

CÁPSULAS EN MEDICINA DE LABORATORIO

www.traineecouncil.org

TÍTULO: Pruebas de laboratorio para vitaminas A y E

PONENTE: Sheng-Ying (Margaret) Lo

Diapositiva 1: Introducción

Mi nombre es Margaret Lo. Soy becaria de Química Clínica en la Universidad de Washington. Bienvenidos a esta Cápsula en Medicina de Laboratorio en "Pruebas de laboratorio para vitaminas A y E."

Diapositiva 2: Vitaminas

Las vitaminas son compuestos orgánicos necesarios en pequeñas cantidades para el crecimiento normal y la actividad del cuerpo. Se clasifican en función de su solubilidad relativa. Específicamente, las vitaminas A, D, E y K se agrupan como vitaminas liposolubles, mientras que las vitaminas B y C se agrupan como vitaminas hidrosolubles. Muchas vitaminas, como la A y E, no se pueden sintetizar en el cuerpo y se adquieren a través de la ingesta dietética. Una excepción es la vitamina D, donde las necesidades funcionales se satisfacen en parte por la vitamina D generada a partir de 7-dehidrocolesterol en la piel después de la exposición a la radiación ultravioleta (UV) de la luz solar. La deficiencia de todas las vitaminas puede conducir al desarrollo de enfermedades, y el sobreconsumo de muchas vitaminas, incluyendo la A y E, puede ser tóxico. Por lo tanto, el estado vitamínico se examina a menudo cuando se sospecha que cualquiera de los extremos del espectro nutricional. Para mejorar la evaluación de la ingesta de vitaminas y la demanda metabólica, los médicos con frecuencia dependen de las pruebas de laboratorio de las concentraciones plasmáticas o de vitaminas séricas, además de los síntomas clínicos y la historia dietética.

Diapositiva 3: Cuantificación de vitaminas A y E

Aunque las vitaminas A y E son clínicamente distintas, la medición de sus concentraciones séricas o plasmáticas se realiza con frecuencia de manera conjunta utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, *High-performance liquid chromatography* por sus siglas en inglés) acoplada al sistema de detección ultravioleta-visible (UV-VIS). Los métodos basados en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para la separación de las vitaminas A y E en

suero o plasma se desarrollaron a finales de la década de 1970 y reemplazaron rápidamente la cromatografía de capa delgada y la cromatografía de columna abierta. Desde entonces, una gran cantidad de literatura ha descrito los numerosos avances en la metodología de separación de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), así como las mediciones de varias combinaciones de formas de vitamina A y E en una variedad de tipos de muestras. Aquí, un ejemplo de separación cromatográfica entre los estándares de vitaminas A y E en una columna HPLC de fase inversa detectada mediante el detector ultravioleta-visible (UV-VIS) se muestra a la izquierda. Esta separación bien definida permite cuantificar convenientemente las concentraciones de vitaminas A y E en un paciente a partir de una sola corrida analítica que se muestra a la derecha. En comparación con los métodos analíticos anteriores, los ensayos basados en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) han incrementado su especificidad así como han reducido el límite inferior de detección y mejorado la precisión y reproducibilidad. Además de la separación cromatográfica de las vitaminas A y E, también se han mejorado los sistemas de detección. En algunas pruebas, se ha implementado un detector de matriz de diodos (DAD, *diode array detector* por sus siglas en inglés) en lugar del detector ultravioleta-visible (UV/VIS) de un solo canal convencional. A diferencia de los sistemas de detección ultravioleta-visible (UV/VIS) convencionales en los que la rejilla de difracción se coloca delante de la muestra para seleccionar una sola entrada de longitud de onda, el sistema de diodos (DAD, *diode array detector* por sus siglas en inglés) coloca la rejilla de difracción detrás de la muestra para permitir la detección de una amplia gama de longitudes de onda simultáneamente por una matriz de fotodiodos. La ventaja del sistema de diodos (DAD) es que puede proporcionar información más allá del tiempo de retención, como la pureza máxima, que puede ser ventajoso para analizar múltiples analitos. Más recientemente, muchos laboratorios clínicos están desarrollando y evolucionando a sistemas de detección basados en espectrometría de masas para mejorar aún más la sensibilidad y especificidad de las pruebas existentes de vitaminas A y E.

Diapositiva 4: Consideraciones pre-analíticas para las pruebas de laboratorio para vitaminas A y E

Si bien las pruebas de laboratorio basadas en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) han mejorado la capacidad analítica de los laboratorios clínicos para cuantificar las vitaminas A y E, existen algunos problemas pre-analíticos que podrían afectar la interpretación de los resultados. Por ejemplo, las concentraciones de las vitaminas A y E en suero/plasma pueden verse alteradas por la ingesta de ciertos alimentos. Muchos laboratorios, por lo tanto, implementan una política de recolección que incluye el ayuno durante 12-14 horas y la abstinencia del consumo de alcohol durante 24 horas. Además, dado que las vitaminas A y E son fotolábiles, a menudo se recomienda la protección de la luz durante la recolección de muestras, el transporte y el almacenamiento para evitar resultados falsamente disminuidos. A continuación, discutiremos la utilidad clínica de las pruebas de la vitamina A y luego, las pruebas de la vitamina E.

Diapositiva 5: Vitamina A: Estructura

Vitamina A es el término general que describe un grupo de compuestos con un anillo de β -ionona y una cadena lateral isoprenoide conocidos como retinoides. Existen 4 retinoides naturales en animales y sus estructuras se muestran aquí. Tenga en cuenta que mientras los isómeros trans se representan aquí, los retinoides también pueden existir en los isómeros cis. A menos que se especifique lo contrario, el retinol mencionado a lo largo de esta presentación indica el todo-trans-retinol. El retinol es la forma circulatoria dominante y se puede oxidar para formar retinal y ácido retinoico. El retinol es también la forma predominante de la vitamina A cuantificada para evaluar el estado de la vitamina A. Los ésteres de retinilo, particularmente palmitato de retinilo representado aquí, son las principales formas de almacenamiento. Aunque no son predominantes, algunos laboratorios clínicos cuantifican el palmitato de retinilo con retinol para medir las reservas hepáticas de vitamina A. La vitamina A se adquiere de 2 fuentes: productos animales o frutas y verduras. Los productos animales proporcionan retinoides o vitamina A preformadas con ésteres de retinilo como la forma principal. Las frutas y verduras proporcionan carotenoides o provitamina A con β caroteno como la forma principal. Los carotenoides, que son precursores de retinoides, no tienen actividad de vitamina A hasta que se dividen biológicamente en retinoides.

Diapositiva 6: Vitamina A: Metabolismo

Una vez ingerida, la vitamina A preformada emulsionada y la provitamina A se someten a 2 vías iniciales diferentes. A la izquierda, tenemos la absorción de la vitamina A preformada, o retinoides, que tienen una eficiencia de absorción de alrededor del 70-90%. Dentro de la célula intestinal, la vitamina A preformada se hidroliza a retinol y luego es re-esterificada y se transporta al hígado para su almacenamiento a través de quilomicrones. A la derecha, tenemos la absorción de la provitamina A, o carotenoides, que tienen una eficiencia de absorción de alrededor del 9-22%. Dentro de la célula intestinal, la provitamina A debe convertirse en retinol antes de que pueda ser utilizada. Esta conversión está altamente regulada y depende del estado de la vitamina A.

Una vez que llega al hígado, la vitamina A se almacena en células estelares pancreáticas principalmente como palmitato de retinilo. Alrededor del 50-85% de la vitamina A se almacena en el hígado, y en adultos sanos, estas reservas puede representar 1-2 años de suministro. La vitamina A también se puede movilizar desde el hígado a otros tejidos para satisfacer las demandas metabólicas. Para evitar la pérdida por filtración glomerular durante esta etapa de transporte, el retinol secretado por el hígado se une tanto a la proteína de unión al retinol (RBP, *retinol binding protein* por sus siglas en inglés) como a la transtiretina (TTR, *transthyretin* por sus siglas en inglés) en un complejo 1:1:1. Por último, la vitamina A se excreta a través de las heces y la orina del cuerpo después de su conjugación u oxidación.

Diapositiva 7: Vitamina A: Función

La vitamina A tiene una variedad de funciones pero su participación en el ciclo de la visión es la mejor caracterizada. En la retina, 11-cis-retinal puede formar un complejo con la proteína de membrana opsina para generar pigmentos fotosensibles, específicamente, rodopsina en los bastones y yodopsina en los conos. La iluminación de la luz provoca entonces la fotoisomerización de 11-cis-retinal a todo-trans-retinal, lo que conduce a un gran cambio conformacional en opsina que resulta en la fototransducción. Más allá de este importante papel, la vitamina A también es conocida por regular el crecimiento y la diferenciación del tejido epitelial, la reproducción y el desarrollo embrionario. Estas funciones están mediadas a través de la unión del ácido retinoico con receptores de ácido retinoico (RARs, *retinoic acid receptors*, por sus siglas en inglés) o receptores de retinoides X (RXR, *retinoic X receptor*, por sus siglas en inglés) en el núcleo. Una vez activados, estos receptores controlan la expresión génica dirigida mediante la unión a secuencias de ADN específicas que codifican proteínas estructurales, enzimas, proteínas de matriz extracelular, receptores y la proteína de unión al retinol (RBP, *retinol binding protein*, por sus siglas en inglés). Además, la vitamina A también se ha demostrado que desempeña un papel en la remodelación ósea y la inmunidad.

Diapositiva 8: Vitamina A: Deficiencia y toxicidad

La deficiencia de vitamina A debido a la desnutrición es muy común en países con recursos limitados, pero rara vez se observa en los Estados Unidos. En los Estados Unidos, las poblaciones en riesgo de deficiencia incluyen bebés prematuros, ya que la acumulación hepática de vitamina A no ocurre hasta el tercer trimestre, y en las personas con malabsorción de grasa debido a la enfermedad celíaca, el síndrome del intestino irritable, la enfermedad de Crohn y la pancreatitis crónica. Individuos con enfermedad hepática también están en riesgo debido a la disminución de la síntesis de la proteína de unión al retinol (RBP, *retinol binding protein* por sus siglas en inglés). Esta condición puede ser exacerbada aún más con el abuso de alcohol, lo que conduce a la lesión hepática y bloqueo de la formación de ácido retinoico, que requiere alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa.

Existen muchos síntomas clínicos de deficiencia de vitamina A y la mayoría de ellos se pueden revertir con suplementos de vitamina A. Entre los síntomas clínicos, la ceguera nocturna es con frecuencia el primer indicador de deficiencia seguido por el desarrollo de manchas de Bitot, que son pequeñas lesiones espumosas de color gris claro en la conjuntiva que significan cambios oculares que pueden conducir a la ceguera.

Además de la deficiencia, ingerir el exceso de vitamina A preformada puede ser tóxico. La toxicidad aguda es poco frecuente y la mayoría de los casos de toxicidad de la vitamina A se deben a la ingestión crónica. El tratamiento para la toxicidad de la vitamina A consiste en suspender los suplementos y restringir los alimentos ricos en vitamina A preformados, así como otros cuidados de apoyo cuando se indique. Debido a que el metabolismo de la provitamina A está estrechamente regulado, la ingesta de grandes cantidades de carotenoides puede causar

carotenemia o coloración amarillenta de la piel que se cree que no es tóxico, excepto en algunas circunstancias raras. Por ejemplo, el uso suplementario de la cantaxantina carotenoide se asocia con retinopatía. Además, el uso suplementario de betacaroteno que inicialmente se pensó era beneficioso para la prevención del cáncer no se recomienda en fumadores y trabajadores de asbesto, ya que aumenta el riesgo de cáncer de pulmón y gástrico.

Diapositiva 9: Evaluación alternativa de la vitamina A

Como se mencionó al principio de esta presentación, cuantificar la concentración de suero o retinol plasmático es el método de laboratorio más común utilizado para examinar el estado de la vitamina A. Sin embargo, las concentraciones de retinol no son indicadores ideales o sensibles de deficiencia porque el retinol circulante no disminuye hasta que las reservas hepáticas se agotan críticamente. Para tener en cuenta esto, se han utilizado pruebas de respuesta a la dosis. Para esta prueba, se recolectan dos muestras del paciente antes y 5 horas después de administrar una dosis fisiológica de vitamina A. Las personas con deficiencia de vitamina A tendrán un aumento rápido, grande y sostenido en las concentraciones de retinol circulante detectadas en el punto de tiempo de 5 horas. Esto contrasta con los pacientes que tienen suficientes reservas de vitamina A, donde se observa un aumento mucho más bajo y menos intenso. Esta prueba se basa en el principio de que la proteína apo-RBP se acumula en el hígado cuando las reservas de vitamina A se vuelven bajas. Por lo tanto, cuando se desafía con vitamina A, la proteína de unión al retinol (RBP) acumulada forma un complejo con el retinol y se libera rápidamente en el suero. Además del retinol, también se ha sugerido la medición de la proteína de unión al retinol (RBP) y la transtiretina (TTR) como marcadores sustitutos más rentables para evaluar el estado de la vitamina A. Sin embargo, dado que tanto la proteína de unión al retinol (RBP) como la transtiretina (TTR) son reactivos de fase aguda negativa, la medición de proteína C reactiva puede ser necesaria para distinguir entre las causas inflamatorias y nutricionales de la reducción de los niveles de proteína circulatoria. Además, las pruebas de la proteína de unión al retinol (RBP) pueden confundirse con proteínas dietéticas inadecuadas, energía o zinc que son necesarios para la síntesis de la proteína de unión al retinol (RBP).

Diapositiva 10: Vitamina E: Estructura

La vitamina E es el término general que describe tocoferoles y tocotrienoles de origen natural con un anillo de cromanol sustituido unido a una larga cadena lateral de fitilo. Las principales fuentes de vitamina E dietética son el aceite y las grasas, los granos y las nueces. Mientras que el tocoferol es la principal forma dietética de vitamina E, en cambio, la circulación de tocoferol es muy baja. Por lo tanto, en lugar de tocoferol, el tocoferol es la forma cuantificada por la mayoría de las pruebas de laboratorio para las vitaminas A y E. Por lo tanto, en lugar de γ -tocopherol, el α -tocopherol es la forma cuantificada por la mayoría de las pruebas de vitaminas A y E.

Diapositiva 11: Vitamina E: Metabolismo

La vitamina E, a diferencia de la vitamina A, se almacena principalmente en el tejido adiposo y no en el hígado. Una vez ingerida, la vitamina E emulsionada se absorbe de forma no selectiva

y llega al hígado a través de quilomicrones. En el hígado, el α -tocoferol se incorpora selectivamente en lipoproteínas de muy baja densidad por la proteína de transferencia del tocoferol (α -TTP) y se secreta en la circulación para necesidades funcionales o de almacenamiento, mientras que otras formas se metabolizan y se excretan a través de la bilis o la orina. Por lo tanto, el α -tocoferol se considera la forma bioactiva primaria de la vitamina E. Sin embargo, es importante señalar que el aumento del consumo de γ -tocoferol puede cambiar el equilibrio de γ -tocoferol de la excreción a la incorporación de lipoproteínas. Por lo tanto, algunos laboratorios ofrecen pruebas para el γ -tocoferol como parte de un panel de vitamina E con α -tocoferol, ya que la contribución del γ -tocoferol a la reserva general de vitamina E todavía puede ser significativa.

Diapositiva 12: Vitamina E: Función

Hasta la fecha, nuestra comprensión sobre la función de la vitamina E es incompleta. La función más reconocida actualmente de la vitamina E es como un antioxidante y radical libre que protege los fosfolípidos poliinsaturados de la peroxidación. Esta función, sin embargo, requiere acción sinérgica con la vitamina C, que regenera la vitamina E a partir de los radicales de la vitamina E. La vitamina E también es importante para mantener la función neurológica normal y en la prevención de la hemólisis de glóbulos rojos. Mientras que el estado de la vitamina E se puede evaluar utilizando métodos funcionales tales como la protección de la hemólisis de eritrocitos por peróxido y la inhibición de los productos de peroxidación lipídica, este enfoque de prueba rara vez se implementa en el laboratorio clínico.

Diapositiva 13: Vitamina E: Deficiencia y Toxicidad

La deficiencia de vitamina E es poco frecuente. Individuos con malabsorción de grasa causada por enfermedad celíaca, enfermedad de Crohn, pancreatitis crónica, fibrosis quística, y colestasis crónica están en riesgo de deficiencia de vitamina E. Además, las personas con trastornos genéticos hereditarios, como mutaciones en los genes de la proteína de transferencia de α -tocoferol (α -TTP) o lipoproteína B, pueden desarrollar una deficiencia debido a la incapacidad para transportar vitamina E absorbida desde el hígado. Los bebés prematuros y de bajo peso al nacer están particularmente en riesgo de esta deficiencia porque tienen menos tejido adiposo. Los síntomas de la deficiencia de vitamina E incluyen anemia, debilidad muscular y problemas de visión. La toxicidad de la vitamina E se debe típicamente al uso excesivo de suplementos, con el efecto más significativo que afecta a la coagulación de la sangre. Cabe señalar que la caracterización de la toxicidad de la vitamina E no está bien establecida.

Diapositiva 14: Intervalos de referencia de vitaminas A y E

Para concluir esta presentación, esta diapositiva muestra un ejemplo de intervalos de referencia establecidos para el retinol, el palmitato de retinilo, el α -tocoferol y el γ -tocoferol en suero o plasma. En general, la concentración sérica o plasmática esperada de vitamina E es generalmente 10 veces mayor que la vitamina A. Dado que muchos estudios de referencia pediátrica han reportado una correlación positiva entre la edad y el retinol o el α -tocoferol, los

laboratorios suelen establecer intervalos de referencia específicos por edad. Si bien no existe una directriz específica que proporcione el límite sérico o plasmático para lo que constituye una concentración deficiente de vitamina E, la Organización Mundial de la Salud recomienda la clasificación de la deficiencia de vitamina A cuando la concentración sérica de retinol está por debajo de 200 ng/mL. En resumen, las pruebas de las vitaminas A y E se indican cuando surgen síntomas de deficiencia o toxicidad y también se pueden utilizar para ayudar en la evaluación de la malabsorción lipídica.

Diapositiva 15: Referencias

Las referencias de la presentación se muestran en esta diapositiva.

Diapositiva 14: Declaraciones

Las declaraciones y/o posibles conflictos de interés se muestran en esta diapositiva.

Diapositiva 15: Gracias en nombre de www.TraineeCouncil.org

Gracias por acompañarme en esta Cápsula en Medicina de Laboratorio en "Pruebas de las vitaminas A y E". Soy Margaret Lo.