

Vitamina B₁₂ activa (holotranscobalamina)

Active vitamin B-12 (holotranscobalamin)

Código SCPC (Sociedad Colombiana de Patología Clínica): 20040. **Código CUPS (Codificación Única de Procedimientos en salud):** No aplica. **Sección:** química clínica. **Nivel de complejidad:** alto. **Metodología:** inmunoensayo quimioluminiscente de macropartículas (CMIA). **Sinónimos:** holotranscobalamina

Definición

La prueba de la vitamina B₁₂ activa (holotranscobalamina) es un inmunoensayo quimioluminiscente de macropartículas (CMIA) para la determinación cuantitativa de la holotranscobalamina en suero, como ayuda para el diagnóstico y tratamiento de la deficiencia de vitamina B₁₂ [1].

Espectro clínico de aplicación

La vitamina B₁₂ (cobalamina) es una metaloenzima esencial para el metabolismo de aminoácidos y, en particular, para la síntesis del ADN mediante la conversión del metiltetrahidrofolato a tetrahidrofolato [2,3]. Esta vitamina no se sintetiza en el cuerpo humano sino que es tomada de la dieta a partir de productos como las carnes y los lácteos. La vitamina B₁₂ en el suero se encuentra unida a las proteínas transcobalamina y haptocorrina, siendo el complejo formado por la vitamina B₁₂ y la transcobalamina conocido como holotranscobalamina y por la vitamina B₁₂ y la haptocorrina como holohaptocorrina [4,5].

La holotranscobalamina contiene aproximadamente el 30% de la vitamina B₁₂ circulante y representa la vitamina B₁₂ biológicamente activa, la cual es transportada a todas las células e ingresa a través de un receptor específico, el CD320 [4-6]. La deficiencia congénita y las alteraciones genéticas de la transcobalamina conducen a deficiencia de vitamina B₁₂ poco después del nacimiento y se manifiestan clínicamente con afecciones hematológicas, neurológicas y metabólicas propias de la deficiencia de esta vitamina, las cuales requieren tratamientos agresivos incluso cuando el valor sérico de la vitamina B₁₂ se encuentra normal [6-10]. Entretanto, la vitamina B₁₂ unida a haptocorrina, a pesar de que representa alrededor del 80% de la vitamina B₁₂ circulante, se considera metabólicamente inerte debido a que no existen receptores celulares para su captación en los tejidos, excepto en el hígado [2]; además, la deficiencia genética de la haptocorrina es poco común y no se considera grave [2,11].

La holotranscobalamina circulante presenta una vida media aproximadamente de 1-2 h, mucho más corta que la de la holohaptocorrina que dura varios días, y es rápidamente captada en los tejidos [5,6]. La holotranscobalamina se ha encontrado como uno de los

primeros marcadores de deficiencia de vitamina B₁₂ [12,13], con un mejor desempeño para detectar la deficiencia que la medición sérica de vitamina B₁₂ total [4,12,14-17], cuyos niveles corresponden en mayor parte a la vitamina B₁₂ unida a la haptocorrina. Además, se ha demostrado la correlación de los niveles de holotranscobalamina con los de vitamina B₁₂ [2,16]; no obstante, en algunos casos pueden presentarse niveles bajos de holotranscobalamina en presencia de valores altos de vitamina B₁₂ [16].

La deficiencia de vitamina B₁₂ en la población joven se encuentra entre el 5% y el 7% mientras que la deficiencia funcional de esta vitamina, establecida por niveles bajos de holotranscobalamina, es común en los ancianos y se ha encontrado en el 10% al 30% de los individuos mayores de 65 años. Los grupos de riesgo que se han establecido para la deficiencia de vitamina B₁₂ incluyen: pacientes con anemia de origen desconocido, con síntomas neuropsiquiátricos inexplicables, con manifestaciones gastrointestinales (p. ej. esomatitis, anorexia y diarrea), personas de edad avanzada, vegetarianos, pacientes con trastornos gastrointestinales (p. ej. enfermedad de Crohn o infección con *Helicobacter pylori*) y los pacientes con resección de estómago, entre otros [18], en los cuales se requiere evaluar el estado de la vitamina B₁₂ y la medición de la holotranscobalamina podría ayudar a establecer la deficiencia.

Los valores de holotranscobalamina se han registrado disminuidos en individuos con signos bioquímicos de deficiencia de vitamina B₁₂ [15,19]; además, en aquellos con riesgo de sufrirla como los vegetarianos [12,20], los veganos [21], los ancianos [17] y las personas con bajo consumo de la vitamina [15]. De igual manera, en los pacientes con Alzheimer se han encontrado concentraciones de holotranscobalamina reducidas, sin cambios en los niveles de vitamina B₁₂, en comparación con individuos sanos [22]. Contrariamente, las concentraciones de holotranscobalamina han demostrado ser mayores en los sujetos con creatinina elevada en comparación con aquellos con valores disminuidos de creatinina [16], por lo cual es importante tener en cuenta el estado renal del individuo para la interpretación de los resultados y el establecimiento del diagnóstico de deficiencia de vitamina B₁₂ [18].

Actualmente, se disponen de nuevos métodos basados en anticuerpos monoclonales específicos de la transcobalamina para el diagnóstico de la deficiencia de vitamina B₁₂ [4], en los cuales las concentraciones de holotranscobalamina determinadas reflejan el estado de la vitamina B₁₂ independiente de la absorción reciente de la vitamina [23]. Además, el desarrollo de métodos automatizados para evaluar los niveles de holotranscobalamina he hecho posible que los estudios de tamizaje puedan ser realizados a gran escala. De esta manera, el efecto costo-beneficio de la detección temprana de la deficiencia de vitamina B₁₂ mediante el uso de holotranscobalamina anticipa que pronto reemplazará a la medición de la vitamina B₁₂ como un parámetro de laboratorio de primera línea para el tamizaje de la deficiencia de vitamina B₁₂ [18].

Fundamento

El ensayo de vitamina B₁₂ activa (holotranscobalamina) es un inmunoanálisis de dos pasos que utiliza la tecnología de inmunoensayo quimioluminiscente de macropartículas (CMIA) para la determinación cuantitativa de holotranscobalamina en suero humano [1].

En el primer paso se combina la muestra con las micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpos antiholotranscobalamina, los cuales se unen a la holotranscobalamina presente en la muestra. En el segundo paso, luego de un lavado, se añade el conjugado de anticuerpos monoclonales de ratón antiholotranscobalamina marcados con acridinio. Tras otro ciclo de lavado se incluyen las soluciones preactivadora (peróxido de hidrógeno) y activadora (hidróxido de sodio) y la reacción quimioluminiscente resultante se mide en unidades relativas de luz (URL) [1].

Las unidades relativas de luz detectadas en el sistema óptico del equipo son directamente proporcionales a la cantidad de holotranscobalamina presente en la muestra [1].

Preparación del paciente y manejo de las muestras

Preparación del paciente

El paciente requiere de un ayuno de 12 h.

Tipo de muestra

Suero humano recolectado en tubos secos (tapa roja) o con separador (tapa amarilla) [1].

Manejo y conservación de las muestras

Las muestras se pueden almacenar con o sin el coágulo durante máximo 16 h a temperatura ambiente o hasta por tres días entre 2 °C y 8 °C. En caso de que el análisis tome más de tres días en realizarse se debe retirar el coágulo del suero y almacenar este último a una temperatura menor o igual que -20 °C por un período máximo de seis meses [1].

Las muestras congeladas se deben descongelar por completo antes de ser mezcladas. Una vez descongeladas se mezclan en un agitador de tubos tipo Vortex a baja velocidad o por inversión 10 veces. En caso de observarse capas o estratificación se debe continuar mezclando hasta que las muestras estén visiblemente homogéneas. Las muestras no se deben someter a más de tres ciclos de congelación/descongelación [1].

Antes del análisis, si las muestras contienen fibrina, eritrocitos u otras partículas en suspensión o han sido congeladas y descongeladas, deben transferirse a tubos de centrifuga y centrifugarse durante 10 minutos a más de 10.000 g. Las muestras lipémicas deben transferirse a una copa de muestra o a un segundo tubo procurando tomar solo la porción clarificada de la muestra sin el material lipídico [1].

Para el análisis dispense la muestra aclarada en una copa de muestra o un segundo tubo [1].

El transporte de muestras se recomienda realizarla sin el coágulo y preparadas y etiquetadas de acuerdo a las normativas vigentes para el transporte de muestras y sustancias infecciosas, a una temperatura entre 2 °C y 8 °C (con hielo) o congeladas (con hielo seco), sin sobrepasar los tiempos de almacenamiento mencionados previamente [1].

Valores esperados

Los valores esperados en muestras de suero para el ensayo de vitamina B₁₂ activa (holotranscobalamina) en los sistemas de ARCHITECT i 2000_{SR} son: 25,1 pmol/L a 165,0 pmol/L [1].

Interpretación de resultados

Los niveles de holotranscobalamina por debajo de 25,1 pmol/L son indicativos de una deficiencia de transcobalamina, condición que da lugar a síntomas graves en la primera infancia y que debe ser diagnosticada lo antes posible para evitar daños permanentes en esta población.

Teniendo en cuenta que los niveles de transcobalamina reflejan el estado de vitamina B₁₂, un valor por debajo del intervalo de referencia sugiere una deficiencia de vitamina B₁₂ [4], la cual se debe correlacionar con los hallazgos hematológicos y neurológicos, la información sobre la ingesta de vitamina B₁₂ y con la presencia de falla renal [24], condición clínica en la que generalmente se encuentran aumentados los niveles de holotranscobalamina a pesar de la deficiencia de vitamina B₁₂ característica en estos individuos [18,25].

Los niveles de holotranscobalamina se pueden encontrar normales en los pacientes con anemia perniciosa luego de la corrección de la deficiencia de vitamina B₁₂, aunque sus valores continúan siendo menores respecto a las personas sanas [23], lo que sugiere una influencia independiente del estado de absorción de la vitamina B₁₂ sobre los valores de la holotranscobalamina.

Interferentes

Las muestras inactivadas con calor, mezcladas, intensamente hemolizadas, con contaminación microbiana evidente, con fibrina, eritrocitos o partículas en suspensión no se deben utilizar pues pueden arrojar resultados alterados [1].

Las muestras de suero de pacientes con tratamientos anticoagulantes o terapia trombolítica pueden contener fibrina, debido a la formación incompleta del coágulo, la cual interfiere con los resultados [1].

Las muestras no deben tener burbujas. En caso de presentarse se deben retirar con un palillo antes del análisis [1].

Las muestras no homogéneas pueden dar resultados inconsistentes [1].

Las muestras con concentraciones de bilirrubina, hemoglobina, proteínas totales, triglicéridos y factor reumatoide mayores que 20 mg/dL, 200 mg/dL, 10 g/dL, 850 mg/dL y 70 UI/mL, respectivamente, pueden interferir con los resultados del ensayo de la vitamina B₁₂ activa (holotranscobalamina) de los sistemas de ARCHITECT i 2000_{SR} [1].

Las muestras de pacientes que han recibido preparados de anticuerpos monoclonales de ratón con fines diagnósticos o terapéuticos pueden contener anticuerpos humanos antiratón que alteran los resultados del ensayo [1].

Los anticuerpos heterófilos presentes en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas del reactivo de la prueba e interferir con el ensayo *in vitro*. Los individuos que están en contacto habitual con animales o productos con suero de origen animal son propensos a presentar este tipo de interferencia y resultados alterados. En estos casos se requiere información adicional del paciente para establecer el diagnóstico [1].

Limitaciones

Los resultados de la prueba deben ser coherentes con los datos clínicos, en caso contrario se recomienda realizar otro análisis para confirmar los resultados [1].

Los resultados con fines diagnósticos se deben correlacionar con los síntomas, resultados de otros análisis, la impresión clínica, entre otros [1].

No se recomienda usar otro tipo de tubos ni de muestra a los especificados [1].

Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo de valores de referencia, según la población que atiende y los factores geográficos, de pacientes, de alimentación y medioambientales [1].

El ensayo de vitamina B₁₂ activa (holotranscobalamina) para los sistemas de ARCHITECT i 2000_{SR} está diseñado para tener un porcentaje de reactividad cruzada menor o igual al 10% con las proteínas apotranscobalamina y haptocorrina, a las que también se une la vitamina B₁₂, cuando se encuentran a concentraciones entre 250 pmol/L y 500 pmol/L, y entre 2.500 pmol/L y 5.000 pmol/L, respectivamente [1].

Bibliografía

1. **Abbott Laboratories.** ARCHITECT Active-B12 (Holotranscobalamina). Wiesbaden, Alemania; 2013.
2. **Al Aisari F, Al-Hashmi H, Mula-Abed WA.** Comparison between Serum Holotranscobalamin and Total Vitamin B12 as Indicators of Vitamin B12 Status. *Oman Med J* 2010; 25: 9-12.
3. **Solomon LR.** Disorders of cobalamin (vitamin B12) metabolism: emerging concepts in pathophysiology, diagnosis and treatment. *Blood Rev* 2007; 21: 113-130.
4. **Nexo E, Hoffmann-Lucke E.** Holotranscobalamin, a marker of vitamin B-12 status: analytical aspects and clinical utility. *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 359S-365S.
5. **Chatthanawaree W.** Biomarkers of cobalamin (vitamin B12) deficiency and its application. *J Nutr Health Aging* 2011; 15: 227-231.
6. **Quadros EV.** Advances in the understanding of cobalamin assimilation and metabolism. *Br J Haematol* 2010; 148: 195-204.
7. **Hakami N, Neiman PE, Canellos GP, Lazerson J.** Neonatal megaloblastic anemia due to inherited transcobalamin II deficiency in two siblings. *N Engl J Med* 1971; 285: 1163-1170.
8. **Teplitsky V, Huminer D, Zoldan J, Pitlik S, Shohat M, Mittelman M.** Hereditary partial transcobalamin II deficiency with neurologic, mental and hematologic abnormalities in children and adults. *Isr Med Assoc J* 2003; 5: 868-872.
9. **Hall CA.** Congenital disorders of vitamin B12 transport and their contributions to concepts. II. *Yale J Biol Med* 1981; 54: 485-495.
10. **Li N, Rosenblatt DS, Seetharam B.** Nonsense mutations in human transcobalamin II deficiency. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 204: 1111-1118.
11. **Markle HV.** Cobalamin. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1996; 33: 247-356.
12. **Herrmann W, Obeid R, Schorr H, Geisel J.** Functional vitamin B12 deficiency and determination of holotranscobalamin in populations at risk. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 1478-1488.
13. **Nexo E, Hvas AM, Bleie O, Refsum H, Fedosov SN, Vollset SE, et al.** Holo-transcobalamin is an early marker of changes in cobalamin homeostasis. A randomized placebo-controlled study. *Clin Chem* 2002; 48: 1768-1771.
14. **Woo KS, Kim KE, Park JS, Park JI, Han JY.** Relationship between the Levels of Holotranscobalamin

and Vitamin B12. *Korean J Lab Med* 2010; 30: 185-189.

15. **Miller JW, Garrod MG, Rockwood AL, Kushnir MM, Allen LH, Haan MN, et al.** Measurement of total vitamin B12 and holotranscobalamin, singly and in combination, in screening for metabolic vitamin B12 deficiency. *Clin Chem* 2006; 52: 278-285.
16. **Herrmann W, Obeid R.** Utility and limitations of biochemical markers of vitamin B12 deficiency. *Eur J Clin Invest* 2013; 43: 231-237.
17. **Valente E, Scott JM, Ueland PM, Cunningham C, Casey M, Molloy AM.** Diagnostic accuracy of holotranscobalamin, methylmalonic acid, serum cobalamin, and other indicators of tissue vitamin B(1)(2) status in the elderly. *Clin Chem* 2011; 57: 856-863.
18. **Herrmann W, Obeid R.** Holotranscobalamin – An Early Marker for Laboratory Diagnosis of Vitamin B12 Deficiency. *European Haematology* 2009; 3: 7-11.
19. **Obeid R, Jouma M, Herrmann W.** Cobalamin status (holo-transcobalamin, methylmalonic acid) and folate as determinants of homocysteine concentration. *Clin Chem* 2002; 48: 2064-2065.
20. **Herrmann W, Schorr H, Obeid R, Geisel J.** Vitamin B-12 status, particularly holotranscobalamin II and methylmalonic acid concentrations, and hyperhomocysteinemia in vegetarians. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 131-136.
21. **Lloyd-Wright Z, Hvas AM, Moller J, Sanders TA, Nexø E.** Holotranscobalamin as an indicator of dietary vitamin B12 deficiency. *Clin Chem* 2003; 49: 2076-2078.
22. **Refsum H, Smith AD.** Low vitamin B-12 status in confirmed Alzheimer's disease as revealed by serum holotranscobalamin. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 2003; 74: 959-961.
23. **Chen X, Remacha AF, Sardà MP, Carmel R.** Influence of cobalamin deficiency compared with that of cobalamin absorption on serum holo-transcobalamin II. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2005; 81: 110-114.
24. **Green R.** Indicators for assessing folate and vitamin B-12 status and for monitoring the efficacy of intervention strategies. *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 666S-672S.
25. **Carmel R, Vasireddy H, Aurangzeb I, George K.** High serum cobalamin levels in the clinical setting—clinical associations and holo-transcobalamin changes. *Clin Lab Haematol* 2001; 23: 365-371.



Parque Nacional de Los Lagos de Plitvice.

Croacia.

Carlos Alberto Lozano M. carlos.lozano@iatm.com.co