

Vitamina B12 activa (holotranscobalamina)

Active B12- Holotranscobalamin

Aizpurúa L, Aguirre F, Fernandez D, Dieuzeide MP, Eandi Eberle S
Hospital de Pediatría Juan P. Garrahan

aizpurualuciana@hotmail.com

Fecha recepción: 31/07/2019
Fecha aprobación: 15/08/2019



LABORATORIO

HEMATOLOGÍA

Volumen 23 Numero nº 2: 92-94
Mayo - Agosto 2019

Palabras claves: vitamina B12,
Holotranscobalamina,
Haptocorrina

Keywords: Active B12,
Holotranscobalamin,
Haptocorrin

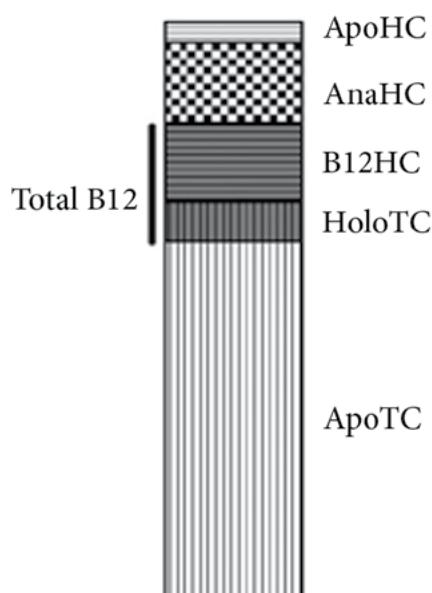
Introduction

La vitamina B12 (cobalamina) es una vitamina hidrosoluble perteneciente al grupo B, que se encuentra en alimentos de origen animal y sus derivados. Actúa como cofactor de dos enzimas: metionina sintasa (cataliza la metilación de homocisteína a metionina) y metilmalonil-coA mutasa (cataliza la conversión de metilmalonil-coA en succinil-coA), cumpliendo un rol fundamental en el metabolismo de aminoácidos y en la síntesis de ADN.

En plasma, la vitamina B12 se encuentra unida a dos proteínas: transcobalamina y haptocorrina. El complejo transcobalamina-vitamina B12 se denomina holotranscobalamina y representa la fracción activa o biológicamente disponible, ya que puede ser absorbida mediante un receptor específico (CD320) y ser utilizada por las células. Representa aproximadamente un 20% de la vitamina total, mientras que el 80% restante unido a haptocorrina se considera metabólicamente inerte.

Figura 1. Distribución de vitamina B12 y análogos en las proteínas de unión en plasma. ApoHC: apohap-

tocorrina; AnaHC: análogos de vitamina B12 unidos a haptocorrina; B12HC: vitamina B12 unida a haptocorrina; HoloTC: holotranscobalamina; ApoTC: apotranscobalamina⁽²⁾.



La deficiencia de vitamina B12 puede ser causada por un aporte dietario insuficiente, defectos adquiridos o congénitos en su complejo metabolismo, o secundaria a otras condiciones médicas. Se manifiesta principalmente en órganos con elevado recambio celular, como la médula ósea y el sistema nervioso. El espectro de manifestaciones asociadas es amplio, desde la ausencia de síntomas hasta desórdenes hematológicos (anemia megaloblástica, pancitopenia) y neurológicos importantes.

La detección precoz de la deficiencia es de fundamental importancia para la prevención de complicaciones irreversibles. Actualmente, ninguno de los parámetros de laboratorio que evalúan el estado de vitamina B12 de forma aislada ha demostrado ser indicadores absolutos y confiables para la realización de un diagnóstico inequívoco de la deficiencia. En consecuencia, varios grupos de investigadores han diseñado algoritmos que combinan un mínimo de dos biomarcadores, como el sugerido por Hermann y Obeid⁽⁴⁾ que propone la medición de HoloTC como marcador de primera línea y de ácido metilmalónico como segunda línea.

Fundamento del ensayo

Para la determinación cuantitativa de holotranscobalamina sérica se utiliza un inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) de dos pasos:

En primer lugar, se combina la muestra con micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpos anti-holotranscobalamina que se unen a la holotranscobalamina presente en la muestra.

En el segundo paso, luego de un lavado, se añade un conjugado de anticuerpos monoclonales de ratón anti-holotranscobalamina marcados con acridinio. Se realiza otro ciclo de lavado y se añaden a la mezcla las soluciones preactivadora (peróxido de hidrogeno) y activadora (hidróxido de sodio). La reacción quimioluminiscente resultante se mide en unidades relativas de luz (URL), existiendo una relación directamente proporcional entre las URL detectadas por el sistema óptico y la cantidad de holotranscobalamina presente en la muestra analizada.

Condiciones preanalíticas

La determinación de holotranscobalamina se realiza en muestras de suero humano recolectadas en tubo seco o con separador de suero. Las mismas pueden

ser conservadas con o sin el coágulo a temperatura ambiente por un tiempo máximo de 16 hs o entre 2°C y 8°C hasta 3 días.

Como alternativa, puede retirarse el coágulo y conservar la muestra a una temperatura igual o inferior a -20°C durante 6 meses. Evitar realizar más de 3 ciclos de congelación/descongelación.

El volumen mínimo de muestra requerido para la determinación se estimó en 160 uL.

Las muestras con concentraciones de triglicéridos mayores a 850 mg/dL, proteínas totales mayores a 10 g/dL o factor reumatoide mayor a 70 UI/mL pueden interferir con los resultados del ensayo.

Condiciones analíticas

Se llevó a cabo el protocolo de verificación del equipo ARCHITECT i4000 (Abbott) según guía EP15-A2 de la CLSI para determinar que el método cumple con las especificaciones del fabricante.

La calibración se realiza con estándares provistos por el fabricante cubriendo el intervalo de concentraciones entre 0,0 pmol/L y 128,0 pmol/L.

Se realiza el seguimiento del desempeño analítico del método utilizando dos niveles de controles comerciales. El control bajo tiene una concentración esperada de 15 pmol/L y el alto de 48 pmol/L.

Hasta el momento no existe un programa de control de calidad externo disponible que incluya este parámetro.

Valores de referencia

Los valores esperados de HoloTC en individuos sanos son 35-171 pmol/L⁽³⁾. Sin embargo, aún no es posible la determinación de puntos de corte definitivos para definir estados de deficiencia clínica y subclínica debido a la gran variedad de metodologías utilizadas y características técnicas involucradas. Cada laboratorio debe verificar o establecer su intervalo de referencia para el método de detección empleado y la población a la que atiende.

Utilidad clínica

Actualmente no existe un método estándar para el diagnóstico de deficiencia de vitamina B12. Según las guías para el diagnóstico y tratamiento de desórdenes de cobalamina y folato⁽³⁾, la determinación de vitamina sérica total permanece como prueba de primera línea debido a su disponibilidad y bajo costo, pero carece de sensibilidad y especificidad,

evidenciando la necesidad de implementar un test diagnóstico más robusto.

El hecho de que sólo la vitamina B12 que se encuentra unida a transcobalamina puede ser internalizada por las células a través de un receptor específico y representa la fracción biológicamente activa, ha fomentado el concepto de que la medición de HoloTC podría ser de mayor significancia clínica que la medición de la vitamina total.

Se ha propuesto además a la HoloTC como un marcador precoz de la deficiencia debido a que posee una semivida más corta respecto a la HoloHC circulante. En 1994, Victor Herbert propuso un modelo de estratificación de la deficiencia de esta vitamina, donde los niveles de HoloTC serían los primeros en descender durante el balance negativo temprano.

En múltiples estudios de investigación clínica, el ensayo de HoloTC mostró mejores características de sensibilidad y especificidad y un menor rango de incertidumbre (zona gris) que la medición de vitamina total. Además demostró ser más apropiado para la evaluación del estado de vitamina B12 en mujeres embarazadas, ya que no sufre variaciones fisiológicas durante dicho período.

Hasta el momento, se desconoce el comportamiento de holohaptocorrina frente a patologías que involucran errores congénitos del metabolismo intracelular de la vitamina (deficiencias de cobalamina A-J). Actualmente, la implementación del ensayo HoloTC representa una herramienta complementaria importante a la batería de biomarcadores disponibles para la evaluación del estado de vitamina B12. Es un parámetro que presenta potencial como futuro marcador de primera línea para el diagnóstico de la deficiencia de vitamina B12, pero aún requiere de investigación adicional.

Conflictos de interés: Los autores declaran no poseer conflictos de interés

Bibliografía

1. . Abbott Laboratories. ARCHITECT- Active B12 (Holotranscobalamina). 2015.
2. Nexo E. Holotranscobalamin, a marker of vitamin B-12 status: analytical aspects and clinical utility. American Journal of Clinical Nutrition. 2011.
3. Devalia V. Guidelines for diagnosis and treatment of cobalamin and folate disorders. British Journal of Haematology. 2014
4. Herrmann W. Utility and limitations of biochemical markers of vitamin B12 deficiency. European Journal of Clinical Investigation. 2013.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.