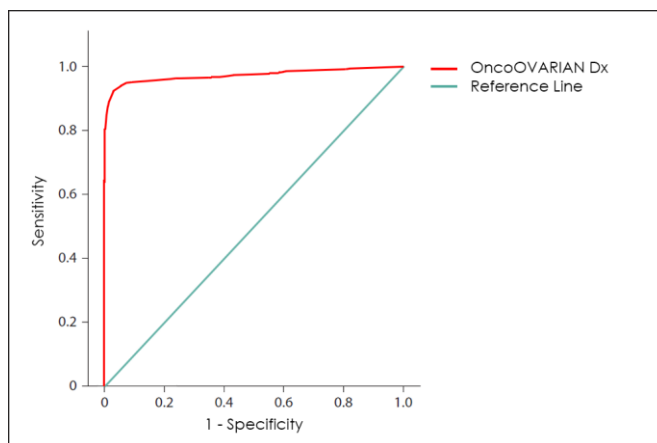


Figura 7. La curva ROC del test OncoOVARIAN Dx- basado en el recuento combinado de los marcadores tumorales AFP, β -hCG, CA 19-9, CA 125, CEA y HE4; diferentes comorbilidades. Se muestran buenos resultados con curvas que tienden a acercarse a la esquina superior izquierda de la imagen: 93,5% de sensibilidad y 94,3% de especificidad.

La **distribución de las concentraciones** de MT suele informarse como el porcentaje de pacientes con concentraciones elevadas y se determina utilizando varios puntos de corte en pacientes sanos, con enfermedad benigna, y grupos con cáncer. Se debe considerar criterios para clasificar a los pacientes con cáncer y el diagnóstico debe basarse en hallazgos patológicos.

Preanalítica y Metodología

La muestra de elección es el suero, el cual debe ser separado del coágulo rápidamente luego de la extracción, almacenado a 4°C, o bien a -20°C hasta el procesamiento de la muestra. Tal como sucede en otras determinaciones de laboratorio, la mayoría de los errores preanalíticos encontrados en los MT están relacionados con la calidad de la

muestra. El tiempo de demora excesivo entre la extracción y centrifugación disminuye la concentración de la enolasa neuro específica (NSE), del antígeno prostático específico libre (PSAL) y del propéptido liberador de gastrina (ProGRP).

En algunas ocasiones las condiciones fisiológicas pueden ser previstas antes de la obtención de la muestra, tales como la fase del ciclo ovárico. En pacientes con endometriosis las variaciones en la concentración de antígeno carbohidrato 125 (CA125) durante el ciclo ovárico presenta una mayor amplitud de medida que en mujeres sanas.

El consumo de fármacos puede afectar a los niveles de algunos MT. Así, los inhibidores de la bomba de protones (omeprazol) incrementan la concentración de cromogranina A, mientras que los antiinflamatorios no esteroideos, los corticoides y la colchicina pueden alterar las concentraciones de antígeno carbohidrato 72-4. Debido a ello sería aconsejable suspender el tratamiento antes de su determinación si el estado del paciente lo permite. En caso contrario, el resultado debería ir acompañado de un comentario que indique la posibilidad de un falso positivo debido a estos fármacos. En la tabla 3 se muestran las principales causas de falsos positivos ocasionados en la fase preanalítica.

Tabla 3. Principales causas de elevación de la concentración de MT en ausencia de neoplasia.

	AFP	β-hCG	β ₂ M	CA15-3	CA19-9	CA 125	CA72-4	CEA	CgA	CYFRA	HER-2	NSE	Pro-GRP	PSA	HE4	S-100	SCC	Tg
Preanalítica/iatrogénico	+ ^c	ND	ND	ND	ND	+ ^d	+++ ^e	ND	+ ^f	+ ^e	ND	ND	ND	+ ^g	ND	ND	ND	ND
Enf. hepatobiliares	+++	+	+	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+	++	+	ND
Insuficiencia renal	ND	+++	+++	+	+	+	+	++	+	+	+	+	++	+/- ^b	++	++	++	ND
Neumonitis/fibrosis pulmonar	ND	ND	ND	+++	++	++	+	++	+	++	ND	+	+	ND	+	ND	ND	ND
Derrames	ND	ND	ND	ND	+	+++	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	+	ND	++	ND
Neumonía/EPOC/tuberculosis	+	ND	ND	ND	++	++	ND	+	+	+	ND	+	+	ND	+	ND	+	ND
Pancreatitis	ND	ND	ND	ND	+++	ND	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Enf. gastrointestinales	ND	ND	ND	+	+++	+	+	+	++	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND
Hipotiroidismo	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Hipertiroidismo	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Déficit vitamina B ₁₂	ND	+ ^a	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Endometriosis/enf. ginecológicas	ND	ND	ND	+	+++	++	+	+	+	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	+	ND
Embarazo	+++	+++	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	++
Enf. autoinmunes	+	++	+	+	+	++	ND	+	+	ND	ND	+	ND	ND	ND	+	+	+++
Hemólisis	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Prostatitis/HBP	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	++	ND	ND	ND	ND	+++ / +	ND	ND	ND	ND
HIV/CMV/infección viral	ND	ND	++	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Enf. cardiovasculares	ND	ND	ND	ND	ND	+++	ND	ND	+++	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Enf. de la piel	ND	ND	+	+	ND	+	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	+++	ND
Lesiones cerebrales	ND	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	+	ND	ND	ND	++	ND	ND

. Rev Lab Clin. 2019; 12(1):38-52

Los MT se miden por una variedad de métodos analíticos que incluyen inmunoensayos de diseño no competitivo: enzimáticos, RIA, electroquimioluminiscencia, ensayos de receptor y técnicas instrumentales como cromatografía, electroforesis y espectrometría de masas interconectados con cromatógrafos de líquidos o gases, y microarrays. Los fabricantes deben proveer una información clara acerca de la especificidad de los anticuerpos usados en sus métodos, así como los datos de las reacciones cruzadas que

puedan surgir, e informar de qué acciones pueden realizarse para identificarlas. Ante cualquier resultado inesperadamente alto sin correlación clínica se recomienda determinar con otro método para excluir la reactividad cruzada. Otra información que debe tenerse en cuenta es la posible interferencia de la biotina en los métodos que utilizan anticuerpos biotinados para unirse a la fase sólida.

Pautas para solicitar los MT

Selección de pruebas: Deben existir protocolos de petición de MT consensuados con los clínicos, basados en la evidencia científica actual. Para ello es útil el seguimiento de guías nacionales e internacionales.

Al determinar los MT como prueba diagnóstica complementaria en un paciente oncológico, deben seguirse algunas recomendaciones para interpretar en forma correcta el resultado de los análisis:

- 1- No basarse en el resultado de una única medición, ya que no permiten una buena determinación entre enfermedades benignas y malignas porque la especificidad de muchos MT es baja.
- 2- Solicitar pruebas seriadas en el mismo laboratorio con el mismo método, ya que asegura la constancia de las ejecuciones y de los resultados. Si hay variaciones del marcador que dependan de los cambios del tumor (tamaño, actividad) y no de la variabilidad interlaboratorio. Los distintos *kits* comerciales aunque desarrollados para el mismo marcador, puede generar resultados diferentes.
- 3- En la fase de seguimiento, elegir el marcador que presenta un aumento de valor antes de la intervención quirúrgica. Ningún marcador tiene una sensibilidad igual a 100% para detectar una neoplasia. Por lo tanto conviene elegir el marcador más aumentado y más apropiado para esta fase.
- 4- Considerar la vida media de los MT en la interpretación de los resultados. Evaluar el tiempo que requiere el marcador para retornar a los valores basales.
- 5- Considerar la modalidad de eliminación del marcador y su metabolito. Suele observarse aumentos séricos de marcadores en sujetos con daño renal o hepático. El CEA suele incrementar en los pacientes con daño hepático, porque el hígado no puede metabolizarlo en forma eficaz. En algunas condiciones clínicas relativamente benignas, los MT pueden presentar concentraciones similares a los pacientes con metástasis, haciendo imposible la discriminación entre ellas. Así, en pacientes con insuficiencia renal tratados con diálisis, las concentraciones del SCC, proteína S100B o la β 2-microglobulina pueden alcanzar más de 10 veces el límite superior de referencia (LSR).

- 6- Considerar que se necesitan distintos marcadores para aumentar la sensibilidad y la especificidad. Los tumores están constituidos por distintos tipos de células que han tenido diversas secuencias de mutación múltiples y que producen una variedad de marcadores. Cada tumor es diferente y, en cada individuo, el mismo tipo de tumor produce distintos marcadores. Las combinaciones de varios marcadores permiten identificar a aquellos pacientes con un mayor riesgo de presentar cáncer y establecer si la neoplasia es de tipo epitelial o no.
- 7- Ser conscientes de la presencia de MT ectópicos. La producción de MT está bajo control genético. Corresponde a la producción de hormonas por parte de tejidos que no suelen secretar hormonas como algunos tumores pulmonares que secretan ACTH.
- 8- La presencia de reactividad cruzada frente a diferentes formas moleculares (por ejemplo: β -hCG) o interferencias con moléculas relacionadas estructuralmente, tal como ocurre con la hCG y otras hormonas polipeptídicas, por ejemplo folitropina (FSH), lutropina (LH) o tirotropina (TSH).
- 9- Interferencia debida a anticuerpos humanos anti-ratón u otros anticuerpos heterófilos, particularmente cuando un resultado de un paciente no está en concordancia con los datos clínicos.
- 10- La presencia de autoanticuerpos para la medición de determinados analitos, por ejemplo, la presencia de anticuerpos antitiroglobulina cuando se mide la tiroglobulina.
- 11- El efecto *Hook* producido por altas concentraciones del MT en circulación. Para evitar este efecto es importante utilizar técnicas de amplio rango dinámico, métodos secuenciales con lavado intermedio y, en caso de duda, determinar el MT a 2 diluciones diferentes: la primera al 1:5 o 1:10 y la segunda al 1:50 o 1:100.
- 12- El efecto “arrastre” o “*carry over*” que se produce en métodos automatizados, al medir el analito que se encuentra en bajas concentraciones en una muestra (A), luego de haber medido una muestra (B) con altas concentraciones del mismo, resultando en valores falsamente elevados para (A).
- 13- La medición de MT está sujeta a la presencia de inconvenientes que llevan a:
FALSOS NEGATIVOS: producción del marcador está ausente, expresión del MT es insuficiente o aberrante, irrigación sanguínea limitada en el tumor, generación de complejos inmunes con autoanticuerpos, o bien, cuando el clearance o degradación de los antígenos se encuentra acelerada.
FALSOS POSITIVOS: en presencia de procesos inflamatorios, enfermedades hepáticas benignas que alteran el metabolismo del marcador, alteraciones en la función renal (produce un clearance alterado del metabolito), presencia de necrosis tumoral extensa que puede modificar la vida media del marcador en suero, el uso de procedimientos diagnósticos o terapéuticos que modifiquen los valores reales del

analito en el paciente, y finalmente las condiciones fisiológicas como el embarazo, el ciclo menstrual o el tabaquismo.

14 - La mayoría de MT no tienen utilidad en el cribado, exceptuando el PSA y la AFP en determinados grupos poblacionales.

Control de la calidad analítica y validación de los resultados

Los requisitos analíticos son similares a los definidos para otras técnicas de laboratorio, por lo que es necesario el uso de controles internos y la participación en programas de evaluación externa de la calidad. Es importante que las concentraciones de los materiales de control sean cercanas a los puntos de decisión clínica. Al menos debería incluirse un control con una matriz sérica y/o similar a la muestra en cada caso y procedente de una fuente independiente, adicional a los materiales de control suministrados por el fabricante. Es aconsejable verificar en cada laboratorio los intervalos de referencia de cada MT.

Es deseable el empleo de metodologías con una variabilidad intraensayo inferior al 5% e interensayo inferior al 10%. Los límites para la aceptación del ensayo en cuanto a inexactitud, imprecisión, sensibilidad y especificidad deben ser predefinidos y basados preferiblemente en criterios de organismos reguladores (por ejemplo, *Clinical Laboratory Improvement Amendments*), variabilidad biológica o las prestaciones basadas en el estado del arte para los MT estudiados. Debe comprobarse la reproducibilidad y exactitud de los métodos empleados en los casos en que la determinación de MT se realice en otros líquidos biológicos (derrames, orina). Muchas determinaciones de los MT pueden sobrepasar el intervalo de medición, requiriendo dilución. Por ello, la exactitud y precisión de los distintos métodos utilizados debe ser estudiada tanto en el intervalo de medición, como en las diluciones (importancia de los ensayos de recuperación).

Un cambio significativo analítico en la concentración del MT sería aquel en que la variación entre 2 resultados es superior a la variabilidad analítica y a la variabilidad biológica intraindividual (valor de referencia del cambio). Sin embargo, no existe un criterio único para establecer la magnitud de un cambio para que se considere significativo para todos los MT. Las recomendaciones de las distintas sociedades científicas para la interpretación de los MT se basan en estudios en los que se utilizan valores discriminantes o incrementos obtenidos empíricamente, pocos de ellos basados en la variabilidad biológica. Además, un mismo marcador puede tener distintas interpretaciones según el tipo de tumor estudiado.

Validación de resultados

En la validación de resultados de MT deben tenerse en cuenta, además de los procedimientos habituales del laboratorio clínico, los resultados previos, las concentraciones

de los MT determinados y la situación clínica del paciente, para excluir las posibles causas de falsos positivos. La interpretación de los resultados debería basarse en 3 criterios:

- Magnitud de la concentración del marcador.
- Descartar falsos positivos.
- Control evolutivo.

CLASIFICACIÓN Y APLICACIÓN CLÍNICA DE LOS MT

La determinación inmunohistoquímica en muestras tisulares (biopsia) es fundamental en la fase precoz del diagnóstico del tumor primitivo y de las lesiones metastásicas, y en la identificación histológica de neoplasias muy indiferenciadas. En contraste, los MT circulantes no son útiles para determinar las características histológicas de una neoplasia.

La clasificación de los MT es teórica, ya que muchos de ellos pueden ser incluidos en más de un grupo. Se agrupan según la localización celular de la molécula ya que es importante para el estudio de la fisiopatología de la célula neoplásica y de los procesos bioquímicos de regulación celular: (Tabla 4)

Tabla 4. Clasificación de los Marcadores tumorales

MT: indicadores de riesgo, alteración fisiopatológica, capacidad de evolución y pronóstico de neoplasias de órganos sólidos y tejidos hematopoyéticos.
Marcadores Bioquímicos: molécula señal de neoplasia <ul style="list-style-type: none"> - Antígenos oncofetales (CEA, AFP) - Antígenos Oncoproteínas: factores de crecimiento, receptores, proteínas nucleares. - Productos metabólicos diferenciales (hormonas: CT, ACTH, PTH, TG, β-HCG y proteínas: β2-MG) - No diferenciales (ferritina, LDH, TNF-α) - Enzimas o isoenzimas (PSA, TK, NSE, FAL, γGT) - Marcadores de proliferación (citoqueratinas, TPA) - Marcadores mucinosos (CA 125, CA 19.9, CA 15.3, CA 50, MCA)
Marcadores Genéticos: alteraciones genómicas patognomónicas <ul style="list-style-type: none"> - Oncogenes (ABL, MYC, RAS, HER-1/neu) - Genes oncosupresores (p53, RB, NF-1) - Mutaciones (BrCa1, RET) - Translocaciones (t14;22 – t8;14 – BCR/ABL)
Marcadores Celulares: citoplasmáticos/de membrana <ul style="list-style-type: none"> - Receptores hormonales de Cáncer mamario, CD linfocitarios, etc.
Marcadores inducidos por la neoplasia <ul style="list-style-type: none"> - Proteínas de la fase aguda (ferritina, etc.) - Otras proteínas asociadas

A continuación se describen los MT más utilizados en la práctica clínica:

Marcadores oncofetales

Los antígenos oncofetales son proteínas producidas durante la vida fetal, están presentes en muy baja concentración durante la vida adulta y aumentan en presencia de patologías

neoplásicas, como resultado de la transformación maligna de células, y en algunas enfermedades benignas. A esta categoría pertenecen el antígeno carcinoembrionario (CEA) y la α -Fetoproteína (AFP).

- Antígeno Carcinoembrionario (CEA)

El CEA es una glicoproteína (189-200 kDa) que pertenece a la superfamilia del gen de las inmunoglobulinas que se encuentra en el cromosoma 19(q). Presenta un alto grado de heterogeneidad, dependiente de las variaciones en las cadenas de hidratos de carbono, y migra en la zona electroforética de las β 1-globulinas. El CEA se encuentra anclado en la membrana de la mucosa colónica fetal y se relaciona con la adhesión celular y la capacidad de invasión y metástasis. Su aclaramiento se realiza por vía hepática y suele estar aumentado en casos de metástasis. Valores de referencia de CEA: < 2,5 ng/mL y < 5 ng/mL en fumadores.

Aparece sobreexpresado en adenocarcinomas de colon y recto, especialmente en tumores bien diferenciados, pero pueden observarse incrementos de los valores de CEA en otros tumores como el cáncer de mama, pulmón, páncreas, estómago, vejiga y tiroides. Incluso pueden evidenciarse niveles discretamente elevados en ausencia de enfermedades malignas, por ejemplo, en fumadores, pacientes con tuberculosis pulmonar, enfermedad inflamatoria intestinal y en hepatopatías, ya que el CEA plasmático se aclara normalmente a través del hígado.

El grado de elevación del CEA se correlaciona con el estadio del tumor, como en el cáncer de colorrectal, de tal forma que valores superiores a 20 ng/dL son indicativos de enfermedad avanzada. Se observan niveles muy altos de CEA (>100 ng/mL) en presencia de metástasis. Este marcador no es útil para la detección sistemática de tumores colorrectal, aunque es importante después del diagnóstico para el pronóstico y el seguimiento. Tras la resección quirúrgica del tumor, los niveles séricos de CEA vuelven a los valores de referencia después de 4-8 semanas. En caso contrario, se sospecha la presencia de metástasis o tumor residual. En la etapa de seguimiento, el aumento de los valores de CEA representa una señal de alarma para la recurrencia de la enfermedad. El tiempo de espera desde la elevación del CEA hasta la recurrencia clínica es de unos 5 meses. La sensibilidad del CEA es igual al 75-78% para las metástasis hepáticas y retroperitoneales, y del 42% para las pulmonares (Fig. 8).

En el cáncer de mama, el CEA elevado está asociado con enfermedad metastásica. En estadio temprano o localizado no se modifica y es menos sensible que el CA 15-3 y CA 27.29. En el cáncer de pulmón, la determinación de CEA es útil para diagnosticar el carcinoma de pulmón de células no pequeñas y en el seguimiento del cáncer de pulmón.

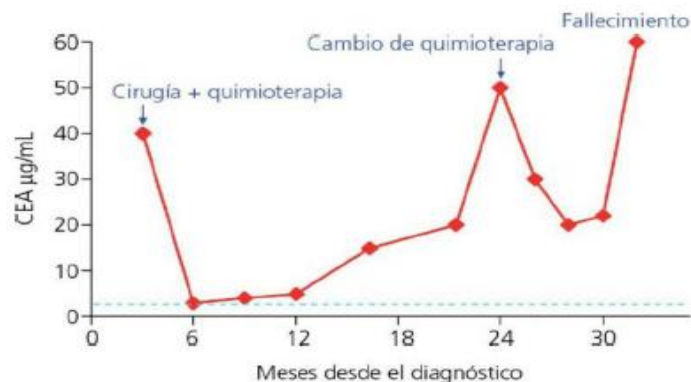


Figura 8. Seguimiento de un cáncer de colon con el marcador tumoral con el antígeno Carcinoembrionario (CEA). Las elevaciones del CEA indican la resistencia del tumor a los distintos tratamientos (Medicina del laboratorio. Ed. Médica panamericana 2015. Cap. 20).

Se determina en muestras séricas y líquidos biológicos por QLIA (los anticoagulantes quelantes de calcio podrían interferir en los residuos de ácido siálico de la molécula). La concentración de CEA medida depende del método, por lo tanto, los valores siempre deben compararse utilizando el mismo método.

La Asociación Americana de Oncología Clínica (ASCO) recomienda que se determine el CEA: a) cada 2 ó 3 meses durante al menos los dos primeros años tras el diagnóstico de cáncer colorrectal en estadio II o III; b) antes de la intervención quirúrgica y c) cada 2 ó 3 meses en el seguimiento de una intervención con intención radical.

- α -Fetoproteína (AFP)

La AFP es una glicoproteína (70 kDa y vida media de 7 días) y movilidad electroforética incluida entre α 1-globulinas y albúmina. En términos estructurales y genéticos es homóloga a la albúmina, y en condiciones normales se sintetiza en el saco vitelino y el hígado fetal. Atraviesa la placenta e ingresa a la circulación materna siendo la principal proteína del suero fetal, donde su medición puede utilizarse para detectar defectos del tubo neural. Durante el embarazo protege al feto del rechazo materno. La concentración de AFP materna alcanza un pico de 500 ng/mL durante el tercer trimestre y en el feto llega a 2 g/L a las 14 semanas. La concentración de AFP disminuye después del nacimiento hasta los valores trazas del adulto. La síntesis de albúmina aumenta durante el desarrollo fetal posterior.

La concentración sérica de AFP es inferior a 10 ng/mL en adultos sanos. Valores de AFP mayores de 1000 ng/mL son indicativos de cáncer. Las neoplasias principales asociadas con un aumento de AFP son el carcinoma hepatocelular y en algunos tumores de línea germinal no seminomatosos (teratoblastomas y carcinomas de testículos y de ovarios, etc.). La elevación de este marcador excluye el diagnóstico de tumor germinal seminoma puro,

salvo que exista componente mixto. En las hepatopatías no malignas como hepatitis viral y cirrosis puede incrementar en forma moderada los niveles de AFP.

Se ha propuesto la determinación de AFP como prueba de detección sistemática del hepatocarcinoma. Si bien la concentración sérica de AFP se correlaciona con el tamaño del tumor, la detección de carcinoma hepatocelular es más útil en las primeras etapas, cuando el tumor es pequeño como para ser resecable (<5 cm).

La AFP es útil para determinar el pronóstico y monitorear la terapia en este tipo de cáncer. Concentraciones elevadas de AFP después de la cirugía puede indicar la eliminación incompleta del tumor o la presencia de metástasis. Se debe tener en cuenta que la quimioterapia por sí misma puede producir un aumento de AFP en la primera semana debido al daño hepatocelular que induce.

La combinación de AFP y hCG es útil para clasificar tumores de células germinales. En los tumores de células germinales pueden predominar un tipo de célula o una mezcla de seminoma, saco vitelino, elementos coriocarcinomatosos (carcinoma embrionario), y teratoma. Las concentraciones séricas de AFP son elevadas en los tumores del saco vitelino, mientras que la hCG está elevada en el coriocarcinoma. Ambos están elevados en el carcinoma embrionario. En seminomas, la AFP no aumenta, mientras que la hCG se eleva en el 10 a 30% de los pacientes que tienen células sincitiotrofoblásticas en el tumor. Ninguno de los marcadores se eleva en el teratoma. Uno o ambos marcadores incrementan aproximadamente en el 90% de los pacientes con tumor testicular no seminomatoso. El uso combinado de estos marcadores es útil en el seguimiento de pacientes con tumores de células germinales: elevación de cualquiera de los marcadores indica recurrencia de la enfermedad o desarrollo de metástasis.

La medición de AFP sérica se efectúa con métodos inmunométrico y de lectura con quimioluminiscencia.

Marcadores Oncoplacentarios

Gonadotropina Coriónica humana (hCG)

La gonadotropina coriónica humana es una glicoproteína (39,5 kD) secretada por las células sincitiotrofoblásticas de la placenta. La determinación de hCG en muestras de suero y orina se emplea para diagnosticar y monitorear el embarazo, detección de embarazos ectópicos (mola hidatiforme) y amenazas de aborto.

La molécula está compuesta de 2 subunidades α y β , diferentes entre sí; mientras la subunidad α es compartida por hormonas como TSH, LH y FSH, la subunidad β le confiere características biológicas e inmunológicas. Esto ha permitido el perfeccionamiento de las

pruebas que utilizan anticuerpos monoclonales capaces de reconocer la β -hCG entera y al descubrimiento de algunos carcinomas que expresan solo la cadena α o solo la β . La vida media normal de hCG sérica es de aproximadamente 12 a 20 horas.

Es un marcador específico de los tumores de células de líneas germinales femeninas y masculinas. La β -hCG se encuentra elevada en la enfermedad trofoblástica (tumores placentarios), coriocarcinoma (100%) y en los tumores germinales de testículo y ovario (seminomas puros, 10-25% y en los no seminomatosos, 80%). La determinación de hCG y AFP, es útil en la identificación de tumores testiculares no seminomatoso (Fig. 9).



Figura 9. Evolución de la concentración de gonadotropina coriónica humana β (β -hCG) en el tratamiento (quimioterapia) de un seminoma. Se observa un rápido descenso, lo que indica una respuesta satisfactoria al tratamiento.

La hormona se expresa en menor proporción en cánceres biliares, páncreas, vejiga, riñón, próstata, hígado, colorrectal, pulmón de células no pequeñas, mama, cabeza y cuello, y neoplasias hematológicas. Aunque, la especificidad de la β -hCG como marcador sérico es elevada, aunque existen falsos positivos en ciertas patologías benignas tales como úlcera gastroduodenal, consumo de marihuana, cirrosis hepática y enfermedad intestinal inflamatoria. El límite superior de referencia (LSR) en hombres y mujeres no embarazadas es 5,0 mUI/mL. Los ensayos de hCG con un límite de detección <2 mUI/L, reactividad cruzada con LH $<2\%$ y reconocimiento equimolar de hCG y β -hCG (o un ensayo separado para β -hCG) son los ideales para el uso de hCG como marcador tumoral. Los tumores de origen placentario y de células germinales sintetizan principalmente hCG intacta, mientras que la producción diferencial de las subunidades, en particular la subunidad β libre, se ha observado en pacientes con cáncer no trofoblástico. Por otra parte, en pacientes con tumores trofoblásticos los niveles circulantes de hCG son muy elevados (>100.000 mUI/mL). Las concentraciones de hCG se correlacionan con volumen tumoral y el pronóstico de la enfermedad. Además, la respuesta a la terapia para pacientes con metástasis del sistema nervioso central se puede observar mediante la monitorización de la

concentración de hCG en el LCR. Durante la quimioterapia, se recomienda la medición de hCG semanal y una vez lograda la remisión, se sugiere la medición anual de hCG para detectar recaídas. Actualmente, para medición de hCG se utilizan ensayos inmunométrico tipo "sándwich" (inmunoanálisis enzimático -ELISA-, electroquimioluminiscencia).

Hormonas

La producción de hormonas en el cáncer implica dos vías: a) el tejido endocrino puede producir cantidades excesivas de una hormona y b) una hormona puede sintetizarse en un sitio distante en un tejido no endocrino. Esta última condición se llama síndrome ectópico (Tabla 5).

Adenocorticotrofina (ACTH)

La ACTH es una hormona polipeptídica sintetizada por células corticotrópicas en la hipófisis anterior como una hormona precursora (propiomelanocortina, Pro-ACTH) y posee una vida media de 7-12 min. El aumento de ACTH es estrictamente seguido por un aumento de cortisol plasmático.

La secreción de ACTH es pulsátil y presenta ritmo circadiano, con un mínimo en las primeras horas de iniciado el sueño y un máximo una o dos horas antes del despertar. Valor de referencia: 8 h: 20-80 pg/mL y 16 h: <20 pg/mL

Tabla 5. Hormonas como Marcadores Tumorales

Hormona	Tipo de Cáncer
ACTH	Síndrome de Cushing, pulmón (células pequeñas)
Hormona Antidiurética	Pulmón (células pequeñas), corteza adrenal, pancreático, duodenal
Bombesina	Pulmón (células pequeñas)
Calcitonina	Medular de tiroides
Gastrina	Glucagonoma
Hormona de Crecimiento	Adenoma pituitario, renal, pulmón
hCG	Embrionario, coriocarcinoma, testicular (no seminoma)
Lactógeno placentario	Trofoblástico, gónadas, pulmón, mama
Neurofisinas	Pulmón (células pequeñas)
Hormona Paratiroidea	Hepático, renal, mama, pulmón
Prolactina	Adenoma pituitario, renal, pulmón
VIP	Páncreas, broncogénico. feocromocitoma, neuroblastoma

(Medicina del laboratorio. Ed. Médica panamericana 2015).

Las concentraciones plasmáticas elevadas de ACTH podrían ser el resultado de la producción pituitaria o ectópica (un valor de ACTH > 200 ng/L sugiere un origen ectópico). El fracaso de la prueba de la dexametasona para suprimir el cortisol también es indicativo de producción ectópica (Ej: carcinoma de células pequeñas de pulmón). Se ha reportado que

los niveles de ACTH incrementan en cáncer pancreático, de mama, de estómago y de colon, como también en afecciones benignas, enfermedad pulmonar, obesidad, hipertensión, diabetes mellitus y estrés. Los ensayos inmunométricos como el inmunoensayo de electroquimioluminiscencia se utilizan para la determinación cuantitativa de ACTH en plasma humano tratado con EDTA.

El síndrome de Cushing (SC) se clasifica como dependiente de ACTH, de origen hipofisario (80-85%) o ectópico (SCE) (15-20%), e independiente de la ACTH, de origen adrenal. En el 5 al 15% de todos los casos el SC se debe a un tumor ectópico (tumores neuroendocrinos (TNE) y algunos tumores de órganos sólidos). El 40 al 60% de los tumores responsables del SCE se encuentran en el tórax. Las neoplasias más relacionadas son los carcinoides bronquiales (25-32%), carcinomas de células pequeñas del pulmón (20%), TNE del timo (7-11%) y de las células de los islotes pancreáticos (8%), feocromocitomas (3-5%) y carcinoma medular de tiroides (0,6-7,5%). También se han descrito casos de SCE en tumores sin diferenciación neuroendocrina (6-8%): adenocarcinoma de ovario, cérvix, anorectal, pulmón, próstata y neuroblastoma. Los TNE se caracterizan por la producción de una o varias hormonas (gastrina, catecolaminas, serotonina, calcitonina, péptido intestinal vasoactivo, bombesina, entre otras) que causan diferentes síndromes clínicos. Además pueden producir varios marcadores neuroendocrinos (cromogranina A, sinaptofisina, ácido 5 hidroxil indol acético) que pueden orientar al diagnóstico de TNE. La hormona que se produce con más frecuencia en el SCE es la ACTH, y en una proporción mucho menor la hormona estimulante de corticotrópos (CRH).

Calcitonina (CT)

La calcitonina (3418 Da) es secretada por las células C o parafoliculares de la glándula tiroides en respuesta a un aumento del calcio sérico (inhibe la liberación de calcio del hueso y reduce la concentración del ión en circulación). La vida media de CT es alrededor de 12 min. Se observan niveles de CT altos en terapias prolongadas con calcio, en especial si se efectúan por vía endovenosa. Valor de referencia: inferior a 10 pg/mL.

La CT es el marcador de elección en la evaluación pre- y posoperatoria y principalmente en el seguimiento del carcinoma medular de la tiroides (CMT). En la mayoría de los casos el CMT es esporádico, no asociándose a otras patologías, sin embargo en el 20-25% de los casos el CMT es hereditario, en el contexto de la entidad denominada Neoplasia Endocrina Múltiple tipo 2 (NEM 2). Esta condición se transmite en forma autosómica dominante y es debida a mutaciones de línea germinal del proto-oncogen RET. La NEM 2, consta a su vez de dos entidades principales; la NEM 2A y NEM 2B.

- En la NEM 2A (forma clásica), todos los individuos desarrollan CMT (generalmente

multifocal, bilateral), 50% de ellos están en riesgo de desarrollar feocromocitoma (FEO), y 10-30% Hiperparatiroidismo primario (HPP).

-Las NEM 2B tienen un espectro similar a NEM 2A, presentando un riesgo de 50% de presentar FEO, pero difieren en el comienzo más temprano del CMT, la ausencia de HPP y el desarrollo de neuromas mucosos de labios y lengua, ganglioneuromatosis del tracto gastrointestinal y hábito marfanoide.

En los pacientes con NEM2, el primer hallazgo histológico previo al desarrollo de un microcarcinoma es la hiperplasia de células C (HCC), la cual puede no estar acompañada de una CT elevada en los primeros estadios de un CMT.

Para detectar de manera temprana las anomalías en las células C, se han usado pruebas de estimulación con secretagogos conocidos de la CT como el calcio y un análogo de la gastrina (pentagastrina, y cuando no está disponible, el omeprazol) ya sea en forma separada o combinada, que provocan un aumento en la CT en todos los estadios del CMT. Una ventaja de estas pruebas es que pueden detectar hiperplasia de células C antes de confirmarse el CMT. En los países en los que la utilización de técnicas de biología molecular es accesible, la cirugía para los portadores se basa exclusivamente en la prueba genética, y las pruebas de estimulación se usan raramente.

Las pruebas de estimulación se usan habitualmente:

- Para confirmar el diagnóstico de CMT antes de la cirugía cuando los niveles basales de CT están sólo moderadamente elevados (menos de 100 pg/ml).
- Para detectar enfermedad de células C en portadores RET positivos.
- Para el control prequirúrgico de niños RET positivos.
- Para el control postoperatorio de recurrencia de tumores.
- Cuando la prueba genética no es accesible.

En el carcinoma medular hereditario: La medición de calcitonina generalmente no es recomendada para la evaluación de rutina de los nódulos de tiroides porque el CMT ocurre en <0,5% de los cánceres de tiroides. El consenso argentino de cáncer diferenciado de tiroides sugiere determinar CT en todos los pacientes que van a ser sometidos a cirugía por nódulos tiroideos y fundamentalmente en aquellos casos de categorías citológicas III, IV y V de Bethesda. Sin embargo, la determinación rutinaria de la CT, aún es tema de debate y se necesita más evidencia para sugerir su uso en nuestra práctica clínica. La medición de CT puede ser útil cuando el diagnóstico de carcinoma surge a partir de la PAAF. El estatus del oncogen RET puede ser evaluado en muestras obtenidas mediante aspiración con aguja fina del nódulo tiroideo, y la diferenciación entre las mutaciones de CMT esporádico versus el familiar hace posible decidir si es necesario hacer el rastreo pre quirúrgico de feocromocitoma. Además de la calcitonina, estos tumores pueden producir el péptido

relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP). El CMT puede sintetizar otras hormonas polipeptídicas como ACTH, somatostatina y péptido vasoactivo intestinal (VIP). La membrana celular del CMT tiene receptores de somatostatina lo que permite lograr imágenes con octreotide radiomarcado.

Existe una correlación entre CT plasmática basal y tamaño del tumor, estadio tumoral y la curación bioquímica. Siempre se debe medir CT y CEA en sangre preoperatorio (niveles de CT \geq 500 pg/mL obligan descartar metástasis a distancia). Todo paciente operado por CMT y en ausencia de metástasis a distancia antes de la cirugía debe seguirse 3-6 meses luego de la cirugía con:

- CT (siempre en el mismo laboratorio): la CT sérica basal es el marcador más sensible y específico para el diagnóstico de CMT persistente.
- CEA: puede ayudar en la identificación de falsos positivos o falsos negativos; puede estar elevado en todos los pacientes, con mayor frecuencia aumenta ante la presencia de metástasis a distancia, considerándose entonces un indicador de mal pronóstico.
- Ecografía cervical.

Las acciones y seguimientos posteriores dependerán de los niveles de CT, CEA y hallazgos ecográficos.

Puede haber elevaciones no específicas de la calcitonina sérica en los tumores carcinoides, en el carcinoma de pulmón de células pequeñas, enfermedades pulmonares inflamatorias, gastrinoma, e insuficiencia renal crónica. Las determinaciones de CT aplicadas al diagnóstico y seguimiento del CMT deberían realizarse mediante ensayos inmunométricos de dos sitios, específicos para el monómero maduro de CT de 32 aa.

Enzimas

La medición de la actividad enzimática y la masa enzimática no suelen ser parámetros suficientes para identificar un tipo de cáncer u órgano afectado (a excepción del PSA), aunque sirven como marcadores complementarios que ayudan al diagnóstico y seguimiento.

Fosfatasa Alcalina (FAL)

La fosfatasa alcalina es producida a nivel hepático, óseo y placentario. En el suero de adultos proviene principalmente del hígado o del tracto biliar. Tiene dos aplicaciones clínicas muy útiles: en enfermedad obstructiva hepática y en enfermedad metabólica ósea, asociada a incremento de la actividad osteoblástica, es considerada un marcador bioquímico de recambio óseo.

Los valores elevados de FAL pueden observarse en el cáncer de hígado primario o secundario y para evaluar el cáncer metastásico con afectación ósea o hepática. Para

confirmar el origen de los valores de FAL aumentados, se determinan las enzimas hepáticas 5'-nucleotidasa o γ -glutamyltransferasa, que si también están elevadas sugieren una afección hepática. La determinación de la isoenzima de FAL como la hepática puede proporcionar especificidad y es más estable que la isoenzima ósea. Las neoplasias como leucemia, sarcoma y linfoma con infiltración hepática, pueden aumentar los niveles de FAL.

La fosfatasa alcalina placentaria (PALP) sintetizada por trofoblastos se encuentra elevada en el suero de mujeres embarazadas y en una variedad de neoplasias malignas, incluidas las de ovario, pulmón, trofoblástico y gastrointestinal, seminoma, y enfermedad de Hodgkin.

Enolasa específica de neuronas (NSE)

La enolasa es una enzima glucolítica que convierte el 2-fosfo-fosfoglicerato en fosfopiruvato. Está presente en los tejidos como isoenzimas cada una constituida por dos subunidades (α , β , y γ), y la isoforma γ corresponde a la NSE neuronal específica, la cual es sintetizada por las neuronas y las células neuroendocrinas. Es el marcador empleado en el estudio de los tumores neuroectodérmicos que incluyen los carcinomas de pulmón indiferenciados de células pequeñas, tumores carcinoides intestinales o los neuroblastomas.

Aunque la NSE es un factor pronóstico en este tipo de tumores, su principal aplicación está en valorar la respuesta a quimioterapia en pacientes con carcinoma de pulmón indiferenciado de células pequeñas.

Los valores de referencia están por debajo de <14 ng/mL. Las muestras de sangre hemolizadas pueden dar falsos positivos puesto que los hematíes son ricos en enolasa. La concentración sérica de NSE se mide por un inmunoensayo y parecen correlacionarse con el estadio proporcionando un pronóstico útil para la progresión de la enfermedad.

LDH

Enzima que se encuentra presente en casi todos los tejidos del cuerpo, y puede verse elevada en cualquier tumor y en una gran diversidad de patologías benignas (hepatitis, infarto agudo de miocardio, etc.). Se usa como un MT para el cáncer testicular y otros tumores de células germinales. Por sí mismo, al igual que ocurre con otros MT como HCG y AFP, no es suficiente para iniciar un tratamiento, aunque sí para poner en marcha el estudio en busca de una probable recidiva. En el cáncer de ovario, se eleva particularmente en los carcinomas indiferenciados y sus niveles se relacionan con el estadio tumoral. En el cáncer de pulmón de células pequeñas puede ser útil para seguir la respuesta al tratamiento.

Fosfatasa ácida prostática (PAP)

La fosfatasa ácida prostática es un miembro de las fosfatasas ácidas que hidrolizan los ésteres de fosfato a un pH óptimo inferior a 7,0. Se produce principalmente por la glándula prostática, aunque también se encuentra en eritrocitos, plaquetas, leucocitos, médula ósea, hueso, hígado, bazo, riñón e intestino. A un pH 5 a 6, es donde la enzima presenta máxima actividad. Se puede encontrar una PAP sérica elevada en mieloma múltiple y metástasis óseas; y en algunas enfermedades benignas, como hiperplasia prostática, osteoporosis e hiperparatiroidismo.

La PAP se limita como prueba auxiliar a confirmar la detección de metástasis y la estadificación del carcinoma prostático. El método de elección para la PAP es la medición de su actividad enzimática.

Cáncer de Próstata

El cáncer de próstata (CaP) es un tumor maligno que se origina a partir de las células del epitelio glandular. Representa el segundo cáncer más común en hombres a nivel mundial. Entre los factores de riesgo se encuentra la edad (más común en mayores de 65 años), la historia familiar y a la etnia. Es una enfermedad muy heterogénea a nivel clínico y molecular, caracterizada por un periodo de latencia largo y un crecimiento tumoral lento. Las herramientas más relevantes para la detección precoz del CaP son el tacto rectal (DRE, *digital rectal examination*) y la cuantificación del antígeno prostático específico (PSA, *prostate specific antigen*). La confirmación diagnóstica se efectúa por biopsia. La resonancia magnética multiparamétrica (RMmp) de próstata contribuye al diagnóstico, localización y estratificación de riesgo del CaP clínicamente significativo.

Antígeno prostático específico (PSA)

El PSA es una enzima (33 kDa) con actividad serinoproteasa, producida exclusivamente por células epiteliales de los acinos y conductos de la glándula prostática y secretada al líquido seminal. Tiene una acción similar a la quimotripsina y participa en la licuefacción del semen. Se sintetiza a partir de una molécula precursora inactiva llamada pre-pro-PSA. Alrededor del 70-90% del PSA que pasa al suero se encuentra unido a inhibidores de proteasa y se denomina "PSA-complejado" (c-PSA). El 20-30% restante, considerado PSA "libre" (l-PSA), es sintetizado en la zona transicional de la próstata y consta de tres isoformas: proPSA, cuyos niveles se incrementan en casos de CaP; B-PSA que es considerado una isoforma menor del PSA y se asocia a la presencia de Hiperplasia Prostática Benigna (HPB); y el l-PSA es una forma inactiva de PSA (Fig. 10).

La variante [-2] proPSA es la más prevalente en el CaP y se ha incorporado en una prueba conocida como *el prostate health index* (PHI). Es una fórmula matemática que se basa en las diferentes proporciones de los biomarcadores: L-PSA, PSA total y [-2] proPSA. Su objetivo es distinguir las afecciones prostáticas benignas y malignas en pacientes de 50 años de edad o mayores que presenten un PSA sérico entre 4 y 10 ng/mL y un DRE normal.

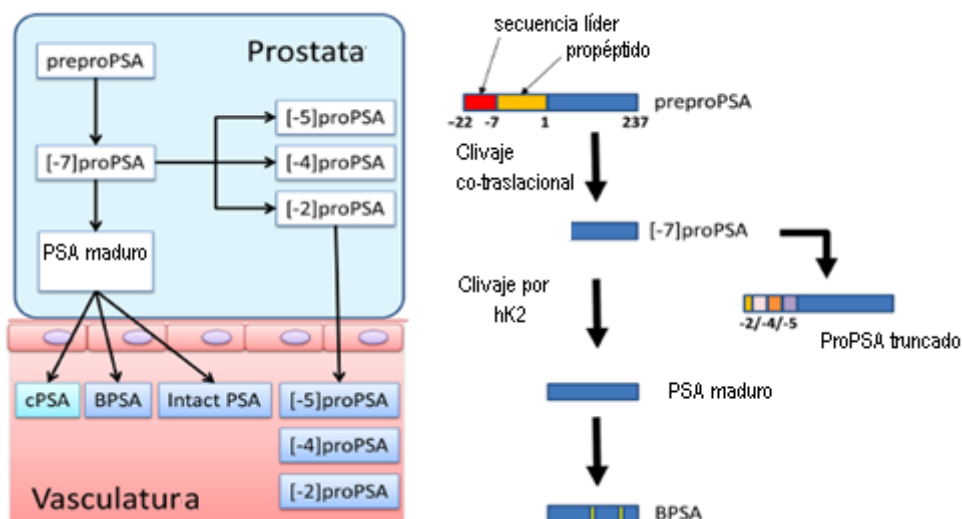


Figura 10. Síntesis de PSA e isoformas de PSA. Hay varias isoformas truncadas de proPSA, que incluyen [-7] proPSA, [-5] proPSA y [-2] proPSA. [-2] proPSA, que es el isoforma de proPSA predominante en tumores de próstata. La escisión del propéptido en proPSA por la calicreína 2 (hk2) genera la molécula de PSA maduro. El PSA benigno (BPSA), PSA intacto y [-2] proPSA existen como moléculas de PSA libre en suero. cPSA: PSA complejado. Int J Clin Oncol, 2016.

La concentración de PSA es un parámetro continuo: cuanto mayor es el valor, más probabilidades hay de que exista un Ca. Pero si bien se ha estimado que los valores esperados para PSA deberían ser menores a 4 ng/mL, no existe un punto de corte para PSA con alta sensibilidad y especificidad para monitorear el CaP en hombres sanos. Además, los niveles elevados de PSA también pueden variar a causa de otras patologías prostáticas benignas, como infección, inflamación e hiperplasia benigna de próstata (HBP). Por otra parte, muchas veces el PSA detecta la enfermedad en un estadio clínico no relevante. Este hecho ha provocado que el CaP sea “sobrediagnosticado” lo que contribuye a un “sobret ratamiento” (Fig. 11).

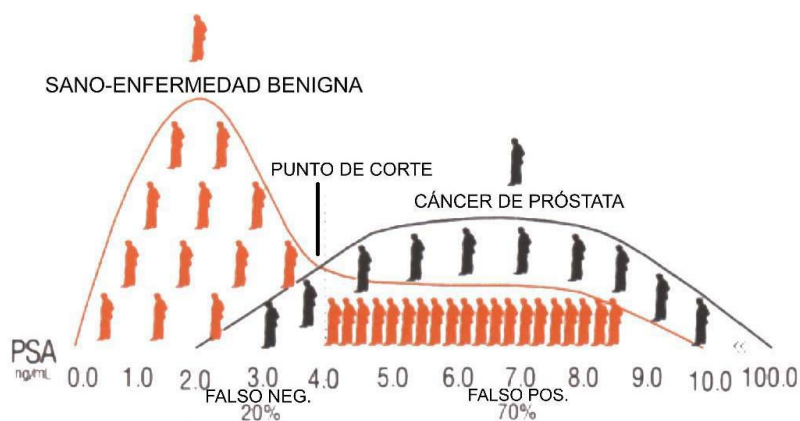


Figura 11. Solapamiento de resultados de una magnitud bioquímica entre la población normal y la población enferma con presencia de falsos positivos y negativos. FN: falso negativo; FP: falso positivo (Principios de Bioquímica Clínica y Biología Molecular, 2º Edición, 2014).

La utilidad del PSA en el cribado del CaP ha sido y sigue siendo objeto de una encendida polémica entre las organizaciones científicas. La controversia no se limita a la incertidumbre que rodea a la realización del cribado, sino también al intervalo de edad en que podría ser aplicado, a la posible definición de grupos de riesgo según un PSA basal, al intervalo que debería haber entre las mediciones de PSA o a la utilidad de otros biomarcadores que mejoren la aportación del PSA. La Asociación Urológica Americana (AUA, 2019) ha publicado una serie de sugerencias en relación a la detección precoz del CaP en varones asintomáticos:

- No realizar la medición del PSA como prueba de tamizaje en los varones menores de 40 años de edad.
- No hacer el tamizaje como rutina en varones entre 40 a 54 años con riesgo promedio. Para menores de 55 años que pertenezcan a un grupo de riesgo, deberán individualizarse las decisiones referentes a la búsqueda de CaP (Ej: sujetos afroamericanos, con historia familiar de adenocarcinomas metastásicos o letales, etc.).
- Para los varones de 55 a 69 años de edad, reconoce que la decisión de someterse a un examen del PSA como prueba de tamizaje implica valorar los beneficios de reducir la frecuencia del CaP metastásico y la prevención de la mortalidad contra los perjuicios potenciales asociados con el tamizaje y el tratamiento. Por esta razón, recomiendan una toma compartida de decisiones y que se proceda de acuerdo con los valores y preferencias de los sujetos.
- Se puede preferir un intervalo para el tamizaje de rutina de dos años o más en lugar de una evaluación anual en aquellos varones que han decidido ser examinados para PSA. Adicionalmente, podrán individualizarse los intervalos para repetir las pruebas de tamizaje de acuerdo con el nivel inicial del PSA.

- No recomienda hacer mediciones del PSA como tamizaje de rutina en los varones mayores de 70 años o en cualquier varón con una expectativa de vida menor de 10 a 15 años.

Cabe aclarar que estas recomendaciones no aplican para la detección del CaP en varones sintomáticos, en donde la presencia de síntomas implica que éstos podrían estar relacionados con un CaP localmente avanzado o metastásico.

Se han propuesto mejoras a las mediciones de PSA, incluyendo la velocidad de PSA (tasa de cambio en el PSA a lo largo del tiempo), la densidad de PSA (PSA en relación al volumen de próstata), los niveles de PSA específicos de la edad y el tiempo de duplicación de PSA. Sin embargo, no han reemplazado a la determinación de los niveles de PSA porque no se ha demostrado que agreguen un valor incremental significativo.

Cociente de PSA libre/total (PSA l/t)

El cociente de PSA libre/total (PSA l/t) es el concepto más investigado y utilizado en la práctica clínica para diferenciar entre HBP y CaP. Este cociente se utiliza para estratificar el riesgo de CaP en los varones con una concentración total de PSA entre 4 y 10 ng/mL y un DRE negativo. No obstante, este concepto debe emplearse con precaución porque diversos factores preanalíticos y clínicos podrían influir en el PSA l/t. Por ejemplo, el PSA libre es inestable a 4 °C y a temperatura ambiente. Además, el PSA l/t no resulta clínicamente útil en caso de un valor sérico total de PSA > 10 ng/ml y en el seguimiento de los pacientes con CaP conocido.

Velocidad del PSA (V-PSA) y tiempo de duplicación del PSA (TD-PSA)

Hay dos métodos de medición del PSA a lo largo del tiempo. La Velocidad del PSA (V-PSA), definida como un incremento anual absoluto del PSA sérico (ng/ml/año) y el Tiempo de duplicación del PSA (TD-PSA), que mide el aumento exponencial del PSA sérico a lo largo del tiempo, lo que refleja una variación relativa. Estos dos conceptos pueden tener importancia pronóstica en los pacientes con CaP tratado. Sin embargo, su uso es limitado en el diagnóstico del CaP debido al ruido de fondo (volumen total de la próstata, HBP), las variaciones del intervalo entre las determinaciones de PSA y la aceleración/desaceleración de la V-PSA y el TD-PSA a lo largo del tiempo.

Densidad de PSA

Se calcula con base en el valor de PSA total dividido por el volumen prostático determinado por ecografía transrectal). Pacientes con PSA entre 4 y 10 ng/mL, resultado de DRE negativo y densidad de PSA elevado (valor de corte típico, 0,15) tienen un mayor riesgo de padecer cáncer.

Seguimiento del CaP

El uso clínico del PSA también incluye el seguimiento del tratamiento del Ca (prostatectomía radical, radioterapia y terapia antiandrógeno). El PSA es producido casi exclusivamente por tejido prostático; por lo tanto, después de la prostatectomía radical, la concentración de PSA debe caer por debajo del límite de detección del ensayo. Esto puede requerir de 2 a 3 semanas debido a la vida media del PSA, entonces más allá de ese tiempo, un valor aumentado de PSA persistente puede ser reflejo de la presencia de residuos tumorales.

La recurrencia bioquímica se ha definido como dos concentraciones de PSA posprostatectomía $\geq 0,2$ ng/mL. Valores crecientes de PSA después de la prostatectomía radical es una fuerte indicación de recurrencia de la enfermedad. El tiempo entre la elevación de la concentración de PSA y la evidencia clínica de recurrencia (metástasis) es en promedio de 8 años. A diferencia de la cirugía, el tratamiento con radiación no afecta a todos los tejidos, por lo que las concentraciones de PSA caen, pero no se vuelven indetectables.

Consideraciones pre-analíticas

En cuanto a las consideraciones pre-analíticas, se debe informar al paciente debe guardar una abstinencia sexual de 3 días, no realizar actividad física los días previos a la extracción de sangre, y en caso de haberse sometido a un examen digito rectal o biopsia prostática, lo prudente es esperar 1 semana y 1 mes respectivamente.

El tacto rectal y especialmente el masaje prostático -maniobra necesaria para la obtención de la orina para la determinación de las amplificaciones del ARNm del gen 3 del cáncer prostático (PCA3)-, pueden incrementar su concentración, siendo recomendable realizar la extracción antes de dichas exploraciones o manipulaciones.

Los inmunoensayos tipo *sándwich* se utilizan para medir el PSA y emplean como marcadores enzimas, fluorescencia o quimioluminiscencia. Diferentes ensayos e incluso el mismo ensayo con diferentes lotes de reactivo pueden producir resultados diferentes. Por las diferencias de ensayo entre fabricantes, el PSA total y libre deben medirse en la misma muestra utilizando ensayos de la misma empresa de diagnóstico. El PSA libre resulta mucho más susceptible a la pérdida de inmunoreactividad que el PSA complejo, por lo tanto, una vez que se obtiene la muestra debe ser procesada de inmediato o congelar hasta su procesamiento.

Marcador PCA3

El PCA3 (gen 3 del cáncer de próstata) corresponde a un RNA mensajero que se transcribe a partir de un gen que solo se expresa a nivel prostático, aumentando su expresión hasta 100 veces en tejido prostático tumoral. A diferencia de los marcadores séricos el PCA3 se mide en el sedimento de orina obtenido después de un masaje prostático. Las ventajas del PCA3 sobre el PSA son su mayor sensibilidad y especificidad. La concentración de PCA3 presenta aumentos leves, pero significativos, del área bajo la curva de biopsias positivas, pero no se ve afectada por el volumen prostático ni la prostatitis.

TMPRSS2-ERG

El TMPRSS2 es un gen específico de la próstata regulado por andrógenos, que codifica una proteína de fusión. Se lo ha identificado como un oncogén para CaP con sobreexpresión en >50% de los casos. En el CaP, el gen TMPRSS2 se fusiona con el regulador ERG (TMPRSS2-ERG) en ~48% de los CaP clínicamente localizados, pero solo en el 30% de ciertas metástasis. En combinación con PSA sérico (10 ng/ml) y el PCA3 urinario, el TMPRSS2-ERG brinda una sensibilidad del 80% y una especificidad del 90%.

SChLAP1

La molécula SChLAP1 (second chromosome locus associated with prostate-1) es un ARN no codificante largo (lncRNA) identificado como biomarcador potencial de riesgo de progresión metastásica de CaP. Los estudios sugieren que SChLAP1 contribuye al desarrollo de un CaP letal, al menos en parte por antagonizar con las funciones del complejo supresor tumoral SWI/SNF. SChLAP1 se expresa en ~25% de CaP y es más frecuente en los casos de cáncer metastásicos que en los localizados.

Antígenos tumorales - Mucinas

Las mucinas (MUC) son glucoproteínas que revisten la superficie de los epitelios secretores (generan moco) y también se han detectado en la superficie de las células no epiteliales o de células no secretoras. Además de la función de protección, las MUC juegan un papel fundamental en los mecanismos de crecimiento neoplásico, favoreciendo la capacidad de invasión y generación de metástasis. Son sustancias de alto peso molecular (500 kDa), alta concentración de hidratos de carbono (50-80% del peso molecular) y composición glucosídica y aminoacídica característica y viscosidad elevada. En condiciones normales, las cantidades de mucinas circulantes son mínimas. Durante la transformación neoplásica, se observa una alteración de la estructura citoarquitectónica de los tejidos, con inversión de la polaridad funcional y contacto de las células con vasos neoformados, lo que determina la introducción de grandes cantidades de mucina de forma directa en el torrente

circulatorio. Las mucinas utilizadas como MT son mucinas normales, producidas en grandes cantidades, a causa de la proliferación celular, y han sido identificadas por anticuerpos monoclonales que reconocen epítopes específicos. Los principales marcadores mucínicos son el CA 15-3, CA 19-9 y CA 125 (Tabla 6).

Tabla 6. Marcadores tumorales de antígenos carbohidratados.

Nombre	Anticuerpo	Fuente	Antígeno que reconoce
CA 15-3	DF3 115D8	Extracto de metástasis de cáncer de mama Membrana de glóbulos grasos de la leche	MUC1 o episialina
CA 19-9	19-9	Línea celular de cáncer de colon	Antígeno de Lewis SW-1116
CA 72-4	B27.3	Fracción de membrana de un carcinoma de mama	TAG-72
CA 125	OC125	Línea celular de cáncer de ovario	Glucoproteína (200.000 D)

CA 19-9

El antígeno carbohidrato 19-9, fue identificado por el anticuerpo monoclonal NS19, se define como lacto-N-fucopentosa, sialilado perteneciente a los antígenos del grupo sanguíneo de Lewis A y es denotado como Le^{xa}. Entre el 3 - 7% de la población no expresa el grupo sialil de Lewis A y pueden ser falsos negativos al carecer del antígeno reconocido. Pacientes que son genotípicamente Le^{a-b-} (5%- *Lewis null*) no expresan CA 19-9.

La concentración en la población sana es inferior a 37 UI/mL y puede elevarse hasta 10 veces en estados ictericos o en pancreatitis. El límite de referencia superior de CA 19-9 discrimina entre el cáncer de páncreas y la enfermedad benigna de páncreas.

El CA 19-9, es una molécula de adhesión intracelular que aumenta (> 37 UI/L) de modo particular en tumores pancreáticos (sensibilidad 80-90%) y del tracto biliar (sensibilidad 60-70%), y en otros cánceres (gástrico, hepatocelular, y colorrectal). Asimismo, aumenta en enfermedades benignas como corrosis, colestasis, colangitis, pancreatitis.

La utilidad del CA 19-9 como prueba de detección es poca, porque el valor predictivo positivo es < 1%. Sin embargo niveles > 100 UI/mL presentan un valor predictivo positivo igual al 97%, cuando el MT se utiliza en situaciones clínicas compatibles con el carcinoma de páncreas (p. ej., ictericia asociada con masa pancreática). Valores séricos > 100 UI/mL predicen la presencia de matástasis. Tras la resección quirúrgica, el CA 19-9 debería volver a los valores de referencia a las 2-3 semanas de la intervención.

CA 125

El antígeno carbohidrato 125 (CA 125, vida media 4,8 días) es un determinante antigénico definido por el anticuerpo monoclonal OC 125. Es una glucoproteína de alto peso molecular que se sintetiza en los epitelios derivados de la cavidad celómica. Se encuentra

en estructuras variadas como pleura, peritoneo, pericardio, miocardio, trompa de Falopio, endometrio, endocérnix y fondo vaginal. No se encuentra en los tejidos como el ovario, la mama y el pulmón. Sin embargo, el CA 125 se expresa en más del 80% de los carcinomas epiteliales no mucinosos del ovario, en carcinomas serosos y de células claras del ovario y está elevado en el suero de estos pacientes.

En una población sana, el límite superior de CA 125 es 35 UI/mL y desciende en la menopausia. En el carcinoma de ovario, la glicoproteína está aumentada en el 50% en los tumores de estadio I, 80% en estadio II y más de 90% en estadios III y IV. Existe concordancia entre la concentración de CA 125 y la actividad de la enfermedad, ya que se correlaciona con el tamaño del tumor y la estadificación (Fig. 12).

Después de la quimioterapia, el descenso en los niveles de CA 125 indica una buena respuesta al tratamiento y al pronóstico de la enfermedad. En cambio, si aumenta el marcador durante el seguimiento terapéutico sugiere la presencia de recidivas.

Este marcador puede estar elevado en otras neoplasias como adenocarcinomas (mama, pulmón, de origen digestivo), linfomas, leiomiomas o melanomas, patología ginecológica benigna (tumores benignos, salpingitis agudas o crónicas, abscesos tuboováricos, endometriosis), hepatopatías (granulomatosis hepática, hepatitis crónica alcohólica o vírica), pancreatitis, insuficiencia renal, derrame pericárdico o pleural, sarcoidosis, tuberculosis peritoneal, colagenosis y procedimientos quirúrgicos o que causan una rotura traumática del peritoneo, como la diálisis peritoneal.



Figura 12. Evolución del marcador CA 125 en una paciente con adenocarcinoma de ovario. El descenso del marcador dentro de los valores de referencia y su mantenimiento indica la buena evolución de la enfermedad. (Principios de Bioquímica Clínica y Biología Molecular, 2ª Edición, 2014).

HE 4 (Proteína epididimaria humana 4)

En la actualidad, en el laboratorio se mide la HE4, una glucoproteína de origen epididimario, presente en elevadas concentraciones en el suero de pacientes afectados por

carcinoma ovárico, ya en el estadio I. Si bien la expresión del tumor tiene dependencia histológica, la HE 4 está presente en la mayoría de los tumores serosos y endometriales, sólo el 50% de los tumores de células claras y el 0% de los mucinosos. HE4 no es un marcador específico para los tumores de ovario, pero su utilidad radica en el monitoreo de la recurrencia o la progresión de la enfermedad en pacientes con cáncer de ovario epitelial.

La combinación de CA 125 y HE4 produce una sensibilidad más alta con respecto a otras combinaciones de MT. La medición de CA 125 y HE4 permite distinguir, con eficacia clínica, el cáncer de ovario de las lesiones ováricas benignas (ovario poliquístico).

CA 15.3

El antígeno carbohidrático 15-3 (CA 15-3) se identifica por dos anticuerpos monoclonales, DF3 y 115D8, que reconocen dos epítopes diferentes de glucoproteína de 300-400 kDa. Este antígeno está presente en los adenocarcinomas de mama, colon, pulmón, ovario y páncreas. En sujetos sanos, el límite superior de CA 15-3 es de 30 U/mL.

El CA 15-3 se caracteriza por tener sensibilidad y especificidad elevadas para la evaluación del tratamiento clínico de los pacientes con metástasis de tumor de mama. Además de estar relacionado con el número y la extensión de la metástasis, también se relaciona con el sitio de la lesión invasiva.

Además de estar relacionado con el número y la extensión de la metástasis, también se relaciona con el sitio de la lesión invasiva, está aumentado en enfermedades benignas aunque con menor frecuencia, como patologías hepáticas o enfermedad benigna de mama.

CA 15-3 no debe usarse para diagnosticar el cáncer de mama primario porque la incidencia de elevación es bastante baja. Es útil para controlar la terapia y la progresión de enfermedad en pacientes con cáncer de mama metastásico (Fig. 13).

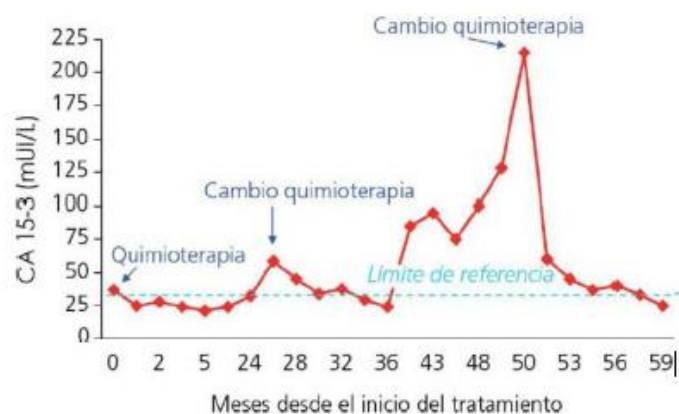


Figura 13. Empleo del marcador CA 15-3 en el seguimiento de una paciente con cáncer de mama. Los incrementos progresivos de CA 15-3 indican la inefectividad de las quimioterapias (Principios de Bioquímica Clínica y Biología Molecular, 2º Edición, 2014).

Se ha reportado que el CA 15-3 se correlaciona mejor que el CEA con la progresión de la neoplasia, regresión y estabilidad. El CA 15-3 aumenta en el 96% de los pacientes con carcinoma de mama, mientras que el CEA incrementa solo en el 70% de los casos. Sin embargo, ninguno de los dos MT es adecuado para detectar en forma precoz el cáncer de mama.

CA 27.29

Es reconocido por un anticuerpo monoclonal (B27.29), que se produce contra un antígeno en la ascitis de pacientes con carcinoma de mama metastásico. La secuencia reactiva del B27.29 se superpone con la secuencia de DF3 utilizada en el ensayo CA 15-3.

CA 27.29 ha sido aprobado por la FDA para uso clínico en la detección de cáncer de mama recurrente en pacientes con enfermedad en estadio II o III y para controlar la respuesta al tratamiento en pacientes con enfermedad en estadio IV (metastásico).

CA 72-4

El CA 72-4 también conocido como TAG-72 (glucoproteína 72 asociada a los tumores) es un marcador de carcinomas del tracto gastrointestinal y de ovario. Su utilidad clínica se orienta a la detección de recurrencia de cáncer gastrointestinal junto a otros MT. El límite de referencia de CA 72-4 es de 7 UI/mL. Se observa elevación de su concentración en enfermedad gastrointestinal benigna (6,7%), carcinoma gastrointestinal (40%); cáncer de pulmón (36%) y cáncer de ovario (24%). También se detecta en otras enfermedades no malignas como la neumonía, pancreatitis, cirrosis y quistes ováricos. La medición conjunta de CA 72-4 con el CEA incrementa la sensibilidad de detección del carcinoma gástrico de 42% a 51%, mientras que asciende al 57% su uso conjunto con CA 19-9.

DU PAN 2

DU-PAN-2 es un marcador de cáncer de páncreas. El epítipo reconocido por el anticuerpo DU-PAN-2 es una mucina. Se encuentra el antígeno DU-PAN-2 principalmente en el epitelio glandular del páncreas y sistema biliar, y en los conductos de mama y bronquiales; en menor proporción se expresa en las células de las glándulas salivales, estómago, colon e intestino. Las concentraciones séricas de DU-PAN-2 están elevadas en pacientes cáncer de páncreas, vías biliares y carcinomas hepatocelulares.

Existe correlación entre los niveles séricos de DU-PAN-2 y CA 19-9, excepto en pacientes que tienen grupo sanguíneo AB, ya que no expresan CA 19-9.

Proteínas

Inmunoglobulinas

En la actualidad se utilizan pruebas específicas para el diagnóstico de las gammopatías monoclonales más frecuentes como son las gammopatías de significado incierto (MGUS), mieloma múltiple (MM), amiloidosis y macroglobulinemia de Waldenström. El anticuerpo producido por las células del mieloma es anormal y se conoce como paraproteínas monoclonales, que aparecen como bandas nítidas en la región de globulinas en la electroforesis sérica. La aparición de inmunoglobulinas monoclonales no malignas aumenta con la edad, alcanzando el 5% en pacientes mayores de 75 años.

La concentración de inmunoglobulinas monoclonales al inicio del diagnóstico es un indicador pronóstico de la progresión de la enfermedad, como también evalúa la eficacia del tratamiento y verifica si hay recidiva.

Tiroglobulina (Tg)

La tiroglobulina (Tg) es una glicoproteína producida exclusivamente por el tirocito, por lo que su medición en sangre puede usarse como un marcador de presencia de tejido tiroideo y estimador de riesgo de recurrencia (o persistencia de enfermedad) y mortalidad en el cáncer diferenciado de tiroides. Luego de la tiroidectomía total su concentración alcanza un nadir cerca de 4 semanas. Existen variaciones significativas entre los distintos métodos de medición de Tg, por lo que la medición debe ser estandarizada contra material de referencia certificado (CRM 457). Adicionalmente, la medición de Tg debe ir siempre acompañada de la medición de anticuerpos anti tiroglobulina (Ac-Tg), pues su presencia interfiere con la detección de Tg por métodos inmunométricos. En presencia de Ac-Tg, la disminución de su concentración en el seguimiento se ha asociado a mejor pronóstico. La medición de Tg puede realizarse bajo terapia con LT4 (también llamada Tg no estimulada) o bien bajo estimulación con hipotiroidismo endógeno o TSH recombinante (rhTSH). Los valores de referencia de Tg en suero: < 30 ng/mL.

La medición de Tg es considerado como un MT en pacientes con diagnóstico de cáncer de tiroides diferenciado. A su vez, se ha observado incremento de Tg sérica en pacientes con tiroiditis e hiperfunción tiroidea. Una concentración preoperatoria elevada de Tg confirma la capacidad del tumor para secretar Tg. Carece de valor como marcador de cáncer medular de tiroides y como marcador precoz de carcinoma. Su aplicación principal se encuentra en la identificación de pacientes con metástasis residual y en el seguimiento de la respuesta terapéutica en pacientes afectados con carcinoma diferencial de tiroides. La detección de niveles posoperatorios elevados o en ascenso indica la persistencia tumoral o metástasis. En general, tras la tiroidectomía los niveles de Tg deben ser indetectables. Se

ha propuesto que los anticuerpos antitiroglobulina son útiles para monitorear la enfermedad residual y/o la recurrencia.

Cromogranina A

La cromogranina A (CgA) pertenece a la familia de las graninas, grupo de proteínas ácidas que se observan en los gránulos de secreción de las células neuroendocrinas. Se expresa en tejido neuroendocrino, médula adrenal, gránulos cromafines y neuronas simpáticas, y puede ser usada como marcador en sangre o en muestra tisular mediante inmunohistoquímica. La cantidad presente en la circulación sanguínea, junto con los neuropéptidos y las hormonas presentes en los gránulos secretores, refleja la de actividad neuroendocrina. De los marcadores circulantes inespecíficos, la CgA es considerada el marcador genérico más sensible para todos los tumores neuroendocrinos (TNE), independientemente de su origen. Es útil como biomarcador en todos los TNE bien diferenciados, independientemente de su localización, tanto en los tumores funcionantes como en los no funcionantes, en los que es muy importante porque es el único producto de secreción. No debe ser utilizada con el fin de diagnosticar un TNE pero es un buen marcador para evaluar la respuesta terapéutica e identificar la recidiva, especialmente después de una resección exitosa, aun cuando no haya evidencia radiológica de enfermedad. También señala el crecimiento de la masa tumoral y, por lo tanto, el pronóstico. Durante el seguimiento de un paciente con NEN, debe solicitarse la CgA asociada al control por imágenes. Valores de referencia por Enzimoimmunoanálisis: < 100 ng/mL.

Se han encontrado concentraciones de CgA elevadas en una variedad de tumores neuroendocrinos como feocromocitomas, paragangliomas, neuroblastomas, carcinoma cutáneo de células de Merckel, tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos, tumores de las células de los islotes pancreáticos, y también en menor proporción en tumores neuroendocrinos broncopulmonares (incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas).

Al analizar una determinación de CgA elevada deben descartarse otras situaciones clínicas no tumorales, como el uso de inhibidores de la bomba de protones, gastritis atrófica autoinmune, insuficiencia renal crónica (filtrado glomerular < 30 ml/min), cirrosis hepática, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedades inflamatorias crónicas (lupus, artritis reumatoidea, enfermedad de Crohn), así como otras neoplasias secretantes de CgA, como el carcinoma hepatocelular y el carcinoma medular de tiroides, entre otros cuadros clínicos.

Proteína S-100

Las proteínas S100 son una familia de proteínas ligadoras de calcio, presentes solo en vertebrados, de bajo peso molecular y estructura dimérica (α - α ; A I y β - β ; B), que cumplen numerosas funciones intra y extracelulares. Son expresadas principalmente por células del

sistema nervioso central y tejidos derivados de la cresta neural, como los tumores de melanocitos. Presenta utilidad clínica para el seguimiento y manejo de pacientes con melanoma maligno y en el diagnóstico precoz y marcador pronóstico de daño cerebral (hipoxia, accidente cerebro vascular agudo, traumatismo craneoencefálico, etc). Su concentración sérica también se puede elevar en situaciones benignas, como la insuficiencia renal y hepática.

Citoqueratinas

Las citoqueratinas son proteínas que polimerizan formando los filamentos del citoesqueleto de las células. Entre las que representan un marcador útil de diferenciación epitelial son: CYFRA 21-1 y TPA.

Antígeno polipeptídico-específico tisular (TPA)

El TPA se considera un complejo de fragmentos de citoqueratinas 8, 18 y 19. Uno de los epitopes de la citoqueratina 18 es reconocido por el anticuerpo monoclonal M3 (Mab M3) y se lo ha propuesto como indicador bioquímico específico para la proliferación celular; se determina en suero con ensayo inmunométrico (VR < 80 UI/mL). Se ha identificado en carcinomas epiteliales, en neoplasias de mama, pulmonares, del tracto gastrointestinal, ginecológicas, urológicas y en tumores hepatocelulares. Se utiliza en la fase de seguimiento de la terapia y en la progresión de la enfermedad. También incrementa en enfermedades no neoplásicas como hepatitis o inflamaciones, en condiciones fisiológicas, como el embarazo y en todas las situaciones fisiopatológicas caracterizadas por la proliferación celular. Se debe utilizar siempre asociado a otros MT más específicos.

CYFRA 21-1

El antígeno del fragmento de citoqueratina 19 (CYFRA 21-1) pertenece a la familia de las citoqueratinas y forman los filamentos del citoesqueleto de las células epiteliales. El CYFRA 21-1 es útil como marcador tumoral, especialmente en el cáncer de pulmón no microcítico (CPNM), junto con a CEA y al antígeno asociado al carcinoma de células escamosas (CCE), pero también para otros tipos de tumores epiteliales como el cáncer de vejiga. Esta elevación en los tumores se puede deber a la lisis celular, a través de la cual se libera material del interior de la célula al torrente sanguíneo, incluido el CYFRA 21-1, mediante la acción de las proteasas que degradan los filamentos de citoqueratina.

La prueba de CYFRA 21-1 mide la fracción soluble de la citoqueratina 19 mediante dos anticuerpos monoclonales (KS 19,1 y BM 19,21) que identifican los epitopes 1 y 21 de la molécula, respectivamente. Numerosos autores respaldan la combinación de varios MT para

mejorar la eficacia diagnóstica en el cáncer de pulmón, como la combinación de CYFRA 21-1 con CEA.

Los niveles séricos de CYFRA 21-1 están elevados en todos los tipos de cáncer de pulmón, aunque es más sensible para el CPNM, y se relacionan con las dimensiones del tumor, el estado de los ganglios linfáticos y el estadio de la enfermedad. Se pueden observar altos niveles de la citoqueratina en tumores de mama, útero, colon-recto, entre otros. Se observan niveles elevados de CYFRA 21-1 en otras enfermedades no oncológicas, como la insuficiencia renal, la enfermedad hepática y las enfermedades pulmonares obstructivas (como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, las infecciones, etc).

Receptores hormonales en Cáncer de Mama

Las estadísticas indican que una de cada 8 mujeres desarrollará cáncer de mama a lo largo de su vida. Desde el punto de vista clínico, es fundamental conocer la edad, los antecedentes personales y familiares de cáncer de mama y ovario, así como también el tamaño tumoral, la presencia de nódulos axilares y el tiempo transcurrido desde el primer síntoma. Una vez realizada la biopsia o la cirugía, se procede al examen histopatológico que permite clasificar el tipo tumoral y establecer el grado histológico. Estas características, junto con los biomarcadores, aportan el diagnóstico y son de valor pronóstico y predictivo de respuesta terapéutica.

Los biomarcadores que se utilizan actualmente incluyen la determinación de receptores hormonales: receptores de estrógenos alfa (RE α) y de progesterona (RP), sobreexpresión del receptor de factor de crecimiento epidérmico de tipo 2 (oncogén HER2/neu; su determinación histórica interesa para seleccionar a los pacientes que van a recibir la terapia con Herceptin), y el nivel de expresión del marcador de proliferación celular Ki-67. Estos marcadores se evalúan por técnicas de inmunohistoquímica. Cuando el resultado de HER2 es dudoso, se verifica la amplificación génica mediante técnicas de hibridación *in situ*. En el caso que los tumores expresen receptores hormonales y tengan un índice de Ki-67 moderado, de manera que se dificulte la decisión sobre el beneficio de una quimioterapia, se utilizan plataformas moleculares que informan una puntuación de alto o bajo riesgo que colabora con el oncólogo en la toma de decisiones. La prueba genómica más utilizada y aceptada en la Argentina es el Oncotype DX. Este ensayo permite medir la expresión de 21 genes por amplificación génica (RT-PCR). Se evalúa la expresión de 16 oncogenes y 5 genes de referencia y a los resultados se les asigna una puntuación que permite orientar sobre el riesgo de recurrencia de la enfermedad. Si la puntuación es menor a 26 el riesgo de recurrencia sería bajo y, no se aconseja la administración de quimioterapia. Por el contrario, si el puntaje obtenido es mayor o igual a 26 se recomienda la quimioterapia.

La mayoría (70-75%) de los carcinomas mamarios expresan RE y RP, y según la clasificación molecular estos tumores se corresponden con el tipo luminal, que se subclasifican en luminales A (Lum A) o B (Lum B) de acuerdo a si tienen un bajo o alto índice de proliferación, respectivamente. Lum B, además de expresar RE y/o RP, pueden expresar HER2/neu, y por lo general expresan menores niveles de RP que los Lum A.

Los carcinomas mamarios RE⁺/RP⁻ también se incluyen en este grupo, ya que tienen peor pronóstico que los tumores RE⁺/RP⁺. Se postula que estos tumores tienen exacerbada la señalización por factores de crecimiento y se han descrito mutaciones específicas asociadas a este fenotipo. Los tumores luminales tienen mejor pronóstico que el resto de los carcinomas mamarios y son capaces de responder tanto a terapias endocrinas dirigidas a bloquear al RE (tamoxifeno o fulvestrant) como a inhibir la producción endógena de sus ligandos naturales, los estrógenos (inhibidores de aromatasa). El grupo de tumores que no expresa RE, está conformado por un subgrupo que sobreexpresa HER2/neu, y es susceptible a una terapia con anticuerpos dirigidos a bloquear dicho receptor o por tumores denominados triple negativos (TN) ya que no expresan RE, RP ni HER2 (Fig. 14).

Receptores de estrógeno y progesterona

Los estrógenos promueven la proliferación celular en tejidos mamarios normales y malignos favoreciendo la transcripción de genes, entre ellos el gen del RP y genes involucrados en el ciclo celular y la apoptosis. El bloqueo de las vías de señalización de dicho receptor es un tratamiento útil para pacientes con tumores que expresan receptores hormonales en el 1% o más de las células tumorales. Actualmente, la presencia de RE en los carcinomas mamarios se determina mediante inmunohistoquímica. Estos se consideran RE⁺ si la marca se localiza en el núcleo celular y se desestima su localización citoplasmática. Los anticuerpos que se utilizan en patología diagnóstica valoran en forma específica al RE α . Sin embargo, su detección por IHQ no permite distinguir si el receptor es funcional, está mutado, o es una isoforma de menor peso molecular que sigue manteniendo el epítipo para ser reconocido por el anticuerpo. La determinación de los RE es importante no solo porque se trata de un marcador pronóstico independiente, sino también porque es un marcador predictivo de respuesta al tratamiento. Se ha consensuado que pacientes portadores de tumores mamarios con una expresión de RE mayor o igual al 1% podrán ser tratados con una terapia endocrina. Sin embargo, un paciente con un tumor que presenta el 99% de las células RE negativo, no se espera la misma respuesta al tratamiento que aquel en el cual todas sus células expresan RE.

Receptor de Progesterona

Se ha demostrado que, en los carcinomas mamarios RE+, la cuantificación de RP tiene valor pronóstico. El subgrupo ER⁺/PR⁻ es de peor pronóstico, ya sea porque es una entidad diferente o porque implica que los RE no son funcionales, ya que uno de los efectos fisiológicos de RE es inducir la síntesis de RP. El gen de RP codifica para al menos dos proteínas principales (RPA y RPB). Dado que RPA está incluida dentro de RPB, es muy difícil tener anticuerpos que reconozcan exclusivamente a la RPA. El consenso es que en la glándula mamaria normal se expresa la misma proporción de ambas isoformas, mientras que esta proporción se ve alterada en los tumores, donde frecuentemente predomina RPA sobre RPB. Algunos autores proponen que los tumores con mayor proporción de RPA que RPB tendrían menor respuesta al tamoxifeno y, por lo tanto, peor pronóstico.

En el seguimiento del cáncer de mama se utiliza el marcador sérico CA 15-3, si bien tiene baja especificidad y sensibilidad en los estadios iniciales, se observa un aumento del 75% en estadio IV, lo que indica que no es un marcador para diagnóstico.

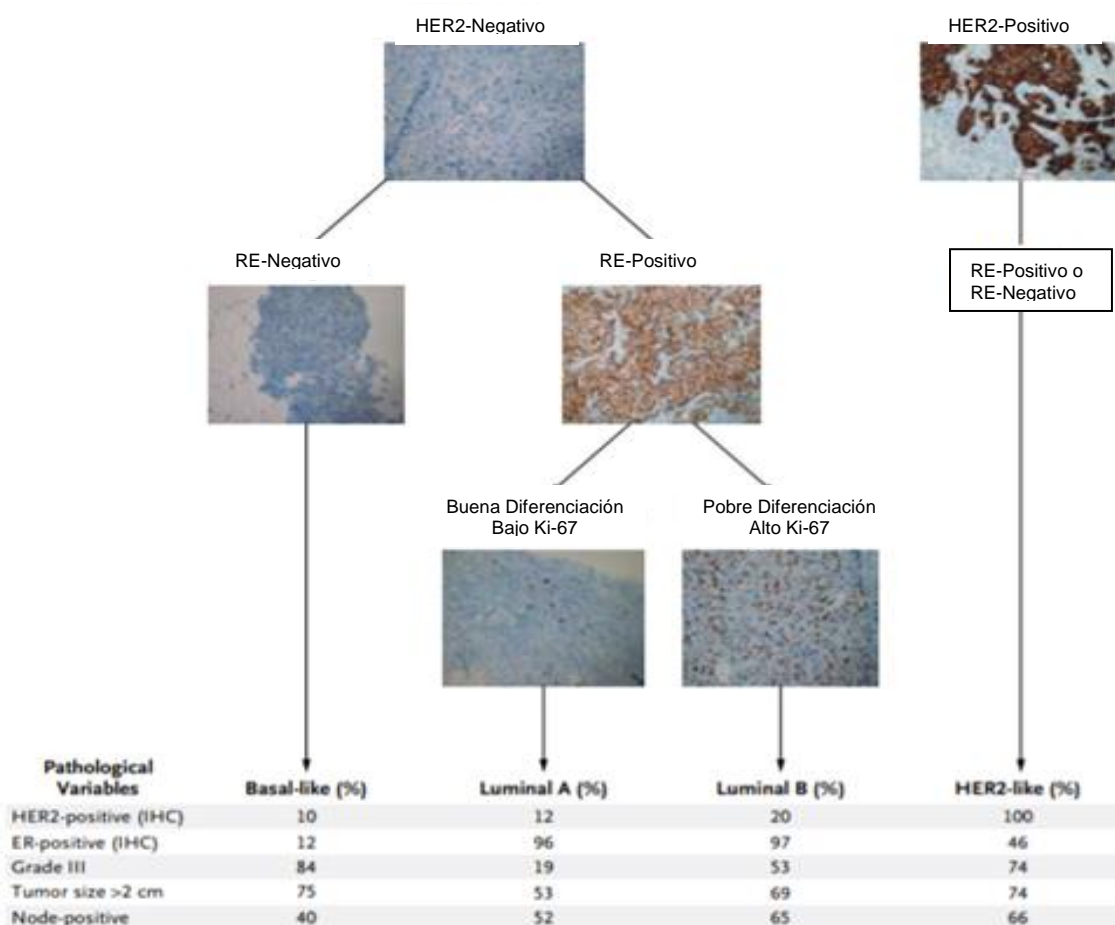


Figura 14. Correspondencia entre la clase molecular y las características clínico-patológicas del cáncer de mama. Estado de HER2/neu, determinado por análisis inmunohistoquímico (IHC) en estudios combinados. ER denota receptor de estrógeno y antígeno nuclear Ki-67 (Sotiriou C. NEJM 2009, 390: 790-800).

Receptores de andrógenos

Los andrógenos, testosterona y dihidrotestosterona (DHT), participan en el crecimiento y mantenimiento de la glándula prostática. La testosterona y la DHT ejercen sus efectos a través del receptor de andrógenos, un receptor de hormona esteroide nuclear clásico. El RA activa la transcripción de genes que contienen elementos de respuesta de andrógenos, y por lo tanto modula crecimiento y desarrollo de la próstata. Se sugiere un papel importante en el desarrollo y la progresión del cáncer de próstata, ya que la terapia con antiandrógenos si bien es transitoria, es altamente eficaz. Se han encontrado mutaciones que producen activación inapropiada del RA por estrógenos, glucocorticoides, antiandrógenos y otras moléculas que promueven el crecimiento de las células tumorales en próstata, lo que sugiere que estas mutaciones juegan un papel en la progresión del cáncer y el desarrollo de tumores resistentes.

Por otra parte, los RA no se miden de rutina en los pacientes con cáncer de mama. Se han descrito dos isoformas y una variante de splicing alternativo común que se expresa aproximadamente en el 60-70% de los carcinomas mamarios. Estudios recientes han determinado que la relación RA/RE > 2 se asocia a una peor respuesta al tratamiento con tamoxifeno y a una peor supervivencia libre de enfermedad, de modo que la medición de esta relación podría tener valor pronóstico.

CÁNCER DE MAMA Y OVARIO HEREDITARIOS

BRCA1 y BRCA2 (Genes de reparación de ADN)

Se calcula que entre el 5 y el 10% de los cánceres de mama y un 3-5 % de cánceres de ovario poseen un componente hereditario asociado a mutaciones en los genes supresores de tumores BRCA1 y BRCA2 (Tabla 7). Las mutaciones en estos genes se caracterizan por tener herencia autosómica dominante, alta penetrancia y baja frecuencia. Los genes BRCA1 y BRCA2 son de gran tamaño y se localizan en los cromosomas 17 y 13, respectivamente. BRCA1 ayuda a mantener la estabilidad genómica, en parte por una intervención directa en la reparación del ADN. BRCA2 participa en la progresión del ciclo celular, así como en la reparación del ADN mediante recombinación homóloga. Hay una gran variedad de mutaciones, tanto en su localización como en su tipo, descritas para ambos genes. Alrededor del 90% las mutaciones son con cambio, sin sentido o afectan el sitio de empalme y causan la generación de un producto aberrante, interrumpido por un codón de terminación prematuro, que determina la presencia de una proteína truncada.

Tabla 7. Predisposición genética en el cáncer de mama: BRCA1 and BRCA2

Tipo de cáncer	Riesgo población general	Portadora del BRCA1	Portadora del BRCA2
Mama en mujeres	11%	50-85%	50-85%
Ovario	1-2%	Hasta 50%	15-20%
Mama en hombres	0.1%	1%	6%

(<https://www.scielosp.org/article/spm/2011.v53n5/420-429/es/>)

La capacidad de detectar mutaciones en BRCA1 y BRCA2 en la línea germinal permite la identificación de individuos en familias con cáncer de mama que portan el gen mutado.

Oncoproteínas nucleares

Las proteínas nucleares participan en la regulación del crecimiento y la división celular.

Antígeno del carcinoma de células escamosas (SCC)

SCC (48 kDa) es una glucoproteína sintetizada por los tejidos escamosos de la familia de las serpinas, esto es, inhibidora de serina-proteasas. Se emplea como marcador en el estudio de cáncer de células escamosas como el de laringe, pulmón, cabeza y cuello, esófago y, principalmente el de cuello uterino. Una concentración superior a 2,5 ng/mL se asocia con tumor invasivo y con peor pronóstico. También se emplea en el seguimiento de la enfermedad y en la detección de recurrencia tumoral. Sin embargo, hay que tener en cuenta que su concentración está aumentada (>10 ng /L) en enfermedades ginecológicas y dermatológicas benignas, como pénfigo, y en la insuficiencia renal.

Principales marcadores tumorales plasmáticos usados en la clínica

MT	Vida Media	Valor de Referencia	Indicación	Falsos Positivos
AFP	6-8 días	< 8,6 ng/mL	Tumores testiculares no seminomatosos. Hepatocarcinoma.	Hepatopatías, tirosinemia, cirrosis, hepatitis.
CA 15-3	-	< 30 U/mL	Ca. Mama	Ca. Ovario, páncreas, pulmón y colorectal. Hepatopatías
CA 19-9	5-6 días	< 35 U/mL	Ca. Páncreas	T del TGI, Ca. Ovario mucinoso
CA 125	4-5 días	< 35 U/mL	Ca. Ovario seroso	Endometriosis, Derrames serosos ascitis
CEA	12-15 días	< 5,0 ng/mL	Ca. Colorectal	Ca. Mama-pulmón-ovario. Colitis ulcerosa, hepatopatías, Insuficiencia renal. Fumadores
CYFRA 21-1	-	< 3,3 ng/mL	Ca. Pulmón	T. epiteliales Hepatopatías
PSA	2-3 días	< 4,0 ng/mL	Ca. Próstata	Hiperplasia benigna de póstata. Prostatitis

AFP: a-fetoproteína; CEA: antígeno caroinoembrionario; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; hCG: gonadotropina coriónica humana; MIA: actividad inhibidora del melanoma; NSE: enolasa específica; PSA: antígeno prostático específico; SCC: antígeno asociado con los carcinomas de células escamosas; TPA: antígeno polipeptídico tisular; TPS: antígeno polipeptídico específico tisular.

RESOLUCIÓN DE CASOS CLÍNICOS

1- Una mujer de 72 años de edad informa diarrea intermitente y estreñimiento en las dos últimas semanas, así como pérdida de peso de 10 kg en los seis meses anteriores. El examen físico resulta irrelevante, excepto por heces positivo con guayaco. Se realizó colonoscopia, en la que se descubrió una masa circunferencial en el colon sigmoideo. En la biopsia se identificó la masa como un adenocarcinoma. Se obtuvo un nivel de antígeno CEA como parte del trabajo quirúrgico inicial.

1. ¿La prueba de CEA es útil como examen de valoración de carcinoma del colon?
2. ¿Qué otros trastornos llegan a ocasionar niveles elevados de CEA?
3. ¿Cómo se utiliza el CEA para monitorear pacientes después de cirugía de cáncer de colon?
4. ¿Qué otras pruebas de laboratorio se deben considerar en el trabajo quirúrgico inicial del paciente?

2- Un hombre caucásico de 69 años de edad se presentó en la clínica médica con molestias por aumento de la micción y dificultad en la misma. En el interrogatorio adicional se reveló la necesidad de orinar varias veces por la noche. Aunque ha padecido el problema por cierto tiempo, se agravó en fecha reciente. Se obtuvo un antígeno sérico específico de la próstata (PSA), y se realizó examen rectal digital. La concentración de PSA se elevó a 15 ng/ml (rango de referencia, <4 ng/ml), y en el examen digital se mostró agrandamiento de la próstata sin nodulos palpables.

1. ¿Es posible utilizar sólo el PSA como prueba de valoración para cáncer de próstata?
2. ¿Cuáles son algunas causas de la elevación del PSA sérico?
3. Si el cáncer de este paciente se limita a la próstata, ¿es necesario monitorear los valores de PSA después de la prostatectomía o la terapia de radiación, o ambas?
4. ¿Qué otras pruebas de laboratorio hay que realizar en el trabajo inicial de este paciente?

3- En un hombre de 25 años de edad se encontró un valor de LDH 350 UI/L (VR: 93 a 139 UI/L), lo que se confirmó con una segunda muestra. La electroforesis de LDH, reveló aumento de la isoenzima LDH-1. Los estudios del electrocardiograma fueron negativos para infarto agudo al miocardio. En la electroforesis de la creatinina cinasa (CK) sólo se mostró una banda de CK-MM. En el examen físico, se palpó una masa tumoral en el escroto izquierdo. Se solicitaron pruebas de AFP y (β-hCG).

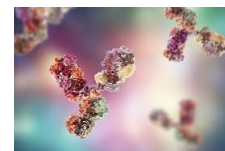
1. ¿Cuál es el diagnóstico primario más probable para este paciente?

2. ¿Qué tipo de enfermedades benignas deben considerarse en el diagnóstico diferencial? ¿Por qué?
3. ¿Es posible determinar el tipo de tumor testicular en base a los datos de AFP y β -hCG séricas?
4. ¿Es posible establecer un diagnóstico final con base sólo en los hallazgos del marcador tumoral? De no ser así, ¿cuál es la razón?

BIBLIOGRAFÍA

- Burtis, C., Ashwood, E., Bruns, D. (2015). Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics (7th Ed). Madrid, España: Elsevier.
- Melmed, S., Polonsky, K.S., Larsen P.R., Kronenberg H.M. (2017). Williams. Tratado de Endocrinología (13th Ed). Madrid, España: Elsevier.
- Larry Jameson, J.L. (2017). Harrison's Endocrinology (4th Ed). Madrid, España: McGraw-Hill Education.
- Lamb, C., Vanzulli, S., C Lanari. (2019). Receptores hormonales en cáncer de mama: receptores de estrógenos y algo más. *Medicine* 79 (61), 20-24.
- Grossman S., Mattson, C. (2014). Porth Fisiopatología. Alteraciones de la Salud (9° Ed). Madrid, España: WK.
- Henry, J.B. (2010). El laboratorio en el diagnóstico clínico (20° Ed). México: Marbán.
- Pérez-Cabeza de Vaca, R. (2017). Molecular biology of cancer and new tools in oncology. *Rev Esp Méd Quir.* 22, 171-181.
- Hernández A., G. (2015). Principios de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. (2° Ed). Madrid, España: Elsevier.

INMUNO-REUMATOLOGÍA Y ENFERMEDADES AUTOINMUNES



OBJETIVOS

- Conocer las características clínicas y de laboratorio de las principales enfermedades autoinmunes sistémicas.
- Evaluar las metodologías disponibles y su aplicación en las diferentes patologías autoinmunes.
- Integrar los resultados de laboratorio mediante la resolución de casos clínicos.

AUTOINMUNIDAD Y ENFERMEDADES AUTOINMUNES

El sistema inmune genera un repertorio inicial de linfocitos (L) con el potencial de reconocer la mayoría de los antígenos (Ag) presentes en la naturaleza. Sin embargo, los LT y LB no discriminan entre Ag propios y extraños, lo que se traduce en un riesgo potencial de autoinmunidad. Por ello, el sistema inmune ha desarrollado una serie de mecanismos celulares y moleculares que previenen las reacciones inmunes contra autoAg y que se denominan en su conjunto **tolerancia inmunológica** (tolerancia central, periférica y anergia clonal). Estos procesos de control pueden ser ejercidos sobre LT (Fig. 1) y LB. La pérdida de la autotolerancia es el resultado de una selección o regulación anormal de L autorreactivos o alteraciones en la forma en que se presentan los Ag propios al sistema inmunitario.

La autoinmunidad se debe a fallas en los procesos que normalmente mantienen la autotolerancia, en tanto que la **enfermedad autoinmune** (EAI) representa la lesión tisular y la alteración funcional de la homeostasis fisiológica debido a respuestas autoinmunes persistentes. Así, mientras la autoinmunidad es un fenómeno fisiológico, la EAI es un síndrome clínico causado por la pérdida de la tolerancia inmune, caracterizado por la activación de LT, LB o ambos, que conduce a daño tisular (patología) en ausencia de causa evidente. La prevalencia estimada de las EAI en la población general es del 3-5%, siendo más frecuentes en mujeres. Su etiología permanece incierta, pero se postula que estas enfermedades son multicausales, interviniendo en su etiopatogenia factores genéticos que sinergizan con acontecimientos ambientales (infecciones, drogas, estrés, etc.).

Por lo general, el inicio de una respuesta autoinmune y la aparición de los síntomas clínicos se separan en el tiempo. La distribución órgano específico y ubicua de los autoAg determina la extensión órgano específica o sistémica de la enfermedad.

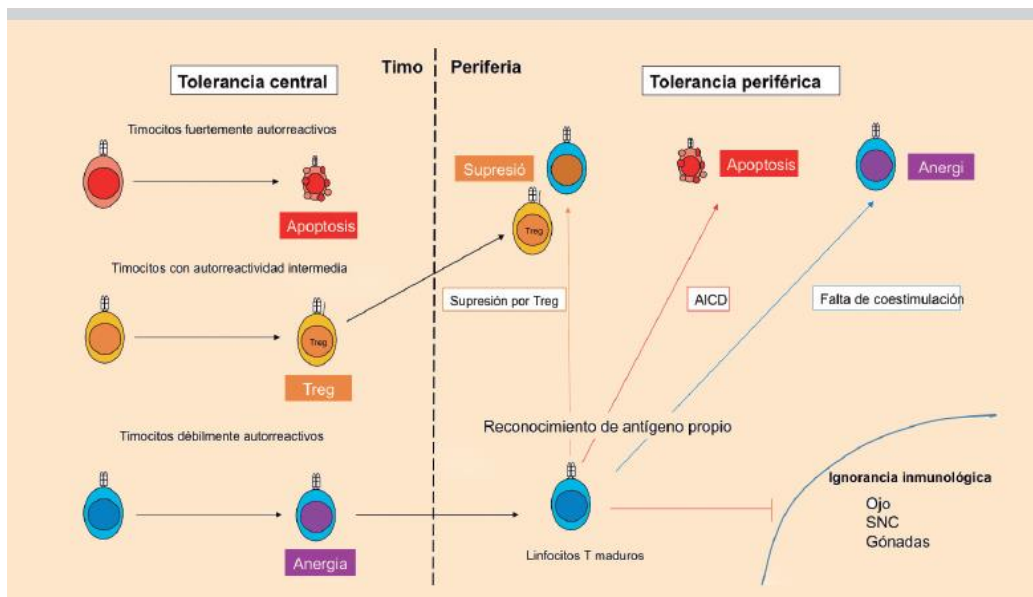


Figura 1. Tolerancia central y periférica de los linfocitos T (LT). Durante el desarrollo en el timo, los LT inmaduros (timocitos) con una elevada afinidad por complejos MHC/péptido-propio son eliminados por apoptosis (rojo). Los timocitos con una baja afinidad por los complejos MHC/péptido-propio son seleccionados positivamente y se convierten en LT maduros (azul). Algunos L autorreactivos con una afinidad intermedia por estos complejos se diferencian hacia el linaje de células T reguladoras (Treg) (naranja). En periferia, los LT autorreactivos pueden ser inactivados (anergia en azul) o eliminados (apoptosis en rojo) tras el encuentro con antígenos propios. También pueden ser suprimidos por las Treg. Además, estos LT autorreactivos son excluidos de determinados tejidos como el ojo, el sistema nervioso central (SNC) y las gónadas (tejidos con privilegio inmunológico). *Medicine* 2017; 12(24):1418-27.

Las EAI órgano-específicas involucran a un tejido en particular, y con frecuencia son de carácter endocrino, dermatológico o hematológico (Fig.2). Los blancos antigénicos son moléculas expresadas en la superficie celular (Ej: receptores hormonales) o moléculas intracelulares. Las células de los órganos blancos pueden ser dañadas de manera directa por mecanismos efectores humorales o mediados por células. De modo alternativo, los autoanticuerpos (autoAc) pueden sobreestimar la función normal del órgano blanco o bloquearla. Las enfermedades no órgano-específicas o EAI sistémicas se caracterizan por la afección de múltiples órganos o tejidos en forma aditiva, sucesiva o simultánea. Están asociadas con una respuesta autoinmune dirigida contra Ag ampliamente distribuidos en el organismo, y particularmente contra moléculas intracelulares involucradas en la transcripción génica. El daño tisular es provocado tanto por respuestas inmunitarias mediadas por células como por acción directa de autoAc o por acumulación de inmunocomplejos.

Entre las EAI sistémicas se encuentran los **trastornos reumáticos** que afectan el tejido conectivo y el sistema osteomioarticular (Tabla 1). En este grupo destacan el Lupus eritematoso sistémico (LES), la Artritis reumatoide (AR), la Esclerosis Sistémica (ES), el Síndrome de Sjogren (SJ), la Dermatomiositis (DM) y la Polimiositis (PM), entre otras.

La denominación de EAI sistémicas tiende a reemplazar el término colagenopatías (conectivopatías, mesenquimopatías o enfermedades de tejido conectivo), remarcando con esta designación su perfil de injuria orgánica más allá del daño colágeno-articular.

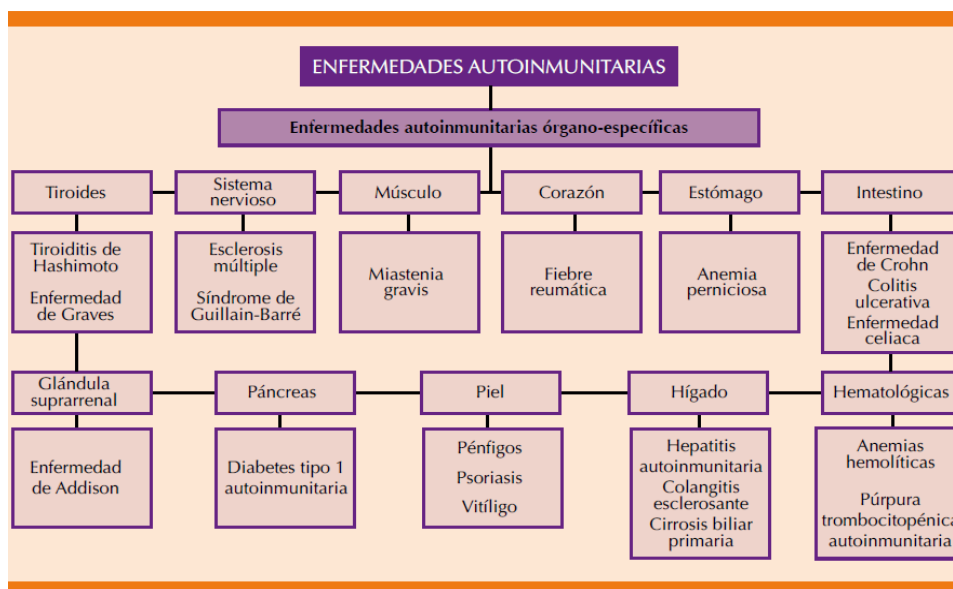


Figura 2. Enfermedades autoinmunes órgano-específicas. Med Int Méx 2018; 34:522-35.

La mayoría de las EAI sistémicas se caracterizan por la producción de autoAc, los cuales tienen distinta sensibilidad y especificidad en las diversas enfermedades. Exámenes inmunológicos complementarios como la determinación del complemento (C3, C4, CH50), crioglobulinas, proteinograma electroforético o cuantificación de inmunoglobulinas ayudan a la identificación de fenómenos asociados a ellos.

Tabla 1. Enfermedades que comprenden el estudio de la reumatología (ISBN: 978-9942-24-121-4)

Grupo	Enfermedades
Enfermedades del tejido conectivo	- Artritis reumatoide - Artritis idiopática juvenil - Enfermedad de Still del adulto - Lupus eritematoso sistémico - Síndrome antifosfolípido - Síndrome de Sjögren - Esclerodermia - Enfermedades mixta del tejido conectivo - Síndromes de solapamiento - Dermatomiositis, polimiositis - Vasculitis
Espondiloartritis	- Espondilitis anquilosante - Espondiloartritis axial no radiográfica - Artritis psoriásica - Artritis reactiva - Artritis asociada a enfermedad inflamatoria intestinal - Espondiloartritis indiferenciada
Infección osteoarticular	- Artritis infecciosa - Espondilitis infecciosa - Osteomielitis
Artritis por microcristales	- Gota - Pseudogota
Enfermedades óseas	- Osteoporosis - Osteomalacia - Enfermedad de Paget - Osteonecrosis - Tumores
Fibromialgia	
Otras enfermedades	- Síndrome SAPHO - Artropatía neuropática - Reumatismo palindrómico - Osteoartropatía hipertrofiante - Sinovitis vellosinodular pigmentada - Hiperostosis anquilosante vertebral

Alteraciones analíticas relacionadas a inflamación como el aumento de reactantes de fase aguda [velocidad de sedimentación globular (VSG), proteína C reactiva (PCR)], leucopenia y/o linfopenia, anemia, trombocitopenia, alteración de la función renal y/o del sedimento urinario, así como de la función hepática y muscular también son frecuentes. Por ello, el laboratorio es indispensable para el diagnóstico, estimación pronóstica y monitoreo del tratamiento, aunque los resultados deben ser siempre interpretados en contexto clínico del paciente (anamnesis, exploración física, imágenes, etc.).

Artritis Reumatoidea

La artritis reumatoidea (AR) es la EAI más frecuente, con una prevalencia global de 0,24 a 1%, que afecta a mujeres (relación 3:1) y se manifiesta por un reumatismo inflamatorio periférico. Comienza muchos años antes del inicio de los síntomas clínicos y se caracteriza por inflamación crónica y simétrica de pequeñas y grandes articulaciones, con posible afectación sistémica (vasculitis, glomerulonefritis, pericarditis, pleuritis, entre otras) en cualquier momento de su evolución. La instauración temprana de un tratamiento adecuado mejora el desenlace de la enfermedad, lo cual hace imprescindible su diagnóstico precoz.

Los factores de riesgo genéticos más relevantes son el epítipo compartido de la cadena β de la molécula HLA-DR; en particular algunos subtipos de HLADRB1*01, *04 y *10. También se asocia a AR el polimorfismo de un solo nucleótido del gen PTPN22 que codifica la tirosin-fosfatasa Lyp de los linfocitos. Entre los factores de riesgo ambientales, el tabaquismo y las infecciones contribuirían al desarrollo de AR.

La determinación de Ac dirigidos contra péptidos citrulinados (ACPA, *anti-citrullinated peptide antibodies*) constituye una herramienta diagnóstica en AR, especialmente en cuadros de presentación temprana. La citrulinación es el resultado de la modificación postraduccional de arginina, catalizada por la enzima peptidilarginina desiminasa (PAD) (Fig. 3). Los autoAg que muestran mayor especificidad para AR son el fibrinógeno, la vimentina, el colágeno tipo II y la α -enolasa citrulinadas.

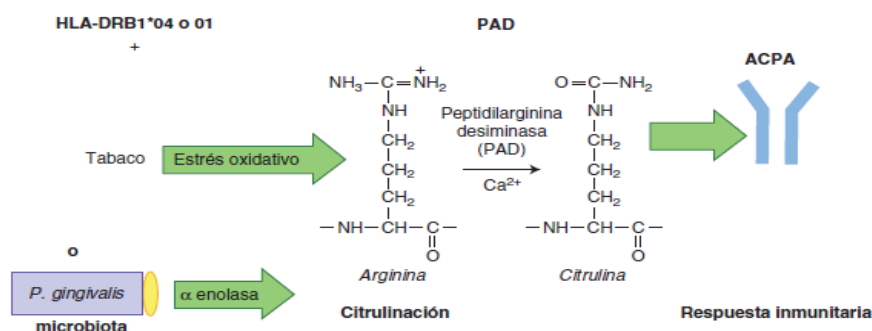


Figura 3. Citrulinación y formación de anticuerpos antipéptidos citrulinados (ACPA). Factores ambientales (tabaco, infecciones) activan la peptidilarginina desiminasa (PAD) que transforma los péptidos nativos en péptidos citrulinados. La predisposición genética podría facilitar el reconocimiento de los péptidos citrulinados y la producción de ACPA. HLA: antígeno leucocítico humano.

Si bien la citrulinación es un evento fisiológico asociado a la muerte celular programada, en la AR la autotolerancia estaría afectada por la susceptibilidad genética y/o por la patogénesis de la enfermedad, lo que ocasiona el reconocimiento de neoantígenos con la consecuente formación de ACPA, los cuales median los procesos inflamatorios de la AR (Fig. 4).

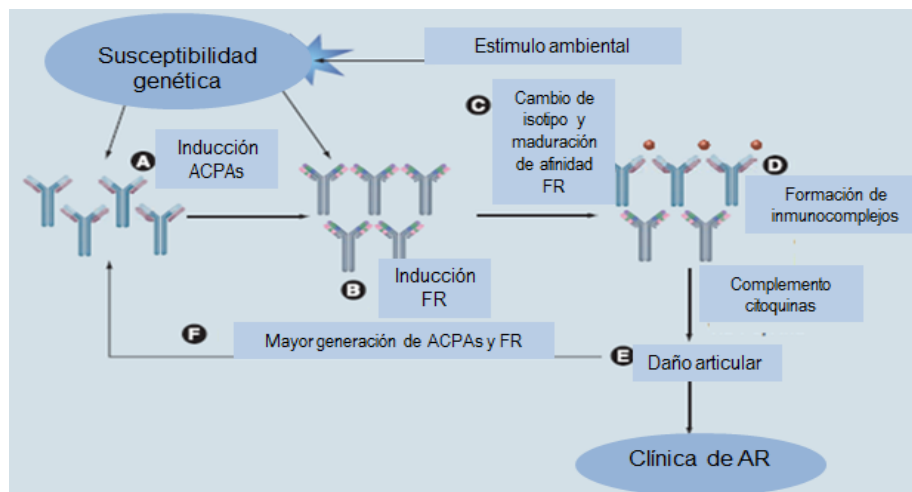


Figura 4. Desarrollo de AR; (A) Los ACPA se inducen en individuos genéticamente susceptibles en respuesta a citrulinación de proteínas causada por estímulos ambientales (B). El FR pueden ser inducido por inmunocomplejos (IC) que contienen ACPA (pacientes ACPA y FR positivo) o por otros inductores (ACPA negativos y FR positivo) (C). Los LB productores de FR sufren cambio de isotipo e hipermutación somática por exposición crónica a IC (D). Los IC cuya formación se facilita en presencia de FR, se forman dentro de las articulaciones donde ACPA y FR se producen localmente. Los que se forman por fuera de las articulaciones pueden quedar atrapados en su interior (E). El daño articular comienza con el depósito de IC, fijación del complemento y liberación de citoquinas (F). La citrulinación de proteínas como resultado del daño articular impulsa la producción de ACPA y consecuentemente de FR. Esto provoca un círculo vicioso entre el daño articular y producción de autoanticuerpos. La AR se diagnostica cuando la inflamación de las articulaciones produce síntomas clínicos. ACPA: Anticuerpos antipéptidos citrulinados; AR: artritis reumatoide; FR: factor reumatoide (Int. J. Clin. Rheumatol 2010; 5: 654-8).

En 2010 se impulsó una colaboración ACR-EULAR (*American College of Rheumatology/ European League Against Rheumatism*), estableciendo nuevos criterios que permitieron identificar, entre pacientes con sinovitis inflamatoria indiferenciada, los que poseen alto riesgo de enfermedad persistente y/o erosiva (Tabla 2, Fig. 5). El factor reumatoideo (FR) y los ACPA forman parte de dichos criterios clasificatorios. La especificidad para el diagnóstico de AR es del 95% para los ACPA y del 85% para el FR, mientras que su sensibilidad es del 60-75 % y 65-80 %, respectivamente. Los ACPA parecen definir un fenotipo de AR caracterizado por una mayor actividad de la enfermedad y un curso más rápido de destrucción articular, por lo tanto, daño radiológico más severo, discapacidad funcional y una enfermedad que probablemente será beneficiada con terapias en etapas muy tempranas, en comparación con pacientes ACPA (-).

Tabla 2. Criterios de 2010 del American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism para la clasificación de AR. SEQC (2012), (Ed Cont Lab Clín; 16: 70-81).

	Puntuación
La población diana corresponde a pacientes que presentan al menos una articulación con sinovitis, que no puede ser explicada por otra enfermedad.	
Criterios para la clasificación de la AR (basado en un algoritmo de puntuación que se obtiene de la suma de las categorías A-D; una puntuación $\geq 6/10$ es necesaria para confirmar la AR).	
A. Articulaciones afectadas	
1 articulación grande	0
2-10 articulaciones grandes ¹	1
1-3 articulaciones pequeñas ² (con o sin afectación de articulaciones grandes)	2
4-10 articulaciones pequeñas (con o sin afectación de articulaciones grandes)	3
>10 articulaciones (al menos 1 articulación pequeña ³)	5
B. Serología (es necesario al menos 1 resultado para esta clasificación)	
Factor reumatoide negativo y ACPA negativo	0
Factor reumatoide positivo o ACPA positivo	2
Factor reumatoide positivo fuerte o ACPA positivo fuerte ⁴	3
C. Reactantes de fase aguda (es necesario al menos 1 resultado para esta clasificación)	
Proteína C reactiva normal y velocidad de sedimentación globular normal	0
Proteína C reactiva anormal y velocidad de sedimentación globular anormal ⁵	1
D. Duración de los síntomas	
< 6 semanas	0
≥ 6 semanas	1
Los pacientes con una puntuación <6/10, que no han podido confirmar su AR, deben de ser reevaluados en el tiempo, ya que podrían cumplir los criterios en el futuro.	

¹Articulaciones grandes: hombros, codos, caderas, rodillas y tobillos. ²Articulaciones pequeñas: metacarpofalángicas, interfalángicas proximales, 2°-5° articulación metatarsfalángicas, interfalángicas del pulgar y muñecas. ³Puede incluir otras articulaciones (temporomandibular, acromioclavicular, esternoclavicular, etc.). ⁴Negativo: resultado \leq al límite superior del valor de referencia (LSVR) del laboratorio; Positivo: resultado ≤ 3 veces el LSVR; Positivo fuerte: valor ≥ 3 veces el LSVR. Cuando el FR sea cualitativo, un positivo puntuará como 2. ⁵Determinado por los estándares de cada laboratorio.

La VSG y la PCR, son útiles en el seguimiento de la actividad de la enfermedad. Si bien se trata de marcadores inespecíficos, permiten distinguir entre enfermedades inflamatorias como la AR de los trastornos no inflamatorios que cursan con síntomas músculo-esqueléticos, como artrosis o fibromialgia. Otras pruebas complementarias de laboratorio incluyen:

- Complemento: puede encontrarse descendido, especialmente en casos de vasculitis.
- Anemia: característica de las enfermedades crónicas (normocítica-normocrómica).
- Trombocitosis: las plaquetas son reactantes de fase aguda, y sus niveles se elevan en una variedad de condiciones inflamatorias.
- Leucocitosis: puede ser manifestación de la AR activa, pero infecciones o el tratamiento con glucocorticoides también pueden ser responsables de este hallazgo.
- Hipoalbuminemia: por un aumento del catabolismo de albúmina.
- Proteinograma: elevaciones de las fracciones alfa-2 y gammaglobulinas (carácter policlonal).
- Líquido sinovial (artrocentesis): no es útil para el diagnóstico de AR, pero sí para descartar otros procesos como artritis infecciosa o artritis por microcristales. Es un líquido de

características inflamatorias, de color amarillento, ligeramente turbio, poco viscoso y con escasa filancia, con predominio de células polimorfonucleares.

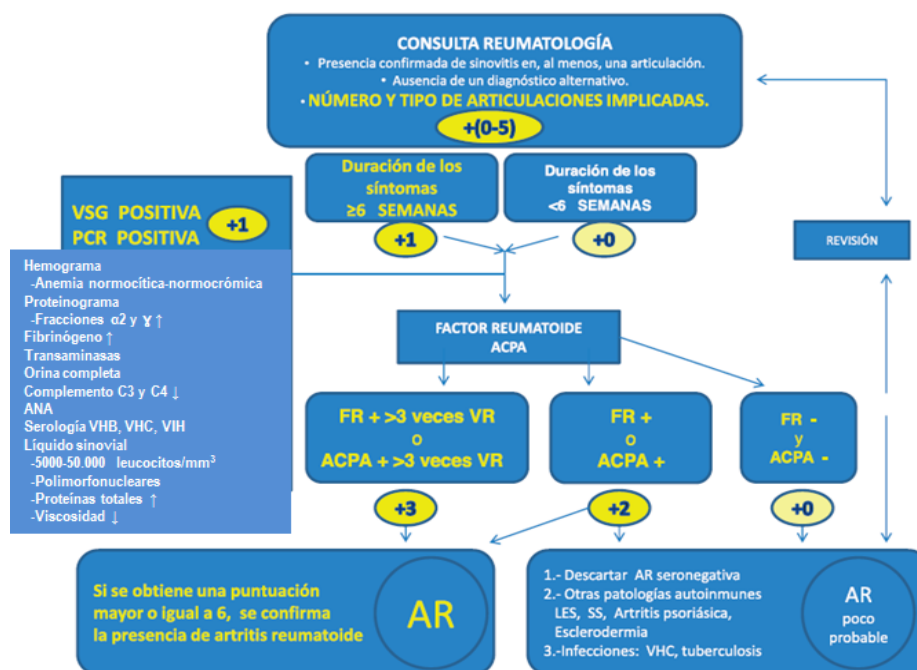


Figura 5. Algoritmo diagnóstico de AR utilizando los criterios ACR-EULAR 2010, en el que se representa la importancia de las pruebas bioquímicas. En amarillo se muestran los criterios considerados, y dentro de los círculos la puntuación asignada en cada caso (Ed Cont Lab Clín 2012; 16: 70-81).

Lupus eritematoso sistémico

El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune crónica, con una variabilidad de manifestaciones clínicas que abarcan desde síntomas mucocutáneos y articulares leves hasta afecciones potencialmente mortales. Se caracteriza por un curso clínico con periodos de actividad y remisión y por la presencia de autoAc. Aunque afecta principalmente a mujeres en edad fértil (con una relación mujer: hombre 9:1), también está presente en la infancia y en hombres.

En la etiopatogenia del LES interaccionan factores genéticos, hormonales y ambientales, que promueven la activación policlonal de LB, síntesis de autoAc, formación de complejos inmunes, depósito y producción de daño a nivel tisular. Los blancos antigénicos son ácidos nucleicos y proteínas nucleares, posiblemente procedentes de restos celulares. La disminución de la depuración de células apoptóticas favorecería una mayor exposición de Ags al sistema inmune. Con frecuencia se detectan factores desencadenantes, como la exposición a luz ultravioleta, estrés, infecciones o fármacos (quinidina, procainamida, hidralazina., etc.) (Fig. 6).

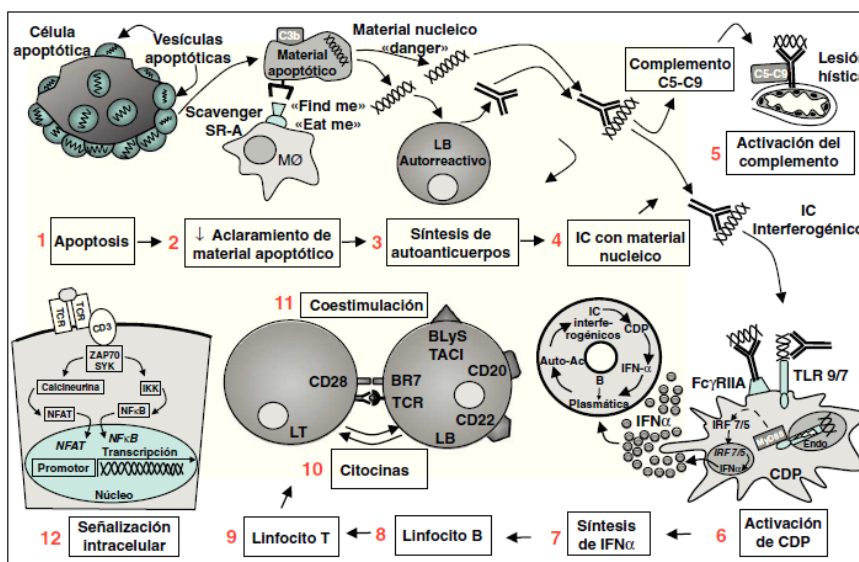


Figura 6. Patogénesis del Lupus. La célula apoptótica expone en su superficie vesículas apoptóticas conteniendo Ag nucleares (1); por un deficiente aclaramiento por el sistema mononuclearfagocítico, las vesículas se acumulan (2) y contactan con LB autorreactivos, los cuales sintetizan autoanticuerpos (3); los IC formados por esos anticuerpos y sus respectivos Ag nucleares (4) tienen capacidad para activar el complemento y conducir a lesiones tisulares (5) y para activar a las CDP (6); las CDP responden con la producción de IFN α por vías dependientes de TLR7 y TLR9 (7); IFN α posee efectos sobre el sistema inmunitario que favorecen el desarrollo de autoinmunidad: diferenciación de LB a células plasmáticas, activación de LT y maduración de las células dendríticas. Se establece un círculo reverberante que intensifica y perpetúa el proceso autoinmunitario. Otras dianas terapéuticas: LB (8), LT (9), citoquinas (10), moléculas de coestimulación (11) y vías de señalización intracelular (12). Ag: antígeno; CDP: células dendríticas plasmocitoides; IC: inmunocomplejos; IFN: interferón; LB: linfocito B; MØ: macrófago; TCR: receptor de células T; TLR: toll-like receptor.

Los síntomas del LES se pueden clasificar en generales (fiebre, cansancio, anorexia y pérdida de peso) y específicos, cuando aparecen los brotes de la enfermedad lúpica. Las principales manifestaciones asociadas al LES son:

- Cutáneas: rash malar en “alas de mariposa”, rash maculopapular, alopecia, fenómeno de Raynaud, eritema multiforme.
- Musculo-esqueléticas: mialgias, artralgias, artritis (normalmente no erosiva).
- Hematológicas: anemia normocítica-normocrómica, leucopenia y/o linfopenia, anemia hemolítica, trombocitopenia, síndrome antifosfolípido.
- Cardiopulmonares: pleuritis y derrame pleural, neumonitis lúpica, pericarditis.
- Renales: nefritis con edema, proteinuria, hematuria, presencia de cilindros en orina.
- Gastrointestinales: náuseas, diarrea, vómitos, vasculitis intestinal.
- Oculares: conjuntivitis, epiescleritis, síndrome seco, uveítis.
- Sistema nervioso: disfunción cognitiva, migraña.

En 2019 se publicaron los nuevos criterios de clasificación desarrollados conjuntamente por ACR-EULAR. De acuerdo con estos criterios, el punto de partida para poder clasificar a un paciente con LES es la presencia de anticuerpos antinucleares (ANA, «*anti-nuclear antibodies*») positivos a título $\geq 1/80$ en al menos una ocasión (criterio obligatorio), realizado por inmunofluorescencia indirecta (IFI) empleando células HEp-2 como sustrato (Fig. 6), a lo que se añaden 7 dominios clínicos y 3 inmunológicos (Tabla 3).

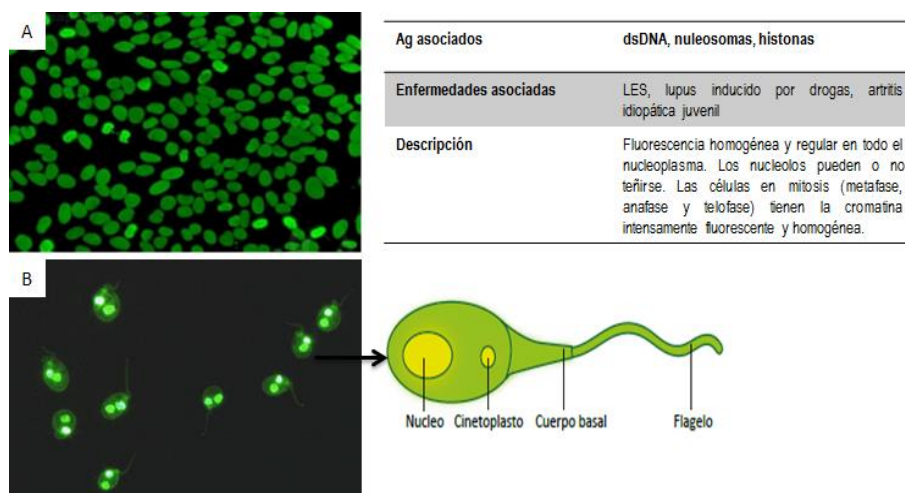


Figura 6. A) Inmunofluorescencia indirecta (IFI) en sustrato de células HEp-2: patrón nuclear homogéneo B) IFI sobre *Crithidia luciliae*, un protozoo hemoflagelado que presenta un cinetoplasto con alta concentración de ADN nativo. Positivo para Ac anti-dsDNA: fluorescencia del cinetoplasto. Este hallazgo es específico de LES y se detecta en un 60-80% de los pacientes.

No se recomienda el cribado serológico en la población general asintomática para el diagnóstico precoz; los ANA son muy sensibles (98%) en pacientes con LES, pero poseen una baja especificidad (57%). Además, aparecen a títulos bajos en enfermedades no autoinmunes y en ausencia de enfermedad detectable, aumentando su frecuencia con la edad. En personas con síntomas o signos sugestivos de LES y prueba de ANA positiva, se realizará la confirmación diagnóstica mediante la detección de autoAc específicos como Ac anti-DNA de doble cadena o nativo (dsDNA, «*double-stranded DNA*») por IFI (sustrato: *Crithidia luciliae*) (Fig. 6) y los Ac anti-antígenos nucleares extraíbles (ENA, «*extractable nuclear antigen*»), principalmente los Ac anti-Sm. Entre las pruebas complementarias se incluye: hemograma, complemento, prueba de Coombs, anticoagulante lúpico, función renal y sedimento urinario. En la Tabla 4 se muestran parámetros serológicos relevantes de LES y su traducción clínica.

Tabla 3. Nuevos criterios de clasificación EULAR/ACR de lupus eritematoso sistémico.

Criterio de entrada Anticuerpos antinucleares positivos $\geq 1/80$ por inmunofluorescencia indirecta mediante sustrato de la línea celular HEp-2 (en cualquier momento)	
Dominios clínicos	Puntos
<i>Constitucional</i>	2
Fiebre	
<i>Cutáneo</i>	
Alopecia no cicatricial	2
Aftas orales	2
Lupus cutáneo subagudo o lupus discoide	4
Lupus cutáneo agudo	6
<i>Articular</i>	
Sinovitis o dolor en ≥ 2 articulaciones con rigidez articular matutina > 30 min	6
<i>Neurológico</i>	
Delirium	2
Psicosis	3
Convulsiones	5
<i>Serositis</i>	
Derrame pleural o pericárdico	5
Pericarditis aguda	6
<i>Hematológico</i>	
Leucopenia	3
Trombocitopenia	4
Hemólisis autoinmunitaria	4
<i>Renal</i>	
Proteinuria $> 0,5$ mg/24 h	4
Nefritis lúpica clase II o V	8
Nefritis lúpica clase III o IV	10
Dominios inmunológicos	Puntos
<i>Anticuerpos antifosfolípidos</i>	
Anticardiolipina a títulos medios o altos o anti- $\beta 2$ glucoproteína 1 o anticoagulante lúpico positivo	2
<i>Complemento</i>	
C3 bajo o C4 bajo	3
C3 bajo y C4 bajo	4
<i>Anticuerpos</i>	
Anti-ADNn	6
Anti-Sm	6

Para clasificar a un paciente de LES se requiere al menos un criterio clínico y una puntuación ≥ 10 . La existencia de un criterio o manifestación clínica en al menos una ocasión durante la evolución clínica es suficiente para puntuar. Los criterios no tienen por qué ser simultáneos. Dentro de cada dominio, solo se cuenta el criterio de mayor ponderación para la puntuación total. (DOI: 10.1016/j.medcli.2020.05.009).

Tabla 4. Parámetros serológicos de LES y su asociación clínica (<https://www.nefrologiaaldia.org/263>).

Tipo de Ac	Prevalencia	Asociación clínica
Ac anti-dsDNA	70-80%	Afectación renal y cutánea Específico de LES
Ac anti-histona	70%	LES inducido por fármacos
Ac anti-Smith (Sm)	10-30%	Muy específico de LES Afectación renal
Ac anti-RNP	25-30%	Enfermedad mixta del tejido conectivo Esclerodermia
Ac anti-Ro (SSA)	30-40%	Afectación renal y cutánea Lupus neonatal Síndrome de Sjögren
Ac anti-La (SSB)	15-20%	Lupus neonatal Síndrome de Sjögren
Ac anti-fosfolípido, Ac anti cardiolipina, β_2 -glicoproteína, Anticoagulante lúpico	20-30%	Trombosis Pre-eclampsia Abortos espontáneos Microangiopatía trombótica
Descenso de C ₃ , C ₄ , CH ₅₀	Variable	Actividad LES

Ac: anticuerpos.

En el protocolo de seguimiento del LES se sugiere monitorizar la actividad de la enfermedad, el daño orgánico y la toxicidad del tratamiento farmacológico si se produjera. Los títulos de Ac anti-dsDNA correlacionan con la actividad clínica, aunque deben ser considerados individualmente ya que hay pacientes que mantienen títulos bajos/moderados en períodos de remisión. No se recomienda la determinación repetida de ANA, ENA ni anticuerpos antifosfolípidos (AAF).

Estudio y seguimiento de la Nefritis lúpica

La afectación renal sucede en el 60% de los pacientes. La nefritis lúpica (NL) se produce tras el depósito de complejos inmunes, formados localmente o depositados desde la circulación, lo que ocasiona inflamación del ovillo glomerular. Estos inmunocomplejos contienen varios Ag (DNA, histonas y restos nucleares y componentes de la membrana basal glomerular). Al inicio se localizan en el espacio subendotelial y mesangial y posteriormente en el área subepitelial de la membrana basal glomerular. Provocan la activación del complemento y de los mecanismos clásicos de inflamación, evolucionando a fibrosis. Habitualmente la NL se presenta en el contexto de una enfermedad lúpica conocida, pero puede presentarse como manifestación aislada del LES, especialmente en la clase membranosa.

La hipertensión arterial persistente es frecuente en la nefritis severa, junto con la elevación de la creatinina sérica y el descenso de la hemoglobina y de los niveles de complemento. La observación de un sedimento activo con cilindros hemáticos es un indicador de daño inflamatorio renal. Los marcadores serológicos propuestos para monitorizar la actividad inmunológica de la NL son: Ac anti dsDNA, C3 y C4 y Ac anti C1q. Una elevación de los títulos de anti-dsDNA junto a la caída del complemento, son característico de compromiso renal.

Lupus neonatal

El Lupus Neonatal (LN) se produce por el paso transplacentario de autoAc en la circulación fetal entre las semanas 18 y 24 de gestación. Se asocia con la presencia de Ac maternos anti-Ro y anti-La, independiente de la patología de base que padezca la mujer (LES, Síndrome de Sjögren o incluso madres asintomáticas). El bloqueo cardíaco congénito completo debido a la injuria causada por los autoAc es la complicación más severa y ocurre en alrededor del 2% de los casos. Manifestaciones cutáneas, colestasis y citopenias se asocian al LN pero son de carácter transitorio. Por su valor predictivo de trombosis y complicaciones obstétricas, está indicado realizar también en estas pacientes la determinación de AAF: Ac anticardiolipina, anticoagulante lúpico y anti- β 2- glicoproteína-I.

Síndrome de Sjögren

El Síndrome de Sjögren (SS) es una exocrinopatía autoinmune crónica que afecta principalmente a las glándulas exocrinas lagrimales y salivales, pero también puede presentar manifestaciones extraglandulares. El SS puede clasificarse primario (cuando se presenta como única enfermedad) o secundario, asociado a otras enfermedades del tejido conectivo, como AR, LES o esclerosis sistémica. Se estima que la prevalencia del SS primario se sitúa entre el 0,02-0,1%, con un marcado predominio femenino (90% de mujeres) y un pico de incidencia alrededor de los 55 años. El subdiagnóstico es frecuente.

No se conoce la etiología del SS; se postula que el desarrollo de la enfermedad está condicionado por la interacción entre la predisposición genética y la exposición a factores ambientales (infecciones víricas) y hormonales, culminando con la pérdida de la tolerancia a autoAg. Diversas células, con predominancia de LT CD4⁺, seguido de LT CD8⁺, LB y macrófagos infiltran las glándulas exocrinas y promueven una respuesta inflamatoria que las destruye de manera progresiva (Fig.7). Se ha descrito asociación con Ag del HLA, la mayoría con DR3 aunque también con DR2, DRw53 y DR5. Entre los virus relacionados con el SS se encuentran los del grupo herpes (Epstein-Barr, herpes simple 6, citomegalovirus), VHC y VHB, parvovirus B19, enterovirus (Coxsackie) y retrovirus: VIH y virus linfotrópico humano tipo I.

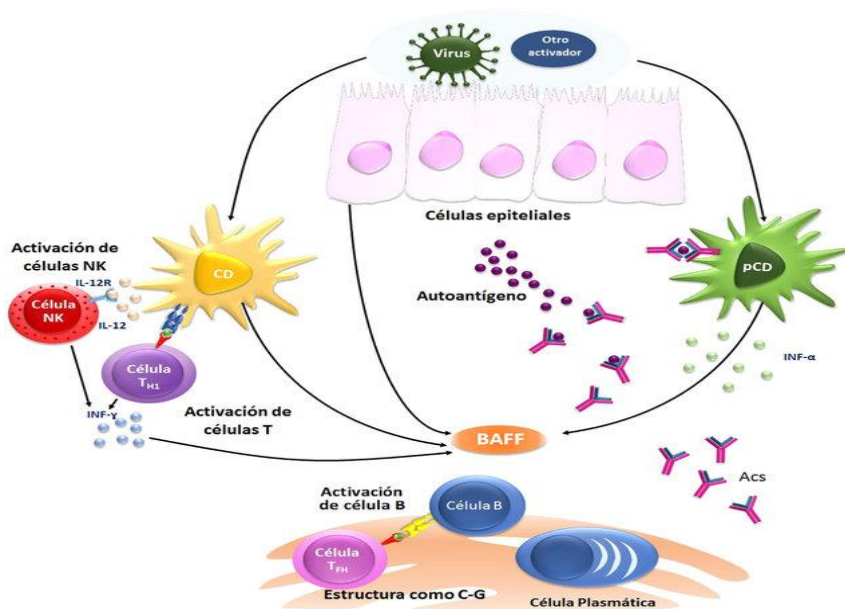


Figura 7. Fisiopatología del Síndrome de Sjögren. Compromiso de las glándulas exocrinas, donde la activación de inmunidad innata potencia la respuesta adaptativa. Infiltración progresiva del tejido por células linfocitarias y plasmocitarias. La activación de la respuesta Th1 por medio de LT CD4⁺ y células Th17 promueve la formación de acúmulos linfocitarios que originan nuevos centros germinales (C-G) de células autorreactivas, lo cual es potenciado por la producción del factor activador de células B (BAFF), la activación de las células plasmáticas y la producción de autoanticuerpos que perpetúan la inflamación y el daño tisular. CD: células dendríticas (Rev Colomb Reumatol 2020; 27:125-139).

Las manifestaciones clínicas características del SS derivan del compromiso glandular y consisten en xeroftalmía, xerostomía, xerodermia, xerovagina, xerotráquea y tumefacción parotídea. Alrededor de un 30-40% de los pacientes puede presentar compromiso extraglandular: artritis, púrpura, polineuropatía, fenómeno de Raynaud, intersticiopatía pulmonar, acidosis túbular renal, glomerulonefritis, anemia, leucopenia e hipergammaglobulinemia. Dentro de las EAI sistémicas, el SS primario es el que tiene el mayor riesgo de presentar desórdenes linfoproliferativos; los linfomas asociados son predominantemente no Hodgkin de células B, de bajo grado y derivados de la zona marginal. Suelen desarrollarse en los órganos en donde la enfermedad presenta mayor actividad, a nivel de glándulas salivales y del tipo MALT (derivados del tejido linfoide asociado a mucosas).

El diagnóstico de SS se basa en los criterios de clasificación ACR/EULAR 2016 (Tabla 5). Los Ac dirigidos contra las ribonucleoproteínas Ro/SS-A y La/SS-B se consideran los más específicos para diagnóstico, aunque aparezcan en un porcentaje variable de pacientes. Son inmunoglobulinas (Ig) de la clase IgG1 e IgG3, aunque también se describen de clase IgA e IgM. Pueden producirse localmente en los infiltrados de las glándulas salivales y su presencia se asocia a daño tisular. Los títulos de no se correlacionan con la actividad de la enfermedad.

Tabla 5. Criterios de clasificación para Síndrome de Sjögren primario (Medicine. 2021; 13:1694-701)

Criterios	Puntuación
Biopsia de glándula salival menor con sialoadenitis linfocítica focal con ≥ 1 foco linfocítico o <i>focus score</i>	3
Presencia en suero de anticuerpos anti-SSA/anti-Ro positivo	3
Test de Schirmer ≤ 5 mm en 5 minutos en al menos un ojo	1
Puntuación de tinción ocular ≥ 5 en al menos un ojo o índice van Bijsterveld ≥ 4 en al menos un ojo	1
Flujo salival no estimulado $\leq 0,1$ mL/minuto	1
Criterio de inclusión	
Presencia de xerostomía y/o xeroftalmia persistente durante al menos 3 meses que no puede ser explicada por ninguna otra causa como farmacológica, radioterapia cervicofacial previa, infecciones crónicas, sarcoidosis, amiloidosis, enfermedad relacionada con IgG4, enfermedad granulomatosa previa u otras	
Foco linfocítico	
Acumulación de > 50 linfocitos por 4 mm^2 de tejido glandular	
Diagnóstico definitivo de síndrome de Sjögren ≥ 4 puntos	

Los Ac anti Ro/SS-A reconocen distintos epítomos expresados por 2 proteínas de PM de 52 y 60 kDa asociados a ARN. Se encuentran en el 40-95% de pacientes con SS. Los epítomos en la proteína Ro 60 kDa son predominantemente conformacionales y superficiales, mientras que en la proteína Ro 52 kDa son lineares e internos.

- Ro/SS-A (52kDa): proteína ligasa ubiquitina E3, miembro de la familia de proteínas TRIM (*tripartite motif family*). Es inducible por interferón y actúa como receptor Fc de IgG (Fc-γR) atípico. Marcador de riesgo para bloqueo atrioventricular congénito. La prevalencia de Ac anti-Ro/SS-A de 52 kDa es superior a la de Ac anti-Ro/SS-A de 60 kDa en miopatías idiopáticas inflamatorias.

-Ro/SS-A (60kDa): actuaría como una proteína chaperona uniéndose a cadenas de scRNA-hY anormalmente plegadas, señalizándolas (ubiquitinización) para que su posterior degradación. Los Ac anti Ro/SS-A 60 kDa han sido descritos en SS primario y en asociación con LES. Valor clínico: asociados a fotosensibilidad.

Los Ac anti-La reconocen una fosfoproteína nuclear de 47kD, que funciona como factor auxiliar en la fase terminal de la transcripción, induciendo cambios conformacionales en la RNA polimerasa III. Se asocian a SS primario (35-70%) y en menor medida a LES (10-15%). Preceden al comienzo de las manifestaciones clínicas y/o al diagnóstico de SS y pueden correlacionarse con afección extraglandular. Estos Ac en la mayoría de los casos se presentan junto con los anti-Ro. Pacientes con LES o AR con Ac anti-La tienen mayor predisposición a desarrollar SS secundario. Suelen condicionar un patrón de IFI moteado fino (Fig.9). Otros anticuerpos asociados a SS son:

-FR: alrededor del 60% de pacientes con SS primario, y en SS secundario a AR.

-Ac anti αfodrina: proteína del citoesqueleto que se encuentra unida a actina. Preceden a la aparición de los Ac anti-Ro y anti-La. Se relacionaron con la inflamación glandular activa y con manifestaciones neurológicas.

-ACPA: se detectan en el 3-7% de los casos SS primario.

-Ac anti-péptidos del receptor muscarínico (tipo M3): marcador de SS primario.

Debido a que el SS se puede asociar con otras enfermedades autoinmunes, se pueden detectar Ac que son órganos específicos (anticélulasparietales, antimitocondriales, antitiroperoxidasa).Otros autoAc: ANA, AAF, Ac anticitoplasmade neutrófilos (ANCA), anti-centrómero, anti-Sm, anti-RNP, etc.

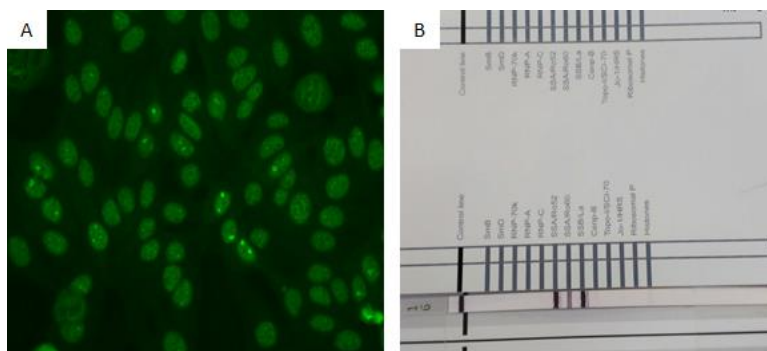


Figura 9. A) Inmunofluorescencia indirecta (IFI) de células HEp-2000® que evidencia un patrón moteado. Para confirmar la especificidad de los anticuerpos, se deberán realizar otras pruebas inmunológicas utilizando antígenos específicos [ELISA, Western Blot, DotBlot, inmunoensayo lineal (LIA), etc.]. B) Inmunoblot positivo para Ac anti-SSA/Ro (Ro52+Ro60) y anti-SSB/La.

Esclerosis sistémica

La Esclerosis Sistémica (ES) o esclerodermia es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por cambios fibróticos y degenerativos en la piel, vasos sanguíneos y órganos internos, incluyendo tracto digestivo, pulmones, corazón y riñones. Afecta a mujeres entre la cuarta y quinta década de la vida aumentando su incidencia con la edad. La detección de Ac anti-ENA es importante en el diagnóstico de la enfermedad y de sus formas clínicas.

La naturaleza de la ES está aún por dilucidar, aunque se plantea que una lesión primaria al nivel endotelial es la responsable de la activación del sistema inmunológico, con la consecuente liberación de mediadores proinflamatorios que provocan daño al endotelio, fenómenos de vasoconstricción y vasculopatía obliterante y finalmente fibrosis tisular generalizada (Fig. 10). El aumento de la agregación plaquetaria junto a la proliferación endotelial con remodelación favorece la trombosis secundaria.

Formas clínicas

Según la extensión del compromiso cutáneo, la enfermedad se puede clasificar en:

- 1) **ES limitada (ESL)**: engrosamiento cutáneo limitado a zonas distales al codo y la rodilla, que puede afectar cuello y cara. Relacionada con el **síndrome de CREST** (calcinosis, fenómeno de Raynaud, dismotilidad esofágica, esclerodactilia, telangiectasias). El compromiso visceral es menos frecuente y tardío, y la progresión más lenta.
- 2) **ES difusa (ESD)**: engrosamiento cutáneo en tronco, cara, extremidades proximales y distales. Suele tener un inicio y una evolución de la enfermedad más rápido, así como un peor pronóstico, ya que posee mayor asociación con manifestaciones renales (crisis renal esclerodérmica) y pulmonares (enfermedad intersticial, fibrosis).
- 3) **ES sin esclerodermia**: afecciones características de los órganos internos, alteraciones vasculares y serológicas, pero sin patología cutánea clínicamente detectable.
- 4) **Pre-esclerodermia**: fenómeno de Raynaud (Fig. 10) y/o alteraciones microvasculares por capilaroscopia, aunque sin afectación cutánea o de órganos internos y ANA específicos.
- 5) **ES como parte de un síndrome de superposición**: LES, AR, síndrome antifosfolípídico o enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC).

El diagnóstico de ES puede apoyarse en criterios clínicos, en el laboratorio inmunológico y en la histopatología. En 2013, el Comité ACR-EULAR publicó la última clasificación disponible (Tabla 6). Los criterios incluyen uno mayor (induración cutánea digital bilateral, que se extiende proximal hasta articulaciones metacarpofalángicas) y siete criterios menores, entre los que se incluye la presencia de Ac (anti-topoisomerasa I/ScI70, anti -centrómero y anti-ARN-polimerasa III). Se considera como ES definida si el paciente alcanza score de 9 (excepto el criterio mayor, que automáticamente establece el diagnóstico).

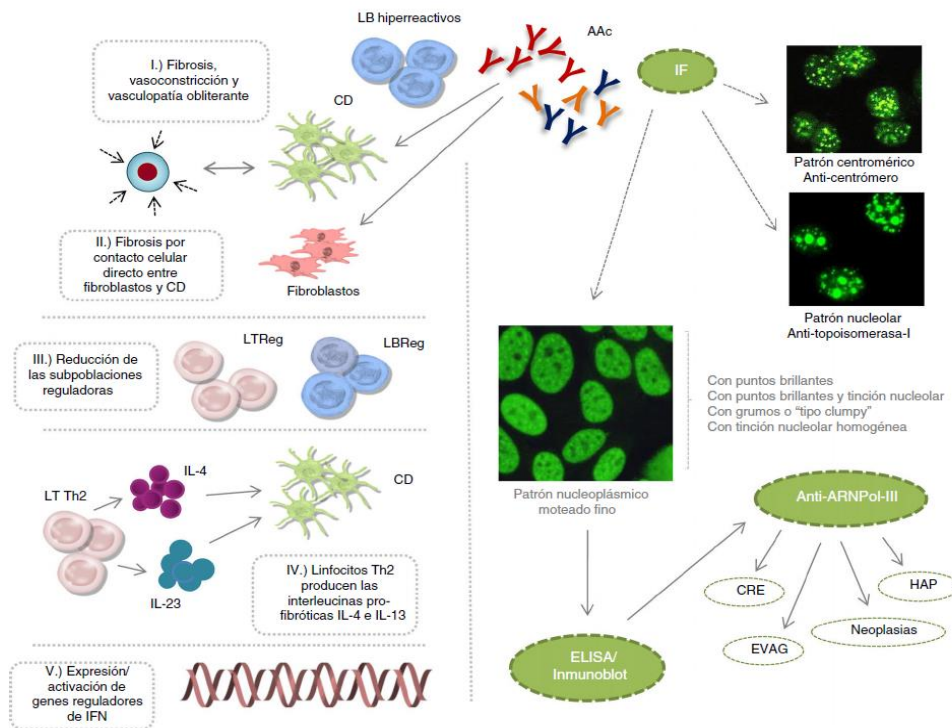


Figura 10. Etiopatogenia de la esclerosis sistémica, patrones de IFI y producción de autoAc: anticentromero, antitopoisomerasa-I y anti-ARNPol-III. AAc: autoanticuerpos; CD: célula dendrítica; CRE: crisis renal esclerodérmica; EVAG: ectasia vascular antral gástrica; HAP: hipertensión arterial pulmonar; IF: inmunofluorescencia; IFN: interferón; IL: interleucina; LB: linfocito B; LT: linfocito T; Reg: regulador. (Rev Colom Reumatol 2020; 27:68-70).



Figura 11. A) Fenómeno de Raynaud. Es el síntoma más precoz, y aparece en el 100% de las ESL y en el 70% de las ESD. Se caracteriza por episodios vasoespásticos en zonas acras (manos y pies), con palidez, seguido de cianosis (debido a la isquemia) y finalmente reperusión con hiperemia. Se desencadena por frío o estrés y se acompaña de hinchazón, disestesias y dolor en los dedos afectados. B) Lesiones ulceradas isquémicas por fenómeno de Raynaud (Medicine 2017;12:1448-57).

Tabla 6. Criterios clasificatorios para ES (ACR-EULAR, 2013) (Medicine 2021;13:1767-76)

Ítem	Sub-ítem	Puntuación
Endurecimiento cutáneo de los dedos de ambas manos, proximal a articulaciones MTCF (criterio suficiente)		9
Endurecimiento cutáneo de los dedos (puntuación más alta)	«Puffy-fingers»	2
	Esclerodactilia (distal a MTCF)	3
Lesiones en los pulpejos de los dedos (puntuación más alta)	Úlceras digitales	2
	«pitting Scars digitales»	
Capilaroscopia patológica		2
Hipertensión pulmonar arterial y/o enfermedad pulmonar intersticial		2
Fenómeno de Raynaud		3
Anticuerpos relacionados con la esclerodermia	Anticentrómero	3
	Anti-topoisomerasa	3
	Anti-RNA polimerasa	3

MTCF: metacarpofalángicas.

*Para cumplir los criterios de clasificación de esclerosis sistémica se tiene que obtener una puntuación superior a 9.

Anticuerpos en el diagnóstico de ES

La prevalencia de ANA en la ES alcanza el 95%. Se han descrito más de 60 especificidades asociadas, y los que poseen mayor relevancia y significado clínico son: (Tabla 7)

-Anti-topoisomerasa I/Sci70: dirigidos contra una proteína nuclear no histona de 70 kD que participa en el desenrollado del ADN previo a la transcripción. Producen un patrón nucleolar y/o moteado fino en la evaluación de ANA por IFI. (Patrón AC 29).

-Anti-centrómero (Cent): reconocen proteínas laminares del quinetocoro cromosómico, principalmente la proteína centromérica b (CENP-B). (Patrón AC 03).

-Anti-ARN polimerasa (ARNP)-I y III: combinación altamente específica de ES.

-Anti-Th/To: reconocen ribonucleoproteínas de las ARNasas MRP y P.

-Anti-U3RNP: dirigidos contra la fibrilarina, una proteína del nucleolo.

Los tres últimos Ac se caracterizan por presentar patrones nucleolares por IFI (AC-8, AC-9 y AC-10). Por esta razón, en pacientes con manifestaciones clínicas de ES y tinción nucleolar se debe continuar con el perfil de búsqueda de Ac anti-PM/Scl, Th/To y U3RNP/fibrilarina.

No suelen coexistir 2 o más especificidades en el mismo paciente y la positividad suele mantenerse durante todo el curso de la enfermedad. Los Ac anti-Cent se presentan casi exclusivamente en la ESL, mientras que los sujetos con ESD tienen más probabilidades de positividad para Ac anti Scl-70, anti-ARNP I/III y anti- U3RNP/fibrilarina. El FR positivo puede evidenciarse muchos pacientes con ES. En ES asociada a síndromes de solapamiento como miositis, se pueden encontrar Ac anti-PM-Scl, anti-U1RNP, anti-Ku y anti-SS-A/Ro52.

Tabla 7. Autoanticuerpos en la esclerosis sistémica y asociaciones (Medicine 2021;13:1767-76)

Autoanticuerpo	Asociación clínica	Otras características
Anticentrómero	ES con afectación localizada HAP	Mejor pronóstico Curso evolutivo más lento Mujeres, mayor edad
Anti-SCL-70	Afectación difusa Enfermedad pulmonar intersticial Afectación articular Afectación cardíaca	Peor pronóstico Evolución rápidamente progresiva Varones, menor edad
Anti-RNA polimerasa III	Formas difusas Crisis renal Afectación articular Ectasia vascular antral Neoplasias	Afectación cutánea más grave Peor pronóstico
Anti-U3-RNP	Hipertensión pulmonar Afectación muscular	Enfermedad más grave Afroamericanos
Anti-Th/To	Fibrosis pulmonar HAP Edema de manos	Evolución rápida
Anti-U1-RNP	Enfermedad mixta del tejido conectivo Edema de manos Afectación articular Miopatía inflamatoria	Afroamericanos
PM-SCL70	Miopatía inflamatoria <i>Overlap DM</i>	

DM: dermatomiositis; ES: esclerosis sistémica; HAP: hipertensión arterial pulmonar.

Enfermedad mixta del tejido conectivo

La Enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC) es una entidad clínica descrita en 1972 por Sharp que se presenta con características propias del LES, la ES, las miopatías inflamatorias y la AR. Es condición necesaria para hacer el diagnóstico la existencia de títulos altos de Ac anti-U1sn-RNP (U1-RNP, «*small nuclear ribonucleoproteins*»). Afecta sobre todo a mujeres (9:1) en la tercera década de la vida, también a niños y ancianos.

En la EMTC, la respuesta inmune se dirige contra los polipéptidos A y C de la fracción de 70 kDa del complejo U1-sn RNP. La etiología de la EMTC es desconocida y el desarrollo de la enfermedad se debe, probablemente, a la interacción entre factores genéticos y ambientales (Fig. 12).

Las manifestaciones clínicas que con mayor frecuencia sugieren el diagnóstico de EMTC son: el Fenómeno de Raynaud, el edema de los dedos y de las manos, la presencia de una artritis más severa que la del LES y la ES, el inicio insidioso de hipertensión pulmonar (sin fibrosis), así como la ausencia de afectación renal grave y del sistema nervioso central.

Se han propuesto hasta 4 diferentes conjuntos de criterios de clasificación: los de Sharp, Kasukawa, Alarcón-Segovia y los de Kahn y Appleboom. Si bien los criterios más aceptados son los de Alarcón-Segovia por su alta sensibilidad y especificidad, así como por su simplicidad, se ha postulado que los criterios de Kasukawa podrían ser incluso más sensibles para el diagnóstico. En la práctica clínica diaria, se consideran para el diagnóstico el criterio serológico y al menos 3 criterios clínicos (Tabla 8).

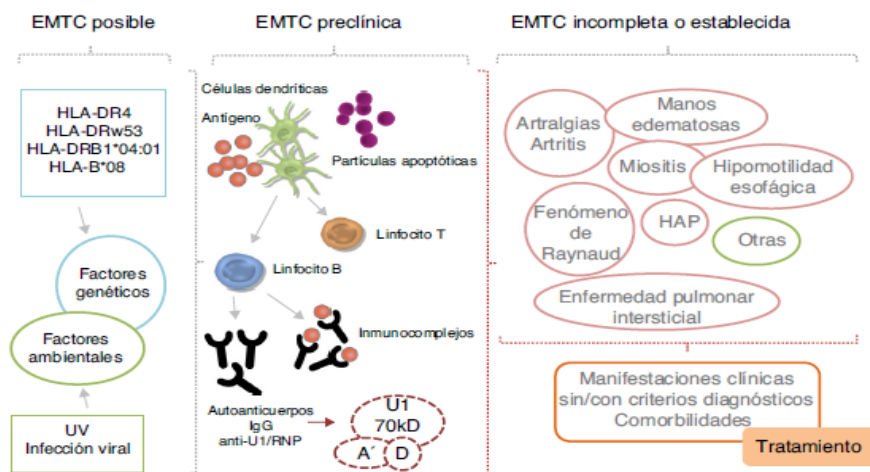


Figura 12. La etiología de la EMTC es desconocida y el desarrollo de la enfermedad se debe posiblemente a la interacción entre factores genéticos y ambientales. La respuesta inmune se dirige fundamentalmente contra los polipéptidos A y C de la fracción de 70 kDa de la ribonucleoproteína U1 (U1/RNP). HAP: hipertensión arterial pulmonar; UV: ultravioleta. (Med Clin Barc 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcli.2017.06.066>).

Tabla 8. Criterios de clasificación propuestos para la EMTC (www.aeped.es/protocolos/)

Sharp	Alarcón-Segovia	Kasukawa	Kahn
Criterio Mayor a. Miositis grave b. Afectación pulmonar: DLCO <70% o hipertensión pulmonar o lesión vascular proliferativa en la biopsia c. Fenómeno de Raynaud d. Esclerodactilia y edemas en manos e. Anti-ENA $\geq 1:10\ 000$ con anti-RNP+ y anti-Sm- Menor a. Alopecia b. Leucopenia <4000 c. Anemia d. Pleuritis e. Pericarditis f. Artritis g. Neuralgia del trigémino h. Rash malar i. Trombocitopenia j. Miositis leve k. Historia de edemas en manos	1. Serológico a. Anti-RNP por hemaglutinación a títulos >1:1.600 2. Criterios clínicos b. Tumefacción de manos c. Sinovitis d. Miositis biológica o histológica e. Fenómeno de Raynaud f. Acroesclerosis con o sin esclerodermia proximal	1. Síntomas comunes a. Fenómeno de Raynaud b. Dedos en salchicha 2. Anticuerpos anti-RNP 3. LES a. Poliartrosis b. Adenopatías c. Rash malar d. Leucopenia o trombocitopenia 4. SSc a. Esclerodactilia b. Fibrosis pulmonar o patrón restrictivo en las PFR con disminución de la DLCO c. Hipomotilidad o dilatación esofágica 5. PM a. Debilidad muscular b. Elevación de enzimas musculares c. Patrón miopático en EMG	1. Serológico a. Títulos altos de anti-RNP correspondientes a ANA patrón moteado >1:1200 2. Clínico a. Fenómeno de Raynaud b. Sinovitis c. Miositis d. Dedos en salchicha
Diagnóstico EMTC segura 4 criterios mayores sin anti-Sm y con anti-U1-RNP >1:4000 EMTC probable 3 criterios mayores sin anti-Sm, o 2 criterios mayores y un criterio menor, anti-U1-RNP >1:1000	EMTC Si cumple el criterio serológico y al menos 3 criterios clínicos son identificados (si a, d y e están presentes, b o c deben estar presentes también)	EMTC Si presenta al menos 1 síntoma común, anti-RNP y la presencia de al menos 1 signo de al menos 2 conectivopatías: LES, SSc, PM	EMTC Si cumple el criterio serológico y fenómeno de Raynaud y al menos 2 de los 3 signos: sinovitis, miositis y dedos en salchicha

DLCO: capacidad de difusión de CO₂; EMTC: enfermedad mixta del tejido conectivo; LES: lupus eritematoso sistémico; PFR: pruebas de función respiratoria; PM: polimiositis; SSc: esclerosis sistémica.

Determinaciones de laboratorio

En la EMTC es frecuente encontrar anemia inflamatoria crónica de bajo grado o leucopenia, en ocasiones trombocitopenia y anemia hemolítica. Serológicamente, el primer indicio para el diagnóstico es la presencia de ANA positivos de patrón moteado, a títulos altos. La detección de concentraciones elevadas de Ac anti-U1snRNP, habitualmente del isotipo IgG, constituye el marcador inmunológico característico. Los diferentes subtipos de RNP forman parte del espliceosoma, una estructura citoplasmática donde el pre-ARN mensajero se transforma y divide en ARN mensajero. La sensibilidad de los Ac anti-U1RNP en la EMTC es del 100% y la especificidad del 80%.

Otros Ac habitualmente presentes incluyen: FR del isotipo IgM, ACPA, Ac anti-ADNdc y AAF. Se han detectado Ac anti-Ro52 en la mitad de los pacientes con fibrosis pulmonar. Las enzimas musculares (LDH, aldolasa, TGO, TGP, CPK) suelen estar elevadas, significando miopatía activa. La mayoría de los pacientes presenta hipergammaglobulinemia.

Miopatías Inflamatorias Idiopáticas

Las miopatías inflamatorias idiopáticas (MII), conocidas también como miositis, abarcan a un conjunto heterogéneo de enfermedades inmunomediadas que afectan al músculo esquelético. Tienen como características distintivas la debilidad muscular a predominio proximal, la elevación de las enzimas musculares, alteraciones electromiográficas típicas y biopsia muscular anormal. Pueden asociarse a compromiso extra muscular, principalmente en piel, articulaciones, pulmón con enfermedad intersticial y algunos subtipos clínicos se relacionan con el desarrollo de neoplasias. La etiología de las MII es desconocida y en su patogenia se han implicado mecanismos de autoinmunidad celular y humoral e infecciones virales del músculo esquelético.

Existen ocho grupos definidos clínicamente e histológicamente: polimiositis (PM), dermatomiositis (DM) del adulto, DM juvenil, DM amiotrófica, miositis con cuerpos de inclusión (MCI), miopatía necrotizante inmunomediada (MNI), miopatías asociadas a neoplasias y miopatías asociadas a otras enfermedades reumáticas autoinmunes sistémicas en el contexto de síndromes de solapamiento. Con excepción de la dermatomiositis juvenil, las MII afectan mayormente a los adultos. Existen Ac específicos de miositis (AEM) y Ac asociados con miositis (AAM) según estén presentes solo en pacientes con MII o en otras patologías autoinmunes. Se asocian a fenotipos clínicos específicos y pueden tener valor pronóstico. En el año 2017 se publicaron las recomendaciones de ACR/EULAR que establece criterios de clasificación de la miositis que incluye a los AEM (Jo-1) y dos diferentes scores, en función de la realización o no de la biopsia muscular (Tabla 9).

Tabla 9. Criterios de clasificación ACR/EULAR para miopatías inflamatorias en pacientes adultos y pediátricos (Autoinmunidad 2019;12: 94-9).

	Sin biopsia	Con biopsia
Edad de comienzo		
18- 40 años	1,3	1,5
Mayor de 40 años	2,1	2,2
Compromiso muscular		
Debilidad simétrica proximal en ms	0,7	0,7
Debilidad simétrica proximal en mi	0,8	0,5
Compromiso de los musc extensores	1,9	1,6
Del cuello más que de los flexores		
Mayor compromiso proximal que distal en piernas	0,9	1,2
Manifestaciones cutáneas		
Eritema heliotropo	3,1	3,2
Pápulas de Gottron	2,1	2,7
Signo de Gottron	3,3	3,7
Otras manifestaciones clínicas		
Disfagia o dismotilidad esofágica	0,7	0,6
Determinaciones de laboratorio anti-JO1	3,9	3,8
Elevación de creatinquinasa o LDH o transaminasas (TGO o TGP)	1,3	1,4
Biopsia con		
Infiltración endomisial de células mononucleares que no invaden las fibras musculares		1,7
Infiltración perimisial y/o perivascular de células mononucleares		1,2
Atrofia perifascicular		1,9
Vacuolas ribeteadas		3,1

MS: miembros superiores. MI: miembros inferiores. *Puede ser utilizada con fines de diagnóstico, si no existiera otra causa que justifique mejor los signos y síntomas. †¿Cómo interpretar el puntaje? MII "Probable": puntaje mayor o igual a "5,5"; o mayor o igual a "6,7" si se incluye la biopsia (probabilidad entre 55 y 90% de tener una MII). MII "Definida": puntaje mayor o igual a "7,5"; o mayor o igual a "8,7" si se incluye la biopsia (probabilidad mayor a 90% de tener MII).

El diagnóstico de MII se basa en la combinación de la historia clínica (ritmo de progresión de la enfermedad, patrón de compromiso muscular y manifestaciones extra-musculares), los hallazgos electromiográficos, las imágenes por RM y el laboratorio. La biopsia de músculo se considera el *gold standard*, pero es un método invasivo y no siempre disponible.

Determinaciones de Laboratorio

- Enzimas musculares: el aumento de los niveles séricos de la creatinquinasa (CK) y el de otras enzimas que reflejan necrosis o lesión muscular, como la aldolasa, aspartato amino transferasa, alanino amino transferasa (TGO/TGP) y lactato deshidro-genasa (LDH), son las determinaciones bioquímicas más utilizadas. Sin embargo, estas enzimas también aumentan en miopatías no autoinmunes (miopatías tóxicas, metabólicas, endócrinas, distrofias) y por otras causas distintas a miositis.
- Serología: alrededor del 50% de los pacientes cursan con ANA positivos. Los patrones de fluorescencia obtenidos por IFI deben ser confirmados por técnicas de inmunodetección específicas para Ag (Fig. 13).

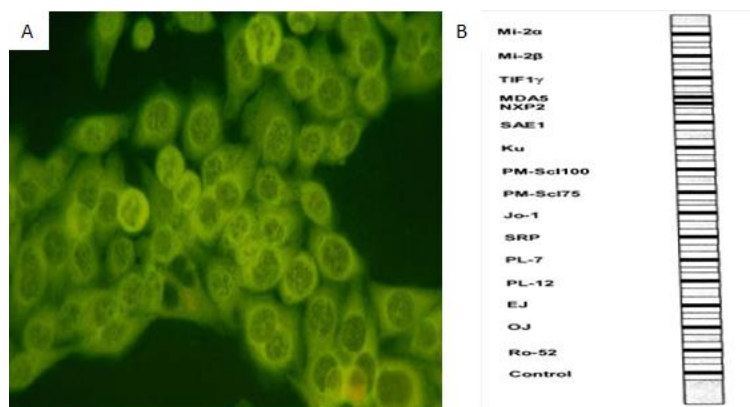


Figura 13. A) Inmunofluorescencia indirecta (IFI) de células HEp-2: fluorescencia difusa en el citoplasma celular (400x). B) Panel de detección de autoAc por inmunoblot para el diagnóstico de dermatomiositis, polimiositis, síndrome antisintetasa y síndrome de superposición (16 Ag EUROLINE-Euroimmun®). Las tiras de nitrocelulosa llevan adheridos en forma individual antígenos purificados [Ro52, TIF1, SAE1, NXP2, Mi-2, Pm-Scl75, Pm-Scl100, PL-7, PL-12, Jo1, SRP, Ku, EJ y OJ]. Las tiras se incuban con el suero del paciente. Si la muestra es positiva, el complejo Ag-Ac se revela en una segunda incubación con un conjugado marcado con enzima, que cataliza una reacción de color (Reumatol Clin 2009; 5:16-9).

1. Anticuerpos específicos de miositis inflamatoria idiopática (Tabla 10)

1a. Ac anti-sintetasa: dirigidos contra las tRNA sintetasa

- Anti Jo-1 (histidil-ARNtsintetasa)
- Anti PL-7 (treonil-ARNtsintetasa)
- Anti PL-12 (alanil-ARNtsintetasa)
- Anti EJ (glicil-ARNtsintetasa)
- Anti OJ (isoleucil-ARNtsintetasa)

1b. Otros anticuerpos específicos de miositis inflamatoria idiopática:

- Mi-2 alfa y beta: DM clásica
- SRP: Miositis necrotizante
- MDA-5: DM amioipática y enfermedad pulmonar rápidamente progresiva
- NXP2: DM asociada a neoplasias y calcinosis
- TIF1gama: DM asociada a neoplasias
- SAE1: DM clásica

2. Anticuerpos asociados a miositis:

- Ku: SP entre ES y MII
- PM/Scl-75: SP entre ES y MII
- PM/Scl-100: SP entre ES y MII
- Ro-52: asociado a DM, ES, SJ, LES y mayor riesgo de enfermedad intersticial pulmonar.

Tabla 10. Anticuerpos específicos y asociados a Miositis. (Rev Med Clin Condes 2018; 29: 611-21).

Anticuerpo	Hallazgos Clínicos				
	Pulmón	Piel	Tipo de Miositis	Neoplasia	Otro
Anticuerpos Específicos de Miositis (MSA)					
Anti-ARS*	Afección más relevante, ILD	Eritema cutáneo asociado a DM	OM, frecuente, varía con anticuerpo	No	Raynaud, artritis, manos de mecánico, fiebre
Anti-SAE	Ninguna conocida	DM Lesiones típicas	OM, ausente al inicio, comienzo tardío	Variable	Ninguno
Anti-MDA5	ILD rápidamente progresiva	DM Lesiones típicas, ulceraciones	DM, leve o ausente	No	Ninguno
Anti-Mi2	Ninguna conocida	DM Lesiones típicas	DM Moderada	Variable	Ninguno
Anti-NPX2	Ninguna conocida	DM Lesiones típicas	DM Severa de inicio	Si	Ninguno
Anti-TIF1g	Ninguna conocida	DM Lesiones típicas severas, fotosensibles	DM, a veces leve, formas amiofáticas	frecuente >40 años	Calcinosis
Anti-SRP	ILD	Variable, Atípico	IMNM Severa, CK muy alta	No	Ninguno
Anti-HMGCR	Ninguna conocida	Variable, Atípico	IMNM Severa, CK muy alta	Si	Uso de estatinas
Anti-cN1A	Ninguna conocida	Ninguna conocida	IBM, CK poco elevada	No	Presente en LES, Sjögren
Anticuerpos Asociados a Miositis (MAA)					
Anti-PM/Scl	Puede predominar	DM Eritema	Frecuente PM, DM, IMNM	No	Síndrome de sobreposición. SS
Anti-U1RNP	Ninguna conocida	Cambios esclerodérmicos	Frecuente, PM, DM	No	Síndrome de sobreposición, enfermedad mixta del tejido conectivo
Anti-Ro52	Ninguna conocida, asocia con anti-ARS	No asocia con DM pero puede haber eritemas	PM, DM, IMNM	No	Síndrome de sobreposición
Anti-Ku	Ninguna conocida	Ninguna conocida	PM, sIBM	No	Síndrome de sobreposición

(*) ARS (aminoacil-tARNsintetasa), anti-Jo1 (anti-histidil-tARNsintetasa), anti-PL7 (anti-treonil-tARNsintetasa), anti-PL12 (anti-alanil-tARNsintetasa), anti-EJ (anti-glicil-tARNsintetasa), anti-OJ (anti-isoleucil-tARNsintetasa), anti-Ha (anti-tirosil-tARNsintetasa), anti-KS (anti-asparagil-tARNsintetasa) y anti-Zo (anti-fenilalanil-tARNsintetasa). ILD, enfermedad pulmonar intersticial, DM, dermatomiositis; IMNM, miopatía necrotizante inmuno-mediada; PM, polimiositis; OM, miositis de sobreposición; sIBM, miositis por cuerpos de inclusión. LES, lupus eritematoso sistémico; SS, esclerosis sistémica.

Síndrome antifosfolípido

El **Síndrome antifosfolípido (SAF)** es una EAsistémica caracterizada por el desarrollo de trombosis venosa o arterial y/o morbilidad durante el embarazo (abortos recurrentes) y alteraciones hematológicas (trombocitopenia o anemia hemolítica) asociados a la presencia de anticuerpos antifosfolipídicos [AAF: anticardiolipinas (aCL), anticoagulante lúpico(AL) y anti β 2-glucoproteína I ($\alpha\beta$ 2GPI)] de los isotipos IgG e IgM. Los niveles de AAF pueden elevarse de forma inespecífica durante los episodios infecciosos agudos, por lo que es necesario confirmar su persistencia mediante dos determinaciones positivas separadas como mínimo 12 semanas entre sí (Tabla 11).

Tabla 11. Criterios de clasificación del síndrome antifosfolípido (Rev CONAREC 2020; 35:168-78)

Criterios clínicos	
Trombosis vascular	<ul style="list-style-type: none"> Uno o más episodios clínicos de trombosis arterial, venosa, o de pequeños vasos, que ocurra en cualquier tejido u órgano, demostrado por criterios objetivos (imagen y/o anatomía patológica). Ausencia de inflamación en la pared vascular
Complicaciones del embarazo	<ul style="list-style-type: none"> Una o más muertes no explicadas de fetos morfológicamente normales (según ecografía o examen directo) después de la semana 10 de gestación Uno o más nacimientos prematuros de neonatos morfológicamente normales, antes de la semana 34 de gestación debido a preeclampsia grave o eclampsia o insuficiencia placentaria Tres o más abortos espontáneos consecutivos no explicados, antes de la semana 10 de gestación, excluidas causas hormonales, cromosómicas o anatómicas maternas
Criterios de laboratorio	
Anticuerpos anticardiolipina	<ul style="list-style-type: none"> Anticuerpos anticardiolipina IgG y/o IgM en plasma o suero, a títulos medios o altos (> 40 GPL o MPL o al percentil 99), en 2 o más ocasiones separadas 12 semanas
Anticoagulante lúpico	<ul style="list-style-type: none"> Anticoagulante lúpico detectado en plasma en 2 o más ocasiones separadas 12 semanas
Anticuerpos anti-β ₂ -glucoproteína	<ul style="list-style-type: none"> Anticuerpos anti-β₂-glucoproteína I IgG y/o IgM en plasma o suero (valores superiores al percentil 99), en 2 o más ocasiones separadas 12 semanas

El SAF afecta sobre todo a mujeres, y aunque puede aparecer a cualquier edad, es más frecuente entre los 20 y 40 años. Se considera una de las principales causas de trombofilia adquirida y de accidentes cardiovasculares en menores de 50 años. Puede presentarse de forma aislada (SAF primario) o asociado a otras EAI, principalmente a LES y AR (SAF secundario). Una variante aguda del síndrome (SAF catastrófico) conduce a una microangiopatía trombótica masiva e insuficiencia multiorgánica. El riesgo de presentar manifestaciones clínicas del SAF es mayor cuando se detecta AL o más de un AAF diferente (doble y, en particular, triple positividad) en el mismo paciente.

Los AAF son una familia heterogénea de Ac que se unen a proteínas fijadoras de fosfolípidos (PL). Dentro de este grupo, los aβ₂GPI son los Ac patogénicos primarios, aunque también se han descrito AAF dirigidos contra otros Ag como protrombina y fosfatidilserina, componentes del sistema de la proteína C, anexina A5, inhibidor el factor tisular, proteínas del sistema fibrinolítico y de la cascada de la coagulación, etc.

Los AAF pueden interferir con numerosas reacciones hemostáticas y endoteliales mediante múltiples mecanismos patogénicos, entre los que se encuentran la inhibición de anticoagulantes naturales y del sistema fibrinolítico, la activación de células vasculares (células endoteliales, plaquetas y monocitos), la alteración del efecto anticoagulante de la anexina A5 en las superficies celulares y la activación del sistema de complemento.

Determinación de AAF

1) Ensayos en fase sólida (ELISA o sistemas automatizados): Determinación de **aCL** (isotipo IgG/IgM) -la β₂GPI empleada en el ensayo debe ser de origen humano- y **aβ₂GPI** (isotipo IgG/IgM). Se debe tomar como punto de corte el percentil 99 de la población normal.

Tradicionalmente los ensayos de fase sólida se realizaron por ELISA, pero se han desarrollado otras técnicas automatizadas con diferentes soportes (micropartículas magnéticas, microesferas) y otros sistemas de detección (quimioluminiscencia, citometría de flujo, sistemas múltiples). Estos sistemas automatizados presentan muy buena sensibilidad y especificidad clínica, aportando la ventaja de disminuir la variación interlaboratorio y el tiempo de procesamiento, ya que algunos permiten realizar determinaciones individuales y otros permiten la detección simultánea de aCL y anti aβ2GPI.

2) Evaluación del AL: Categorizado como inhibidor de interferencia. Se trata de Ig de tipo IgG/IgM con especificidad contra protrombina humana o β2GPI, que prolongan *in vitro* las pruebas de coagulación dependientes de PL (Fig. 14). El mecanismo del efecto de interferencia se debe a la unión de los Ac a estas proteínas, provocando su dimerización sobre la superficie fosfolípídica y aumentando su afinidad por PL. Esto, como consecuencia, disminuye por competición la disponibilidad de PL para las pruebas de coagulación, situación que se evidencia cuando se trabaja con reactivos con baja concentración fosfolípídica. La *International Society on Thrombosis and Haemostasis* (ISTH) estableció los siguientes criterios para confirmar la presencia de AL:

- I. Demostrar la prolongación de los ensayos de coagulación dependientes de FL.
- II. Demostrar la presencia del inhibidor a través de mezclas con plasma normal.
- III. Demostrar la dependencia del inhibidor al FL (pruebas confirmatorias).
- IV. Descartar otras coagulopatías, en particular por déficit de factores de la coagulación.

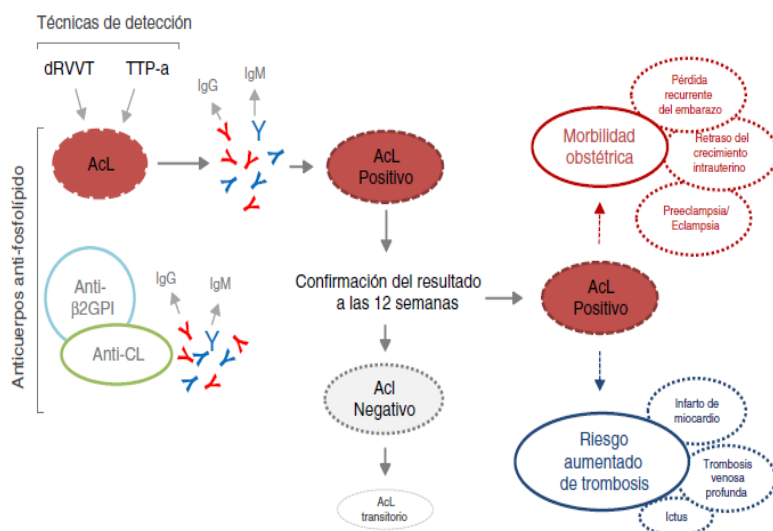


Figura 15. Detección, interpretación y posibles consecuencias clínicas de la positividad del anticoagulante lúpico. AcL: anticoagulante lúpico; Anti-CL: anticardiolipina; Anti-2GPI: anti-2 glicoproteína i; dRVVT: tiempo de veneno de víbora de Russell diluido; FL: fosfolípido; Ig: inmunoglobulina; TTP-a: tiempo de tromboplastina parcial activada (Reumatol Clin 2018; 14:119-23).

Se deben realizar dos pruebas de screening que tengan como principio vías de activación diferentes [tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) y la prueba del veneno de la víbora de Russell diluida]. Para considerar la presencia de AL, alguna de estas dos pruebas debe estar prolongada con respecto al punto de corte establecido. Realizar además la determinación del tiempo de trombina (TT). Si el TT es prolongado, no continuar con la búsqueda de AL, debido a que la presencia de heparina ocasiona falsos positivos.

Luego se realiza la prueba de corrección, mezclando la muestra del paciente con plasma normal, la cual no debe corregir, para identificar que la prolongación de la coagulación no está asociado a factores de la coagulación. Si no hay corrección, se debe realizar la demostración de la dependencia del efecto anticoagulante por los PL, en una prueba confirmatoria donde se evidencie el acortamiento del tiempo de coagulación con la adición de PL de otra fuente (PL en fase hexagonal, extracto de cerebro de conejo, etc.). Es importante tener presente la exclusión de factores inhibidores específicos. Las pruebas confirmatorias deben hacerse sobre el plasma de los pacientes (P) y sobre el plasma normal (N), porque siempre deben expresarse los resultados como razón P/N.

La muestra debe ser tomada antes de comenzar cualquier terapia con anticoagulantes o luego de un periodo de suspensión de los mismos. Para la obtención del plasma pobre en plaquetas se debe realizar doble centrifugación de 15 min cada una a velocidad de 3000 a 3500 rpm (1500-2000g). La muestra debe contener <10.000 plaquetas residuales/uL.

Vasculitis sistémicas asociadas a anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo

Las vasculitis constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades poco frecuentes que comprometen la pared de los vasos sanguíneos, provocando estrechez de su lumen que se manifiesta por isquemia y/o necrosis tisular. Pueden ser primarias o secundarias a infecciones, tumores, drogas o EAI. La localización, el calibre de los vasos afectados, la gravedad del daño vascular y el patrón histopatológico constituyen características que definen los diferentes síndromes vasculíticos y permiten su individualización. Las vasculitis primarias se clasifican en base al tamaño de los vasos comprometidos (Consenso de Chapel-Hill, 2012) (Tabla 12).

Las vasculitis ANCA (VAA) pertenecen al grupo de las vasculitis de vasos pequeños (VVP). Se caracterizan por cursar principalmente con clínica de vía aérea superior, inferior y renal y por presentar anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo (ANCA) circulantes. Se pueden distinguir tres entidades: Granulomatosis con Poliangeítis (GPA), Poliangeítis Microscópica (MPA) y Granulomatosis Eosinofílica con Poliangeítis (EGPA).

Tabla 12. Terminología aceptada para las vasculitis en la Conferencia de Consenso Internacional de Chapel Hill, 2012 sobre la nomenclatura de las vasculitis. *Actas Dermosifiliogr.* 2015; 106:605-08.

<p>Vasculitis de vaso grande</p> <p><i>Arteritis de Takayasu</i></p> <p><i>Arteritis de células gigantes</i></p>	<p>Vasculitis de órgano único</p> <p><i>Angitis leucocitoclástica cutánea</i></p> <p><i>Arteritis cutánea</i></p> <p><i>Vasculitis primaria del sistema nervioso central</i></p> <p><i>Aortitis aislada</i></p> <p><i>Otras</i></p>
<p>Vasculitis de vaso mediano</p> <p><i>Poliarteritis nudosa</i></p> <p><i>Enfermedad de Kawasaki</i></p>	<p>Vasculitis asociadas a enfermedad sistémica</p> <p><i>Vasculitis lúpica</i></p> <p><i>Vasculitis reumatoidea</i></p> <p><i>Vasculitis sardoidea</i></p> <p><i>Otras</i></p>
<p>Vasculitis de vaso pequeño</p> <p><i>Vasculitis asociadas a ANCA</i></p> <p><i>Poliangitis microscópica</i></p> <p><i>Granulomatosis con poliangitis (de Wegener)</i></p> <p><i>Granulomatosis eosinofílica con poliangitis (Churg-Strauss)</i></p> <p><i>Vasculitis por inmunocomplejos</i></p> <p><i>Enfermedad antimembrana basal glomerular</i></p> <p><i>Vasculitis crioglobulinémica</i></p> <p><i>Vasculitis IgA (Schönlein-Henoch)</i></p> <p><i>Vasculitis urticarial hipocomplementémica (vasculitis anti-C1q)</i></p>	<p>Vasculitis asociadas a etiología probable</p> <p><i>Vasculitis crioglobulinémica asociada a virus de la hepatitis C</i></p> <p><i>Vasculitis asociada a virus de la hepatitis B</i></p> <p><i>Aortitis asociada a sífilis</i></p> <p><i>Vasculitis por inmunocomplejos asociada a fármacos</i></p> <p><i>Vasculitis asociada a ANCA por fármacos</i></p> <p><i>Vasculitis asociada a cáncer</i></p> <p><i>Otras</i></p>
<p>Vasculitis de vaso variable</p> <p><i>Enfermedad de Behçet</i></p> <p><i>Síndrome de Cogan</i></p>	

La etiología de las vasculitis ANCA es desconocida. En general se acepta que agentes etiopatogénicos no identificados, posiblemente infecciones, desencadenan una respuesta inflamatoria mediada por la interacción de los neutrófilos, células endoteliales y linfocitos. Se ha sugerido que, aunque los ANCA puedan influir en la etiopatogenia de la enfermedad, existen factores adicionales que contribuyen en la producción del daño vascular (Fig. 16).

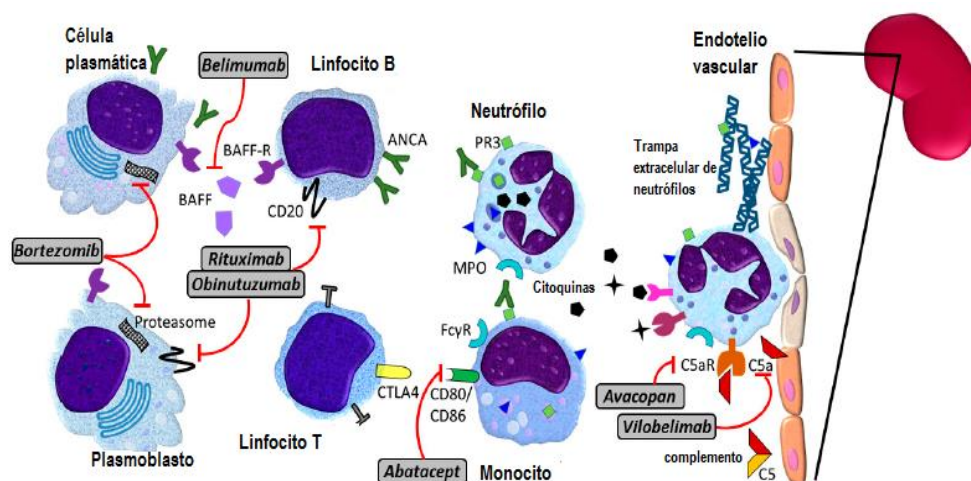


Figura 16. Patogénesis de la vasculitis asociada a ANCA y posibles terapias dirigidas. Poseen un origen multifactorial e involucran a distintas células del sistema inmune. Los LB ocupan un lugar destacado como productores de ANCA, mientras que los BAFF contribuyen al mantenimiento de las células B autorreactivas, plasmoblastos y células plasmáticas. Los neutrófilos provocan gran parte del daño tisular a través de la lesión del endotelio vascular. Los factores del complemento, en particular C5a, y las trampas extracelulares de neutrófilos son importantes impulsores de inflamación y lesión vascular. Rituximab es la única terapia aprobada para la vasculitis asociada a ANCA, mientras que el resto representa terapias en investigación o posibles dianas terapéuticas. ANCA: anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos. BAFF: factor activador de linfocitos B. C5a: fragmento a del factor 5 del complemento. MPO: mieloperoxidasa. PR3: proteinasa de leucocitos 3 (J. Clin. Med. 2021, 10, 1446).

Anticuerpos anticitoplásmicos (ANCA)

Los ANCA suelen ser de clase IgG, tipo IgG1 e IgG4, y reaccionan contra Ag citoplasmáticos de neutrófilos y monocitos, como proteinasa 3 (PR3), mieloperoxidasa (MPO), lactoferrina y otras proteasas. La búsqueda de ANCA se efectúa solo ante una sospecha clínica y un resultado negativo de no permite excluir el diagnóstico de VAA. Los ANCA pueden asociarse a enfermedades infecciosas (malaria, VIH), gastrointestinales (enfermedad inflamatoria intestinal, hepatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria), conectivopatías (LES, AR) y encontrarse en individuos sanos en forma ocasional.

La determinación de ANCA se realiza por IFI sobre neutrófilos fijados en láminas portaobjetos (se deben emplear primero improntas fijadas con etanol, y en caso de obtenerse una imagen positiva, se emplea una impronta fijada en formol). La positividad de la fluorescencia se debe confirmar por otra técnica que permita determinar la especificidad antigénica (Ej: ELISA). Si bien existe una concordancia de hasta el 85% entre ambas metodologías, un 10% de los pacientes son positivos solo por IFI y un 5% solo por ELISA. Sin embargo, cuando existe alta sospecha clínica de MPA o GPA, se recomienda la realización de inmunoensayos (ELISA y/o quimioluminiscencia) como método de screening para la detección de PR3 y MPO. Esta recomendación no aplica para el resto de cuadros asociados a ANCA.

La IFI permite identificar ciertos patrones específicos (Tabla 14, Fig. 17):

1) **Citoplasmática (c-ANCA)**: producido por Ac dirigidos contra la proteinasa 3 (PR3) una serinproteínasa contenida en los gránulos azurófilos. Se caracteriza por una fluorescencia citoplasmática fina y granulosa en los neutrófilos y en los monocitos, con un refuerzo de la tinción en las zonas interlobulares del núcleo.

2) **Perinuclear (p-ANCA)**: en el 90% de los casos es producida por anticuerpos antimieloperoxidasa (MPO). Se caracteriza por una tinción perinuclear que también se puede extenderse al núcleo. Los Ac anti-elastasa, catepsina G y lactoferrina constituyen <5% de los sueros p-ANCA. Es importante resaltar la posible interferencia de los ANA o de Ac específicos contra el núcleo de los neutrófilos (Gs-ANCA). La positividad p-ANCA por IFI puede ser inducida por diversos fármacos.

El patrón p-ANCA es en realidad un artefacto; la fijación de los neutrófilos con etanol permite la difusión de la MPO y de otras proteínas hidrosolubles desde los gránulos a la región perinuclear, donde se unen a la membrana nuclear cargada negativamente. Al fijarlos con formol se evita la difusión de los Ag y los sueros p-ANCA producen un patrón citoplasmático granular. Esta propiedad permite diferenciar los p-ANCA de los GS-ANA y de otros ANA.

3) Atípica (a-ANCA o x-ANCA): Ac dirigidos hacia proteínas de los gránulos primarios como lactoferrina (Ej: AR asociada a vasculitis) y catepsina G (Ej: enfermedad inflamatoria intestinal). Presentan una tinción nuclear con patrones citoplasmáticos inusuales.

4) ANCA atípico: incluye todos los otros patrones IFI de reactividad específica para neutrófilos o monocitos. Con frecuencia poseen una combinación de fluorescencia citoplasmática y perinuclear.

La combinación de c-ANCA/anti-PR3 y p-ANCA/anti-MPO tiene una sensibilidad del 72% y una especificidad del 98% en el diagnóstico de VAA o glomerulonefritis pauciinmune. Los ANCA no son un marcador inequívoco que permita predecir recaídas o guiar decisiones terapéuticas.

Tabla 14. Correlación entre los patrones de IFI y las especificidades de los ANCA. Asociación clínica.

Patrón de IFI	Antígenos	Asociación clínica*
C-ANCA**	PR3	Granulomatosis de Wegener (80%-90%) Poliangeltis microscópica (20%-40%) GNRP1 -pauciinmune- (20%-40%) Síndrome de Churg-Strauss (15%)
P-ANCA***	MPO solo	Poliangeltis microscópica (50%-80%) GNRP1 -pauciinmune- (50%) Síndrome de Churg-Strauss (45%) Granulomatosis de Wegener (10%)
	Múltiples especificidades: coexistentes: catalasa, enolasa, actina, lactoferrina, elastasa, catepsina...	Enfermedad inflamatoria intestinal Artritis reumatoide Vasculitis inducida por fármacos Hepatitis crónica autoinmune
C-ANCA atípico	BPI solo	Fibrosis quística (80%)
	Múltiples especificidades coexistentes: BPI, MPO...	Enfermedad inflamatoria intestinal Colangitis esclerosante primaria Artritis reumatoide
ANCA-atípico	Múltiples especificidades coexistentes: catalasa, enolasa, actina, lactoferrina...	Vasculitis inducida por drogas Enfermedad inflamatoria intestinal Artritis reumatoide

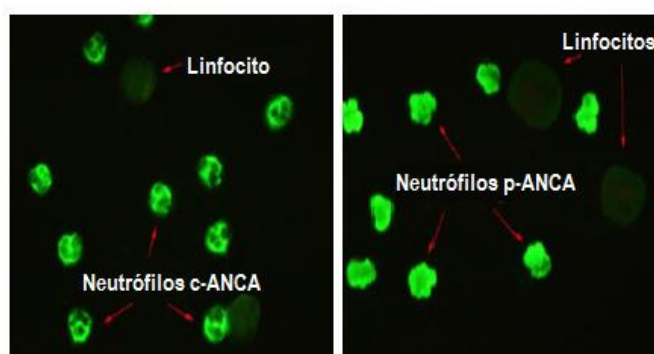


Figura 17. Patrones de IFI en neutrófilos: a) c-ANCA: La tinción de los gránulos alfa (primarios) del citoplasma muestra un patrón de tinción citoplásmica moteada homogénea, a menudo con una concentración de la tinción en los lóbulos del núcleo. El moteado citoplásmico se observa tanto en los neutrófilos fijados con etanol como en los fijados con formol y b) p-ANCA: Tinción homogénea de los núcleos multilobulados, a menudo con una marcada tinción periférica de los lóbulos nucleares de los neutrófilos fijados con etanol. Los neutrófilos fijados con formol muestran tinción citoplásmica granular.

El estudio de las VAA también deben incluir: hemograma, reactantes de fase aguda, proteinograma, orina completa y función renal, ANA, FR, crioglobulinas y complemento (C3, C4), así como serología para los virus de la hepatitis B y C y VIH.

METODOLOGÍAS DIAGNÓSTICAS EN EL LABORATORIO DE LAS ENFERMEDADES REUMÁTICAS AUTOINMUNES SISTÉMICAS

La mayoría de los analitos cuantificados en el laboratorio tienen una naturaleza molecular homogénea. Por el contrario, los Ac derivan de una respuesta humoral policlonal y constituyen moléculas diversas que comparten como característica distintiva la unión al Ag en cuestión. Los Ac policlonales varían con respecto al isotipo, afinidad, punto isoeléctrico, glucosilación de cadena pesada y concentración en suero. Además, existe heterogeneidad en los epítopes moleculares a los que se dirigen los Ac dentro de la misma molécula de Ag, por lo que no existen dos individuos que presenten una respuesta policlonal idéntica.

Esta naturaleza heterogénea de los Ac plantea cierta dificultad en el diseño de ensayos para su cuantificación en muestras biológicas. Por ello, las técnicas de detección de autoAc están condicionadas por la forma disponible del Ag (purificado o no) y/o la especificidad, sensibilidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de los métodos de detección. En los ensayos con una sensibilidad muy alta (capacidad de detectar Ac en baja concentración sérica y baja avidéz), una fracción significativa de muestras de individuos sin EAI podrían resultar reactivas debido a la reactividad de autoAc naturales y reactividad cruzada de Ac. Las metodologías más usadas en laboratorios de baja y mediana complejidad son: Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), Enzimoimmunoensayo (ELISA), Quimioluminiscencia (CLIA), Aglutinación por látex, Inmunortubidimetría/Nefelometría e Inmunoensayo lateral (LIA).

Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

Es una metodología relativamente sencilla y de alta sensibilidad que se basa en la identificación de Ac que reconocen estructuras antigénicas nativas. Constituye el *gold standard* para la detección de ANA, aunque también se emplea para evaluar Ac anti-dsDNA, ANCA y otros. La reacción sucede en dos pasos:

- 1) Incubación de la muestra, donde todo ANA presente en el suero del paciente puede unirse al sustrato celular y formar un complejo Ag-Ac. Otros componentes del suero se eliminan posteriormente mediante lavado.

- 2) Incubación del conjugado (anti-IgG humana-FITC) con los Ac que se hayan unido al sustrato durante la incubación de la muestra. El exceso de conjugado se elimina con el

lavado. Es importante mantener una adecuada relación Fluoreceína/Proteína (F/P) y Anticuerpo específico/Proteína (Ac esp/P), ya que la falta de cumplimiento en algunas de estas condiciones implicaría falsos resultados negativos, exceso de coloración inespecífica con pegado inespecífico del conjugado, disminución de la especificidad y falta de definición de resultados. Además, cada laboratorio deberá titular los conjugados utilizando un suero positivo de título conocido para establecer la dilución óptima de trabajo requerida.

Los resultados se visualizan utilizando un microscopio de fluorescencia (400X); toda reacción positiva aparecerá como una tinción fluorescente de color verde manzana dentro de la célula. Se trata de una técnica semicuantitativa en la que la titulación de los ANA requiere diluciones seriadas. Los sustratos empleados para IFI dependen del Ac evaluado [células HEp-2 (*human epidermoid carcinoma strain*), *Crithidialuciliae*, neutrófilos, etc.].

IFI para detección de ANA-HEp-2

La determinación de ANA por IFI sobre células HEp-2 ha sido reconocida por el Colegio Americano de Reumatología como el método de referencia por su mayor sensibilidad con respecto a otros inmunoensayos disponibles en el mercado. La célula HEp-2 contiene más de un centenar de Ag y entrega valiosa información a través del patrón de fluorescencia que definen los Ac en las EAI sistémicas. Las células HEp-2000®, células HEp-2 transfectadas con el Ag Ro/SS-A de 60 kDa, han aumentado la sensibilidad de la prueba. La mayoría de los ANA con significación clínica son del isotipo IgG, por lo que habitualmente se utiliza el conjugado anti-IgG. Existen equipos automatizados para IFI, algunos de los cuales pueden comparar las imágenes obtenidas con una biblioteca virtual de imágenes integrada al aparato. Sin embargo, la lectura automatizada no puede reemplazar a la visual, ya que el reconocimiento del patrón ANA no se realiza de manera perfecta (Fig. 18).

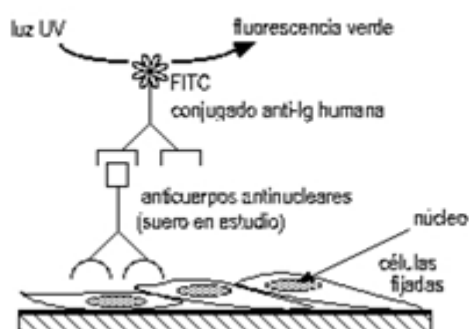


Figura 18. Técnica de inmunofluorescencia indirecta para la detección de ANA (Lamonte B, 2009. Técnicas de Laboratorio en Inmunología Clínica).

Los ANA se pueden clasificar dependiendo de las estructuras que reconozcan: nucleosoma, proteínas no histonas asociadas al DNA, ENA, nucléolo y Ag citoplasmáticos.

Debido a la variedad de patrones ya la complejidad de algunos, en 2016 un consenso de expertos propuso una nomenclatura universal que permita estandarizar la lectura e interpretación de los ANA por IFI. La tabla 15 resume los patrones de fluorescencia, otorgándoles una numeración que va de AC-1 (*anti-cell*) hasta AC-28, separados en nucleares, citoplasmáticos y mitóticos. Entre los patrones más comunes están:

- 1) Homogéneo: fluorescencia uniforme y homogénea en todo el interior del núcleo de la célula en interfase. Fluorescencia intensa en las células en mitosis.
- 2) Periférico: marcaje en la periferia del núcleo, de mayor intensidad en el perímetro interior, y marcaje homogéneo más leve en el resto del núcleo.
- 3) Moteado: marcaje fluorescente en forma de granulado grueso. Los nucleolos no están marcados. Los gránulos pueden tener tamaños y formas diversas dependiendo del Ag reconocido. Indica la presencia de anticuerpos anti-ENA.
- 4) Nucleolar: el marcaje nucleolar puede ser uniforme (a menudo acompañado de un débil marcaje homogéneo en el resto del núcleo) o moteado.
- 5) Patrón citoplasmático: indica la presencia de Ac contra componentes del citoplasma como mitocondrias, ribosomas y proteínas del citoesqueleto.

Tabla 15. Patrones convencionales de ANA y su relación con autoanticuerpos según el primer consenso internacional de nomenclatura estandarizada (Rev Colom Reumatol 2018; 25:112-25).

Patrón	Antígeno específico relacionado	Enfermedad o condición clínica relacionada
Nuclear		
<i>Homogéneo (AC-1)</i>	ADN de doble cadena, cromatina, histonas, nucleosomas	LES, lupus inducido por medicamentos, artritis idiopática juvenil
<i>Moteado (AC-2, 4, 5)</i>		
<i>Moteado denso fino (AC-2)</i>	DFS-70, LEDGF	Prevalente en individuos sanos
<i>Moteado fino (AC-4)</i>	SS-A/Ro, SS-B/La, ARN polimerasa II y III, Ku, Ki, Mi-2, topo I (Scl-70)	LES, SS, SSc, miopatías inflamatorias, EMTC
<i>Moteado grueso (AC-5)</i>	hnRNP, U1RNP, Sm, ARN polimerasa III	LES, EMTC, SSc
Puntos nucleares discretos		
<i>Centromérico (AC-3)</i>	Anticentromero CENP-A y CENP-B	Esclerosis cutánea limitada, CBP
<i>Múltiples puntos nucleares (AC-6)</i>	Sp100, proteína de leucemia promielocítica	CBP, enfermedades autoinmunes sistémicas, polimiositis, dermatomiositis
<i>Pocos puntos nucleares (AC-7)</i>	p80 coilina, SMN	LES, SSc, polimiositis, SS, individuos asintomáticos
Nucleolar (AC-8, 9, 10)		
<i>Homogéneo (AC-8)</i>	PM/Scl-75, PM/Scl-100, Th, Td, nucleolína, U3-snoRNP/fibrilarina	SSc, polimiositis con sobreposición de SSc
<i>Grumoso (AC-9)</i>	U3-snoRNP/fibrilarina	SSc
<i>Punteado (AC-10)</i>	ARN polimerasa I	SS, SSc
Membrana nuclear (AC-11, 12)		
<i>Membrana lisa nuclear (AC-11)</i>	Lámina A, B, C nuclear o proteínas asociadas a láminas	LES, SS, artritis seronegativa
<i>Membrana punteada nuclear (AC-12)</i>	Proteínas asociadas al poro nuclear	CBP
Pleomórficos (AC-13, 14)		
<i>PCNA-like (AC-13)</i>	PCNA	LES
<i>CENP-F-like (AC-14)</i>	CENP-F	Cáncer
Citoplasmáticos		
Fibrilar (AC-15, 16, 17)		
<i>Actina/lineal (AC-15)</i>	Actina, miosina no relacionada con el músculo	EMTC, hepatitis crónica activa, cirrosis hepática, miastenia gravis, enfermedad de Crohn, CBP, hemodilísis
<i>Filamentoso/microtúbulos (AC-16)</i>	Vimentina, citoqueratina	Condiciones inflamatorias o infección, hemodilísis, hepatopatía alcohólica, psoriasis, controles sanos
<i>Segmentario (AC-17)</i>	Alfa-actina, vinculina, tropomiosina	Miastenia gravis, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa
Moteado (AC-18, 19, 20)		
<i>Puntos discretos (AC-18)</i>	GW182, Su/Ago2, Ge-1	CBP, enfermedades autoinmunes del SNC
<i>Moteado denso fino (AC-19)</i>	PL-7, PL-12, proteína p ribosomal	Síndrome antisintetasa, polimiositis, dermatomiositis, LES, lupus neuropsiquiátrico
<i>Moteado fino (AC-20)</i>	Jo-1/histidil-ARNt sintetasa	Síndrome antisintetasa, polimiositis, dermatomiositis, esclerosis cutánea limitada
Reticular/AMA (AC-21)	PDC-E2/M2, BCOADC-E2, OGDC-E2, E3BP/proteína X	CBP, SSc
Polar/Golgi-like (AC-22)	Giantin/macrogolgin, golgin-95/GM130, golgin-160, golgin-97, golgin-245	SS, LES, AR, EMTC, ataxia cerebelar idiopática, infecciones virales
Barras y anillos (AC-23)	IMPDPH2	Hepatitis C postterapia con IFN/rivabirina, LES, tiroiditis de Hashimoto
Mitóticos		
<i>Centrosoma (AC-24)</i>	Pericentrina, nineína, Cep250, Cep110, enolasa	SSc, fenómeno de Raynaud, infecciones (virales y micoplasma)
<i>Fibras del huso (AC-25)</i>	HsEg5	SS, LES
<i>NuMA-like (AC-26)</i>	Centrofilina	SS, LES, otros
<i>Puente intracelular (AC-27)</i>	Aurora cinasa B, CENP-E, MSA-2, KIF-14, MKLP-1	SSc, fenómeno de Raynaud, malignidad
<i>Capa del cromosoma mitótico (AC-28)</i>	Histona modificada H3, MCA-1	Lupus discoides, leucemia linfocítica crónica, SS, polimialgia

Los Ac anti-DFS70 (*Dense Fine Speckle, 70 kd*) son un subgrupo de ANA que muestran un patrón moteado denso fino por IFI. Se ha demostrado la presencia de anti-DFS70 en individuos aparentemente sanos o con condiciones clínicas diferentes a las EAI (cistitis intersticial, dermatitis atópica y neoplasias como el cáncer de próstata). Por ello, se ha propuesto su determinación como una herramienta que contribuiría a la exclusión de patologías reumáticas sistémicas en aquellos pacientes con ANA positivos y sintomatología inespecífica.

Recomendaciones para aseguramiento de calidad

- El valor de corte para una prueba serológica dicotómica de *screening*, como lo es la determinación de ANA, es aquella dilución que define la negatividad (normal) o positividad (anormal). Se recomienda que cada laboratorio determine el valor de corte de dilución utilizando una población de personas sanas, ya que los valores pueden diferir de un país a otro. Distintas publicaciones consideran partir de una dilución de 1:80 para lograr una adecuada sensibilidad y especificidad diagnóstica. En jóvenes se recomendaría una dilución de corte de 1:40.
- Las muestras positivas se deben titular a punto final en diluciones múltiplo de 2, hasta un título final de 1/1280.
- Se debe incluir a lo menos un control positivo y un control negativo de suero humano en la corrida. Se recomienda incluir ambos controles en cada placa.
- Se debería incluir un control de patrón Ro para verificar expresión del Ag en cada lote de láminas HEp-2.
- La lectura debe realizarse en un microscopio de epifluorescencia con lámpara de mercurio de 100 watts o con iluminación LED.
- Dado que la lectura de ANA tiende a ser subjetiva, se recomienda que cada laboratorio realice, con una frecuencia establecida, una verificación en la concordancia entre profesionales lectores mediante lectura ciega.

La fig. 19 muestra un modelo de informe de resultados para la determinación de ANA por IFI. Teniendo en cuenta que el término “prueba de anticuerpos antinucleares (ANA)” puede ser inapropiado para designar una determinación que también incluye a los Ac contra Ag situados en citoplasma y aparato mitótico, se sugirió el nombre alternativo de **anticuerpos anticelulares** en las recomendaciones de EASI (European Autoimmunity Standardization Initiative).

La detección de ANA mediante IFI es un tamizaje (*screening*), que tras ser positivo requiere una segunda prueba que aumente su especificidad (ELISA, LIA, CLIA, etc), con el fin de determinar la especificidad antigénica a la cual están dirigidos los Ac.

Informe de resultados

Examen: Anticuerpos antinucleares (anti-núcleo- citoplasmáticos)

Método: Inmunofluorescencia indirecta; **Sustrato:** Célula de HEP-2;

Dilución inicial de trabajo: 1/80

	Resultados	Valor de Referencia
Anti-nuclear	: <u>Positivo</u>	Negativo
Patrón	: <u>Granular (AC-2,4,5)</u>	
Título	: <u>1/640</u>	
Anti-citoplasmático	: <u>Negativo</u>	Negativo
Patrón	: _____	

Observaciones: Se observa patrón mitótico puente intercelular (AC-27)

Nomenclatura AC de patrones AAN basada en consenso internacional ICAP.

Figura 19. Ejemplo de informe de resultados para ANA. Se debe especificar método, sustrato, dilución de corte y resultados, identificando la fluorescencia nuclear, aclarando título/s y patrón/es, y la fluorescencia citoplasmática, aclarando título/s y patrón/es, dejando un lugar para observaciones (Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile, 2018).

Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA)

Permite detectar Ac anti-dsDNA y/o Ac anti-ENA. Los sueros de la prueba (debidamente diluidos) se incuban en micropocillos revestidos de Ag. Los Ac específicos que existan en la muestra se fijarán al Ag inmovilizado. La placa se lava para eliminar el Ac no fijado y otros componentes séricos. Luego se agrega la anti-IgG humana conjugada con la enzima (Ej: peroxidasa, fosfatasa alcalina, etc.). El conjugado reaccionará con el Ac inmovilizado en la fase sólida. Luego de un paso de lavado, los pocillos que contienen el conjugado enzimático inmovilizado se incuban con solución de sustrato (TMB, p-nitrofenol, etc.). La hidrólisis enzimática del sustrato produce un cambio de color, cuya intensidad depende de la concentración de Ac en la muestra y se cuantifica fotométricamente. En paralelo se trabaja con calibradores y sueros controles negativo y positivo. Los resultados son expresados en unidades de ELISA por mililitro (EU/mL) y consignados como positivos o negativos (Fig. 20).

Los ELISAs pueden ser de *screening* o *profile* (perfil). Los de tamizaje realizan una detección general de los auto-Ac, pero sin especificar qué auto-Ac es positivo en la muestra. En cambio, en el perfil ENA se detecta la presencia y se mide la concentración de cada auto-Ac en particular (Ej: Sm, RNP, SS-A/Ro, SS-B/La, Scl-70, Jo-1, etc.). Existen en el mercado ELISAs para búsqueda de ANA basados en células HEP-2 (HEP-2 ANA EIA), automatizados y con alta reproducibilidad y calibración interna.

La especificidad de los ELISA para la detección de auto-Ac es dependiente de la calidad de los Ag usados y de su similitud con los Ag humanos. En los ELISA de tercera y cuarta generación, las placas están sensibilizadas con Ag purificados o recombinantes. Estos

últimos presentan un reducido número de epítomos. Así, por ejemplo, el suero de un paciente con un patrón centrómero mediante IFI/HEp-2 puede tener un resultado negativo si se emplea un ELISA que detecta actividad anti-CENP-B. Esto se explica porque las células HEp-2 poseen todos los Ag que componen los centrómeros (CENP-A, B, C, D, E y F) y en el ELISA el único Ag que está presente es CENP-B.

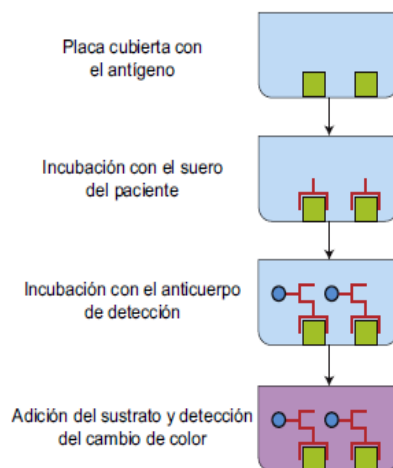


Figura 20. ELISA. La placa de 96 pozos se recubre con antígenos específico, los cuales son reconocidos por los anticuerpos presentes en los sueros de los pacientes. La unión se revela cuando se adiciona un anticuerpo anti-Fc humana conjugado con una enzima. Al agregar el sustrato de la enzima cambia de color el medio. *Reumatol Clin* 2010;6:173–177.

Ensayos multiparamétricos

Los ensayos multiparamétricos se definen como inmunoensayos que permiten la identificación inequívoca de autoAc frente a una multitud de Ag individuales. Incluye a los inmunoensayos de partículas direccionables por láser (ALBIA, *addressable laser beads immunoassay*) y a los inmunoensayos de tipo lineal y de punto (LIA/DIA o *Dot Blot*).

1) LIA y Dot Blot

En ambos casos, el Ag se transfiere directamente a la membrana adsorbente sin electroforesis previa (Fig. 21). Para el Dot Blot, el Ag se “mancha” en la membrana como un punto, mientras que en el caso del LIA, el antígeno está "pintado" como una línea recta en el membrana. A diferencia del *Western blotting*, tanto el Dot Blot como el LIA permiten el uso de distintas condiciones de unión para cada Ag (nativo o recombinante). Así, varias piezas separadas de membrana, que contiene a los diferentes Ag, se pueden montar sobre una lámina sintética que sirve de soporte. La tira se incuba con el suero del paciente y, dependiendo de la presencia o no de los Ac, se formarán complejos Ac-Ag. Estos complejos se pueden visualizar con una anti-Ig humana conjugada con enzima.

Si bien el procedimiento de incubación se puede automatizar, varios de los sistemas disponibles requieren el pipeteo manual de la muestra. Por lo tanto, estas técnicas no son óptimas para volúmenes altos de trabajo, pero en cambio resultan muy convenientes para laboratorios que tienen un número de muestras de bajo a medio. La lectura de resultados también puede automatizarse, y las intensidades de color de los puntos/bandas puede evaluarse para permitir la detección semicuantitativa de los Ac.

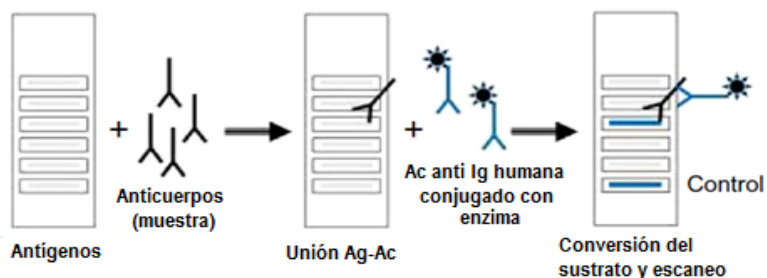


Figura 21. Esquema de los ensayos LIA o Dot Blot (Pathol Lab Med Int 2016; 8: 15-25).

2) ALBIA

Esta metodología emplea una mezcla de perlas con distintos Ag, las cuales emiten una marca fluorescente interna característica (Fig. 22). Por tanto, cada población de perlas representa un inmunoensayo independiente. Tras la incubación con la muestra, los autoAc respectivos se unirán a las perlas y los Ac inespecíficos se eliminarán mediante un paso de lavado. Luego, las perlas se incuban con una anti-Ig humana fluorescente y la presencia de los autoAc se evidencia por citometría de flujo. El uso de estándares de autoAc de diferentes concentraciones, permite componer una curva de calibración. Si bien no se cuenta con materiales de referencia, los resultados generalmente se informan como unidades arbitrarias. Este método se puede automatizar en una sola plataforma o en una plataforma dual y, por ello es adecuado para laboratorios que procesan altos volúmenes de muestras.

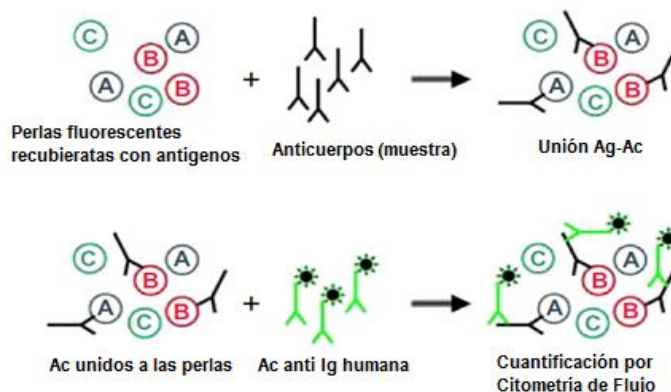


Figura 22. Esquema de los ensayos ALBIA (Pathol Lab Med Int 2016; 8: 15-25).

3) Variantes de la IFI

Aunque IFI se basó originalmente en la detección de autoAc que se unen a células o tejidos, nuevos desarrollos han permitido la combinación del enfoque original con pruebas específicas de Ag (Fig. 23). El método CytoBead (*Generic Assays, Alemania*) combina el cribado de autoAc contra sustratos celulares con un inmunoensayo multiparamétrico de micropartículas. Las cuentas recubiertas con diferentes Ag pueden identificarse por el tamaño y la ubicación en uno de los cuatro compartimentos que rodean la parte central del pozo que contiene el sustrato celular.

El método Biochip (*Euroimmun, Alemania*) también permite la combinación de múltiples sustratos en un único campo de incubación. Estos sustratos pueden consistir en cualquier combinación de células, tejidos, Ag puntuales o células transfectadas. En particular, las células transfectadas parecen muy adecuadas para la detección de autoAc contra receptores de membrana que dependen en gran medida de su adecuada integración en la bicapa lipídica para la correcta presentación de los epítomos inmunogénicos.

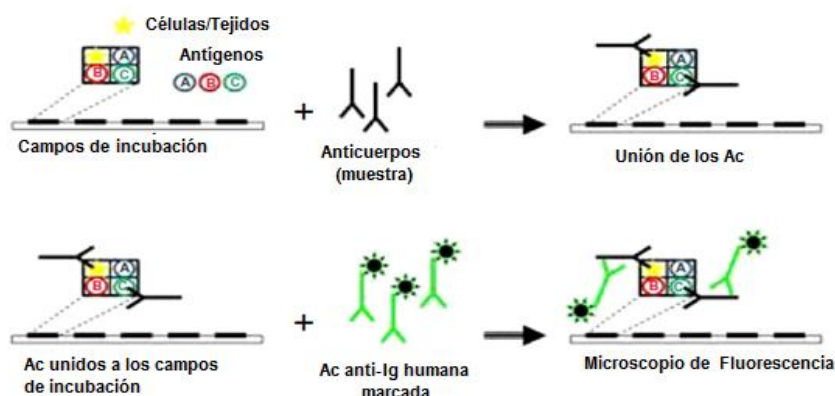


Figura 23. Esquema de los ensayos que combinan IFI y detección de Ag específicos. (Pathol Lab Med Int 2016; 8: 15-25).

Turbidimetría y Nefelometría

Consiste en el análisis automatizado de la dispersión de la luz al chocar contra complejos inmunes Ag-Ac formados al incubar suero del paciente con el reactivo de trabajo. A mayor concentración de complejos (mayor "turbidez" de la suspensión), mayor es la dispersión. En las determinaciones turbidimétricas se mide la cantidad de luz que atraviesa la suspensión sin ser dispersada. El detector se sitúa de manera que forme un ángulo de 0° con respecto a la dirección del rayo incidente. En nefelometría, por el contrario, el detector de radiación se sitúa a un ángulo distinto de 0° (generalmente a 90°, pero no siempre) de modo que pueda

captar la cantidad de radiación dispersada en dicha dirección. Para amplificar estas débiles señales se pueden emplear fotomultiplicadores (Fig. 24).

Diversos parámetros inmunes pueden determinarse por turbidimetría o nefelometría (inmunoglobulinas IgM, IgG e IgA, FR, PCR, C3, C4, etc.).



Figura 24. Principio de detección de la turbidimetría y la nefelometría. (<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181226886003>)

Determinación de Factor Reumatoide

El Factor Reumatoide (FR) es un auto-Ac dirigido contra la porción Fc de las IgG. Aunque se han descrito varios isotipos, incluyendo IgG, IgA, IgE, IgD e IgM, es el isotipo IgM el más comúnmente medido en la práctica clínica, y corresponde al FR clásico.

Inicialmente se usaron métodos semicuantitativos para la detección de FR basados en técnicas de aglutinación:

- Waler-Rose: hematíes de carneros frescos sensibilizados con gamma globulina de conejo.
- Rosse-Ragan: gammaglobulina de conejo en un soporte de partículas de látex.
- Aglutinación por látex: gamma globulinas humana en un soporte de partículas de latex.

La prueba de aglutinación con látex es una prueba muy utilizada, económica y fácil de realizar y proporciona información semicuantitativa (Fig. 25). Posteriormente, se desarrollaron métodos que proporcionan información cuantitativa, como lo son la medición por nefelometría, turbidimetría y ELISA. La nefelometría y turbidimetría, a diferencia del ELISA, no permiten identificar isotipos de FR.

También es factible la medición de FR por EQLIA, metodología que posee alta sensibilidad y especificidad, un amplio rango de medición y que emplea un volumen reducido de muestra. El VR del FR depende de la técnica con la que se realice la medición y se expresa en unidades internacionales (UI/mL).

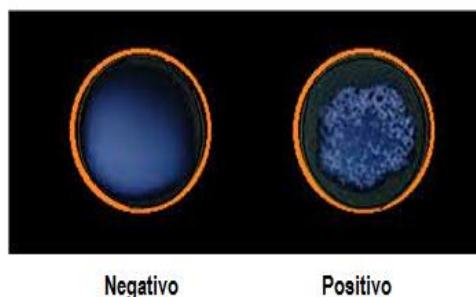


Figura 25. Prueba de aglutinación en látex para la determinación de FR.
(<https://laboratoryinfo.com/rheumatoid-factor-rf-test/>).

RESOLUCIÓN DE CASOS CLÍNICOS

1) Valeria, 25 años de edad, acude a emergencias por presentar dolor en el brazo derecho que irradiaba hacia el hombro. Tres días después comenzó con un cuadro de dolor precordial, con irradiación al dorso, y dificultad respiratoria. Antecedentes de interés: lesiones eritematosas localizadas en mejillas y nariz, y dolores articulares (poliartritis de pequeñas articulaciones). Infertilidad desde los 20 años, con abortos a repetición. Laboratorio: Hb 9,2 g/dL (VR: 12-18 g/dL); VSG 44 mm/50min (VR: 1-7 mm/50min); cociente proteína/creatinina 395 mg/g; fosfatasa alcalina 300 U/L; VDRL positiva; FR 80 UI/mL (VR <20UI/mL); ACPA negativos; ANA positivos (título 1/320, patrón moteado), proteinograma con aumento policlonal de gammaglobulinas (IgG 2850 mg/dL, IgA 250 mg/dL, IgM 222 mg/dL). Coagulograma: tiempo de protrombina 13 segundos (VR: 11-16 segundos), tiempo parcial de tromboplastina 60 segundos (VR: 35-45 segundos) y fibrinógeno 487 mg/dL (VR: 180-350 mg/dL). Ecografía Doppler: trombosis venosa profunda de miembro superior derecho.

- ¿Qué diagnóstico presuntivo podría proponer?
- ¿Qué indicios posee para proponer dicho diagnóstico?
- ¿Qué determinaciones de laboratorio estarían indicadas para contribuir al diagnóstico propuesto?

2) Adolescente de 15 años, de sexo masculino, acudió al Servicio de Reumatología referido de su hospital base con diagnóstico de posible artritis idiopática juvenil. Presenta antecedentes de artralgiás en hombros y rodillas desde los 12 años. En el examen físico se constató leve congestión ocular bilateral, mucosa oral seca, saliva espesa y presencia de múltiples caries dentales. Laboratorio: Hb 10,5 g/dL (VR: 12-18 g/dL); FR 160 UI/mL (VR <20UI/mL); ACPA negativos; ANA positivos (título 1/1280, patrón homogéneo y 1/320, patrón moteado); TSH, C3 y C4 dentro de los VR.

- ¿Qué diagnóstico presuntivo propondría?
- ¿Qué indicios posee para proponer dicho diagnóstico?
- ¿Qué determinaciones de laboratorio estarían indicadas para contribuir al diagnóstico propuesto?
¿Qué metodología emplearía?

3) María, 40 años, refiere un cuadro de astenia, pérdida de peso y debilidad muscular de seis meses de evolución. Además, ha observado endurecimiento dérmico a nivel de manos, antebrazos y cara. Desde el inicio de este cuadro presenta también cambios de coloración en dedos de manos y pies asociados a la exposición al frío y disnea de moderados esfuerzos. Laboratorio: Hb 8,2 g/dL (VR: 12-18 g/dL); VSG 69 mm/50min (VR: 1-7 mm/50min); ANA positivos (título 1/1280 con patrón centromérico); anti-ADN negativo; FR negativo; C3 y C4 dentro de los VR, prueba de Coombs directa e indirecta negativas.

- ¿Qué diagnóstico presuntivo propondría?
- ¿Qué determinaciones de laboratorio estarían indicadas para contribuir al diagnóstico propuesto?
- Mencione las principales complicaciones de la patología propuesta en el punto a.

4) Mauro, 17 años de edad, sin antecedentes de interés, consulta por cuadro febril y dolores articulares de carácter migratorio. Laboratorio: Hb 8,1 g/dL (VR: 12-18 g/dL), proteínas totales 6 g/dL (VR: 6,3-7,8 g/dL) y VSG 100 mm/50min (VR: 1-7 mm/h). Proteinuria: ++. La evolución del paciente es irregular, con empeoramiento del estado general, tos productiva, dolor costal y presencia de

sangre en evacuaciones y en vómitos. Se decide su ingreso a la UTI. Laboratorio: SO₂% (saturación de oxígeno) 87%; urea 80 mg/dL (VR: 15-42 mg/dL); creatinina 1,8 mg/dL (VR: 0,6-1,1 mg/dL); proteínas en orina 1230mg/24h y microhematuria. ANA negativos; ANCA positivos (patrón citoplasmático, título 1/1280); Ac anti-mieloperoxidasa (A-MPO) negativos y Ac anti-proteinasa 3 (A-PR3) >100U/mL. TAC torácico: Opacidades parenquimatosas de morfología nodular bilateral con patrón en vidrio esmerilado, derrame pleural. Biopsia renal: lesiones compatibles con glomerulonefritis extracapilar, con semilunas epiteliales en glomérulos.

a) ¿Qué diagnóstico presuntivo podría proponer? ¿Con qué otras entidades debería realizar el diagnóstico diferencial?

b) ¿Qué indicios posee para proponer dicho diagnóstico?

c) ¿Qué metodología/s se emplea por lo general para la búsqueda de ANCA? ¿Y para la determinación de A-MPO y A-PR3?

Bibliografía

- Alarcón, I. (2017). Aportación del laboratorio clínico en el estudio del lupus eritematoso sistémico. Ed Cont Lab Clín. 28, 11-27.
- Alle, G. (2020). Artritis reumatoidea: actualización en conceptos fisiopatológicos. Autoinmunidad 5: 69-75.
- Kang, E., H. (2020). Autoantibody biomarkers in rheumatic diseases. Int J Mol Sci. 21, 1382-1390.
- Damoiseaux, J. (2019). Clinical relevance of hep-2 indirect immunofluorescent patterns: the international consensus on ANA patterns (icap) perspective. Ann Rheum Dis. 78, 879-89.
- Forastiero, R. (2018). Desafíos en la interpretación del perfil de los anticuerpos antifosfolípidos. Hematología. 22, 68-72.
- Gargiulo, M. (2020). El laboratorio en el estudio de las miopatías inflamatorias idiopáticas. <http://revista.aba-online.org.ar/>. 84, 20-25.
- Bethencourt Baute, J., J. (2020). Enfermedad mixta del tejido conectivo. Protoc diagn ter pediatr. 2, 195-200.
- D'Agostino, L., E. y Arturi, S., A. (2019). Interpretación y relevancia clínica de la determinación de anticuerpos antinucleares. Autoinmunidad 4, 85-93.
- Damoiseaux, J. (2016). Multiparametric autoimmune diagnostics: recent advances. Pathol Lab Med Int. 8, 15-25.
- Mariette, X. (2018). Primary sjögren's syndrome. N Engl J Med. 378, 931-939.