

Aplicación actual de la prueba de liberación de Calcitonina. Por Dr. Eduardo Pusiol

Desde el punto de vista bioquímico, en el diagnóstico y seguimiento de un tumor maligno resulta ideal contar con un marcador específico que indique la presencia y el crecimiento de las células neoplásicas. Por ejemplo el CEA, de amplio uso, es producido inespecíficamente por células neoplásicas de distintos órganos o tejidos y se utilizan para el seguimiento de diferentes neoplasias. Sin embargo, son más útiles los marcadores específicos de determinados tipos celulares, cuya presencia marca indefectiblemente la existencia de los mismos. Lamentablemente son pocos los tumores cuyas células secretan sustancias específicas.

El carcinoma medular de tiroides (CMT) comprende aproximadamente del 5 al 10% de todos los cánceres tiroideos y se origina por una transformación neoplásica de las células parafoliculares tiroideas o células C. Se presenta en forma no hereditaria o hereditaria. Las células C poseen una elevada actividad biosintética dada por la producción de una gran variedad de péptidos hormonales y no hormonales. Algunos de ellos son de síntesis específica en estas células, como la calcitonina (CT), y otros son péptidos no específicos como el CEA, ACTH, etc. La CT es un péptido antihipercalcemiante cuya secreción es estimulada por una variedad de secretagogos, entre los que se encuentran el calcio iónico (Ca) y la pentagastrina (PG), que es un derivado sintético de la gastrina y constituye el secretagogo más potente en uso para la liberación de CT. Cuando un sujeto es sometido al estímulo agudo endovenoso de calcio iónico, pentagastrina o la combinación de ambos, se produce la liberación inmediata de CT a la circulación desde las células C.

Esta prueba combinada de estimulación de Ca+PG, de gran sensibilidad y especificidad, constituyó durante años el método utilizado para el diagnóstico precoz del cáncer medular de tiroides hereditario en familias afectadas.

Un hito importante en el diagnóstico del CMT hereditario se produjo en 1993, cuando Donis-Keller y Mulligan propusieron, casi simultáneamente, que mutaciones en el protooncogén RET eran las responsables de su aparición. La detección de las mutaciones que provocan la aparición de esta enfermedad permite la identificación de los individuos afectados desde el mismo momento del nacimiento.

La irrupción de la Biología Molecular significó el desplazamiento de la prueba de estímulo para el diagnóstico precoz, pero afirmó el concepto de que el seguimiento del paciente tratado debe necesariamente monitorearse a través del estímulo de CT, ya que significa el mejor marcador de la proliferación de células C.

En el CMT esporádico, que constituye la mayoría de los cánceres medulares, la CT basal elevada es la herramienta utilizada para confirmar la citología del nódulo sospechoso y la respuesta a la prueba de estímulo combinado con Ca y PG, para el seguimiento de los individuos tratados quirúrgicamente. Es también el modo de controlar la presencia de recidivas y metástasis en cualquier tipo de CMT.

En nuestra experiencia, la prueba no presenta complicaciones serias para el paciente y realizada en forma estandarizada es altamente reproducible y confiable.

Como conclusión, la posibilidad del diagnóstico molecular de portadores de CMT hereditario ha beneficiado enormemente a las familias afectadas, y se complementa perfectamente con la prueba de estímulo de CT con Ca y PG que permite monitorizar de forma sensible la aparición y proliferación de células C. La combinación de ambas es condición necesaria para un adecuado diagnóstico y seguimiento en familias afectadas de CMT familiar. Para el caso del CMT

esporádico, la prueba de estimulación de liberación de CT es una herramienta de relativa utilidad para el diagnóstico, pero fundamental en el seguimiento posterior al tratamiento quirúrgico.

Determinación de Calcitonina

Existen en el mercado distintos equipos para la determinación de CT. Los valores abajo descriptos que se encontraron en los individuos sometidos a la prueba, fueron realizados desde el año 1988, en que comencé a realizarla, a través de un método competitivo, el radioinmunoanálisis (RIA), por razones de factibilidad de obtención para su uso en ese momento.

La aparición en nuestro medio de métodos inmunométricos no competitivos para la evaluación de la CT, tales como IRMA (inmunoradiometría) de mayor sensibilidad, significó en nuestro grupo el dilema de comenzar a aplicar este nuevo método. La definición para seguir aplicando el RIA se basó en la seguridad adquirida en la determinación de los valores normales de referencia por este método, tanto para resultados basales como tras estimulación combinado con calcio y pentagastrina. Afirmaba nuestra determinación la semejanza que encontramos con los valores que exponía Samuel Wells JR. Los valores de referencia en sujetos normales, para el método de RIA aplicado, se obtuvo de las respuestas que presentaron los individuos libres del NEM 2A y sometidos al estudio de la prueba de estimulación.

Efectos adversos de la prueba

Los pacientes no han mostrado respuestas adversas severas a la administración de los secretagogos en las dosis calculadas. La administración intravenosa de calcio y pentagastrina puede producir sensación de sofocación, náuseas y en algunos casos molestias en la garganta, pero todos los efectos declinan rápidamente luego del primer minuto del estímulo. Se observa un ligero descenso de la presión arterial y un aumento moderado del ritmo cardíaco en el transcurso de la prueba que generalmente se restituyen a valores iniciales dentro de los 5 minutos de terminado el procedimiento y los pacientes no presentan complicaciones posteriores. Otras reacciones descritas, pero raramente observadas por nosotros, son palpitaciones y vómitos. Como todo agente intravenoso no es descartable una reacción alérgica. La prueba no se realizó en pacientes con conocida úlcera péptica, embarazadas o con fiebre. No hubo diferencias en la sintomatología clínica a la prueba entre individuos con respuestas normales y aquellos con elevación anormal de CT al estímulo.

Respuestas en individuos no afectados de CMT

Las pruebas realizadas a un total de 20 individuos sin mutaciones en el protooncogén RET, obtuvieron valores basales de CT menores a 50 pg/ml (16,86 - 10,95 pg/ml) (mediana de 28 pg/ml, percentil 10 y percentil 90 correspondientes a 12 pg/ml y 43 pg/ml respectivamente). Algunos individuos presentaron una clara respuesta de estimulación de CT, sin embargo los valores máximos no superaron los 200 pg/ml (26,94 - 39,44 pg/ml), salvo un individuo varón (14 y 15 años de edad al momento de las pruebas), que durante dos años sucesivos superó este valor y llegó a 220 pg/ml de CT en su máxima respuesta, para luego decaer en los siguientes años. En otros, por el contrario, los valores de CT no se incrementaron con el estímulo.

Respuestas en el seguimiento de individuos tiroidectomizado

Las respuestas que encontramos en el seguimiento de pacientes, afectados por la enfermedad y tratados por tiroidectomía, son de variada índole y los mostramos como ejemplo de resultados factibles de obtener:

i) Valores de CT basal y post-estímulo no detectables por los métodos de RIA empleados, es decir una respuesta plana. En este grupo se encuentran, individuos que fueron diagnosticados por la prueba de estímulo de CT, por biología molecular y por citología. Ninguno de estos pacientes presenta manifestaciones clínicas sugestivas de la enfermedad tras aproximadamente 15 años de seguimiento.

ii) Basal de CT normal y respuesta discretamente elevada tras estímulo (200-300 pg/ml) y estable a lo largo del tiempo. Esta paciente, con tumor cervical palpable, fue intervenida en otro centro de tratamiento y se le efectuó tiroidectomía total, sin vaciamiento ganglionar compartamental ni mediastinal superior. Fue derivada para su seguimiento a nuestra institución y presentó un examen clínico negativo, pero dado el resultado de la prueba de estímulo de CT, se le propuso el vaciamiento ganglionar, conducta que la paciente rechazó.

iii) Basales de CT normales pero respuesta patológica a la prueba de estímulo con valores mayores a 1.500 pg/ml. Durante el seguimiento, los valores de CT basal y post estímulo fueron aumentando. En el año 1999 esta paciente presentó valores basales de CT de 5.500 pg/ml y respuesta mayor de 30.000 pg/ml de CT tras estímulo. El examen clínico, radiografía de tórax, ecografía y tomografía axial computada de abdomen, fue negativo. En el año 2001 de forma casual en el transcurso de una cirugía abdominal, se detectó la presencia de siembra miliar hepática (lesiones de 2 a 3 mm). No se propuso tratamiento, dado que las lesiones no eran accesibles a la cirugía y los tratamiento sistémicos no han demostrado ser efectivos a la fecha.

iv) Basal de CT mayor de 1.500 pg/ml y respuestas mayores de 18.000 pg/ml tras estímulo en su primera evaluación post quirúrgica en el año 1989. La enferma presentaba recurrencia a nivel de mediastino superior con compromiso de la pleura visceral derecha y esternón. Se consideró la lesión inextirpable y se trató con radioterapia, obteniéndose una respuesta parcial. Se repitió la prueba al año siguiente con resultados similares. A partir de 1991 sólo se evalúa CT basal y CEA. En 1999 la CT basal fue de 45.000 pg/ml de CT. El valor del CEA al comienzo era de 16,0 ng/ml y en el año 1999 alcanzó los 92,0 ng/ml. En este caso el valor del CEA ha mostrado una progresión paralela al aumento de calcitonina.

Prueba de estimulación de CT por estímulo combinado de Ca y Pentagastrina (PG)

Trabajos de Samuel Wells JR et al muestran una mayor sensibilidad y especificidad a la hipersecreción de CT por esta técnica, comparada con otras tres opciones: pentagastrina sola, calcio solo e infusión de 10 minutos de cloruro de calcio.

Al paciente en ayunas y en posición decúbito dorsal, se le coloca E.V. una mariposa unida a una llave de tres vías heparinizada. Se toma una muestra de sangre basal y a los 5 minutos se toma una segunda muestra basal. Inmediatamente se inyectan 2 mg/kg de peso de solución al 10% de gluconato de calcio (0,93 mg/kg de peso de calcio iónico) en 1 minuto. Seguidamente se administran 0,5 g/kg de peso de pentagastrina en 5 segundos. Se utiliza Peptavlon, ICI Pharmaceutical 250 g/ml diluida 1/15 en solución fisiológica (concentración final 16,7g/ml). Se comienza el conteo y se toma sangre a los tiempos de 1, 2, 3 y 5 minutos post-estímulo. La sangre se recibe en tubos heparinizados en frío. Se centrifuga y se separa el plasma que se congela a 4°C hasta el procesamiento de la calcitonina en cada tiempo.

Cinética de la liberación de CT

Los valores máximos de CT plasmática se registran entre 1 y 3 minutos después de la aplicación del estímulo. Al minuto 5 observamos una caída de la concentración plasmática de CT. No hubo una diferencia significativa en la cinética de secreción entre los individuos normales no afectados por el CMT y los afectados con CMT poco desarrollado.

Los individuos afectos de CMT y que presentan CT basal alterada e hiperrrespuesta al estímulo (mayor a 1.500 pg/ml), presentan un pico de liberación al primer minuto que se mantiene en niveles muy elevados a través de los cinco minutos. Dado que no se realizaron diluciones de las muestras obtenidas, no se determinaron los valores exactos alcanzados ni su tendencia con el tiempo, los que probablemente, también coincidan con una máxima liberación de calcitonina en los minutos 1 y 3 de la prueba.

Eduardo Pusiol

Doctor en Bioquímica

Vicepresidente de la Federación Argentina de Sociedades de Endocrinología

pusiol.eduardo@fcm.uncu.edu.ar