

La citoquinas: herramientas imprescindibles en el diagnóstico de la inflamación silenciosa

Wolfgang Mayer (Alemania)

La inflamación presenta múltiples facetas

La inflamación es una reacción fisiológica del sistema inmunitario que se pone en marcha ante un agente infeccioso, una confrontación con un antígeno extraño, una lesión, un traumatismo o una exposición a compuestos químicos o sustancias xenobióticas. La inflamación silenciosa, que a primera vista parece un concepto contradictorio, designa un proceso inflamatorio crónico, subclínico, que resulta un factor de riesgo en el desarrollo de múltiples patologías, algunas de las cuales son muy frecuentes hoy en día en las sociedades occidentales industrializadas (como por ejemplo: enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y tumorales). En los países industrializados, las enfermedades infecciosas han registrado en los últimos 100 años un retroceso impresionante. En cambio, se ha observado un incremento dramático de enfermedades asociadas con la génesis y la manifestación de la inflamación crónica (Bach, 2002). La inflamación silenciosa debe diferenciarse de las inflamaciones detectables/reconocibles clínicamente, que se asocian tanto a las enfermedades agudas como crónicas (Fig. 1).

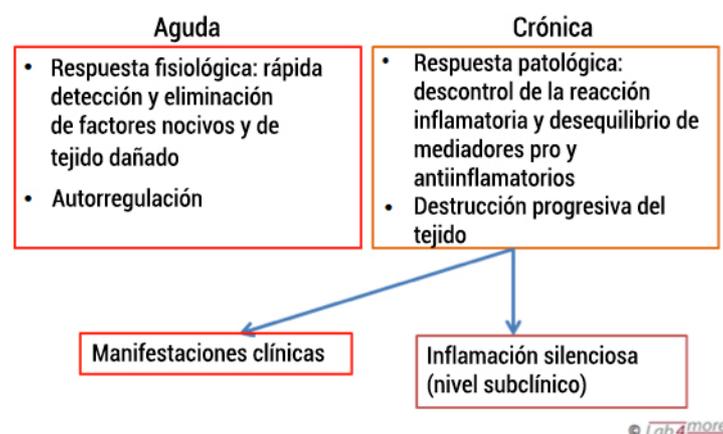


Figura 1: Tipos de inflamación. Fuente: Lab4more. Imagen traducida y adaptada en español

Las causas de estos fenómenos inflamatorios latentes son diversas. Es preciso diferenciar por un lado la predisposición genética y por otro la influencia de los

factores ambientales. Se ha visto que, en ciertos individuos, citoquinas como el TNF- α o la interleuquina 1, se encuentran sobreexpresadas, lo que genéticamente les predispone a un mayor riesgo de padecer inflamaciones crónicas (*High Responder Status*). Ahora bien, los procesos autoinmunes, las infecciones crónicas (por ejemplo, por clamidias o borrelias), la exposición a sustancias nocivas o medicamentos, la sobrecarga del sistema neuroendocrino (estrés psíquico crónico, falta de sueño, sobrecarga sensorial, intensidad de trabajo elevada), la sobrecarga psíquica, la mala alimentación o las alteraciones del sistema inmunitario que se producen con la edad, son a su vez factores ambientales que se vinculan a la aparición de este tipo de inflamaciones.

Por ejemplo, se ha demostrado claramente que la falta de sueño activa genes proinflamatorios como el Nf-kappa-B (Aho et al 2013), al igual que lo hacen los alimentos que contienen Omega-6. Asimismo, el estrés crónico tiene efectos importantes sobre la producción de cortisol y, por tanto, el control de la inflamación. También se atribuye una importancia creciente a la translocación de componentes del microbioma intestinal, asociada a alteraciones en la barrera mucosa intestinal (*leaky gut*), como desencadenante de los procesos inflamatorios. Un artículo publicado en el año 2015 en la revista *Nature* también apunta, por ejemplo, al posible papel que desempeñan los emulgentes contenidos en los alimentos como factores desencadenantes de los procesos inflamatorios de la mucosa intestinal (Chassaing et al 2015).

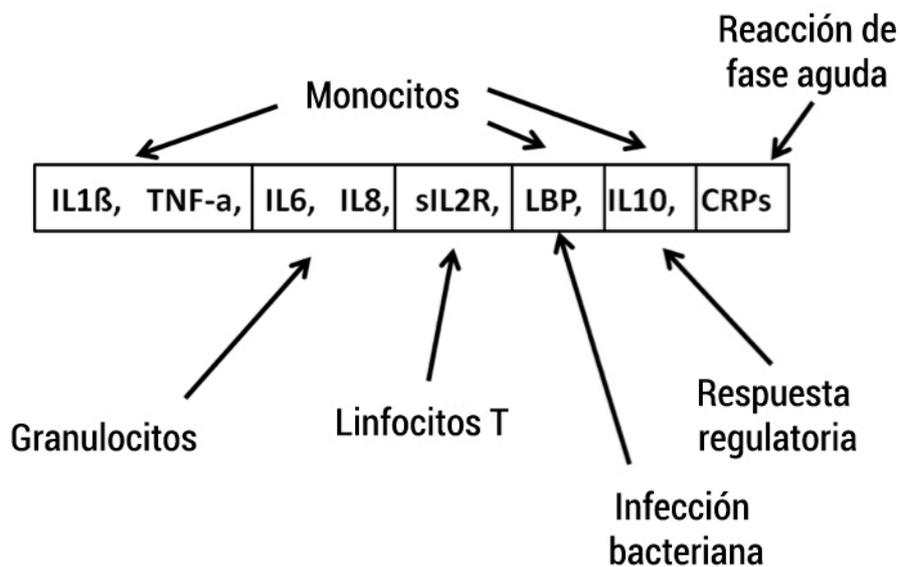
Diagnóstico de la inflamación latente mediante PCR ultra-sensible

El marcador clásico de la reacción inflamatoria de bajo grado, en términos de factor de riesgo, es la proteína C reactiva ultra-sensible (PCR-us). La PCR es una de las proteínas de la fase aguda que se produce en el hígado y se libera tras el estímulo de ciertas citoquinas (interleuquina 6 y otras), sobre todo en caso de infección bacteriana. Su larga semivida plasmática, de unas 24 horas, le confiere una importancia especial para el diagnóstico. Así, la PCR-us muestra una muy buena correlación con la evolución clínica del paciente en las infecciones agudas y los procesos inflamatorios crónicos sintomáticos (p. ej. artritis reumatoide o enfermedad de Crohn).

Además del uso de la PCR cuantitativa para el diagnóstico primario y del curso evolutivo en casos de infección aguda y de inflamación crónica, desde hace años se ha consolidado también la determinación de la PCR ultra-sensible, llamada así porque puede medirse en un rango de bajas concentraciones, como marcador del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. Falta por dilucidar si la PCR-us posee una sensibilidad suficiente para todas las formas de inflamación latente. Debido al carácter complejo y diferenciado de las inflamaciones subclínicas, la idoneidad de la PCR-us como marcador sumatorio universal de la totalidad de los procesos inflamatorios queda por confirmar.

Análisis de 897 muestras séricas

Para tratar de aclarar esta cuestión hemos comparado, durante los años 2015 y 2016, la concentración de PCR-us con la de otros marcadores inflamatorios séricos en 400-500 muestras séricas que nos fueron enviadas al laboratorio por una sospecha de inflamación latente. Como parámetros se seleccionaron las citoquinas proinflamatorias interleuquina 1 β , TNF- α , interleuquina 6, interleuquina 8, sIL2R, proteína de unión al LPS (LBP) y citoquina antiinflamatoria interleuquina 10 (las denominaremos "conjunto o panel de citoquinas inflamatorias"). La monoquinas TNF- α e IL1 β se escogieron como marcadores de la participación de monocitos, las interleuquinas 6 y 8 son marcadores ubicuos de procesos inflamatorios inespecíficos e inducen el reclutamiento quimiotáctico de granulocitos neutrófilos. El receptor soluble de la interleuquina 2 (sIL2R) constituye un marcador del estado de activación de las células T, mientras que la LBP es inducida por estructuras bacterianas (LPS) y por tanto indica inflamaciones de origen bacteriano. Por su parte, la interleuquina 10 se considera una citoquina reguladora antiinflamatoria y nos permite detectar procesos "contra-regulatorios" en el contexto de la dinámica inflamatoria en el suero, es decir, permite evaluar la capacidad del organismo de controlar la inflamación. Los análisis se llevaron a cabo de forma estandarizada con la tecnología Immulite 1000 de la empresa Siemens. Los sueros fueron centrifugados 30 minutos después de la extracción de la sangre. Después fueron analizados en un plazo de 24 horas desde la extracción de sangre.



© Lab4more

Figura 2. Marcadores utilizados para la detección de inflamaciones latentes: combinación de PCR-us con otros marcadores de inflamación.

Resultados

En alrededor del 40% de las muestras, ni la PCR-us ni los otros marcadores inflamatorios mostraron valores elevados, en virtud de lo cual se constató la presencia de inflamación en aproximadamente el 60% de las muestras. En alrededor del 19% del total de muestras, tanto la PCR-us como alguno de los demás marcadores inflamatorios estaban aumentados. En aproximadamente el 8% de las muestras estaba aumentada únicamente la PCR-us, mientras que en el 30-36% la PCR-us era normal, pero uno o más de los demás marcadores inflamatorios estaban aumentados. En conjunto, sólo a través de la PCR-us se detectaron alrededor del 25-28% del 60% de muestras con inflamación, mientras que utilizando el conjunto de marcadores se pudo detectar hasta el 50-55%. En cuanto a la frecuencia de detección de parámetros positivos según cada citoquina, predominaba en las muestras el aumento del TNF- α , la interleuquina 6 y la interleuquina 8, si bien se detectaba en casos aislados una mayor concentración de otros marcadores distintos a éstos. Esto evidencia la necesidad de utilizar un amplio panel de citoquinas para asegurar un diagnóstico inflamatorio sensible.

En suma, los resultados demuestran una sensibilidad diagnóstica máxima de la inflamación silenciosa cuando se combina la PCR-us con otros marcadores inflamatorios séricos.

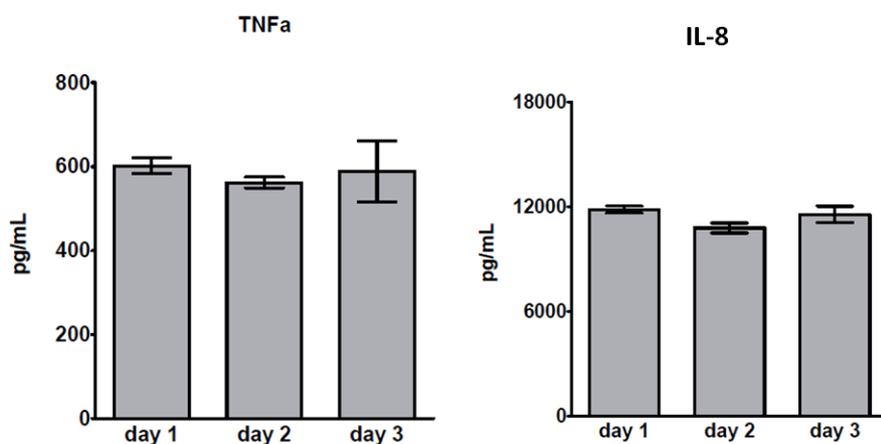
2015 / 482 casos			
PCR ultrasensible	Conjunto de citoquinas inflamatorias	Valor	[%]
negativo	negativo	185	38,4
negativo	positivo	177	36,7
positivo	negativo	32	6,6
positivo	positivo	88	18,3

2016 / 415 casos			
PCR ultrasensible	Conjunto de citoquinas inflamatorias	Valor	[%]
negativo	negativo	175	42,0
negativo	positivo	125	30,0
positivo	negativo	34	8,2
positivo	positivo	81	19,4

Figura 3. Resultados de los análisis séricos de rutina de 2015 y 2016

Preanalítica

Una objeción manifestada a menudo en torno a la determinación de las citoquinas séricas en el laboratorio de rutina es la estabilidad preanalítica de los parámetros. Por lo general, la semivida biológica plasmática se utiliza como criterio y argumento, ya que para la mayoría de las citoquinas es notoriamente corta. Por ejemplo, para la interleuquina 6, es de 20 minutos. Sin embargo, la estabilidad de una citoquina en una muestra de sangre aislada obedece a otros criterios. De hecho, se ha demostrado la estabilidad fundamental de numerosas concentraciones de citoquinas en suero aislado e incluso en sangre completa durante al menos 24 horas después de la extracción de sangre (Herrmann 2014). No se halló tampoco ninguna diferencia entre el plasma y el suero. Solamente la interleuquina 8 y el MIF mostraban un aumento notable en la concentración cuando la muestra se almacenaba como sangre completa y no se separaba el suero de los componentes celulares. La interleuquina 8 está unida en gran medida a los denominados receptores *Duffy* de los eritrocitos y se libera mediante hemólisis, lo cual explica el aumento que se produce en la sangre completa sin centrifugar. Además, mis propios estudios sobre la estabilidad de las citoquinas séricas propuestas confirman la estabilidad de los valores séricos en un intervalo de tiempo de 24 horas.



© Lab4more

Figura 4. Estudios sobre preanalítica de citoquinas séricas a temperatura ambiente durante un periodo de tres días. Tanto el TNF- α como la interleuquina 8 mostraban una excelente estabilidad preanalítica.

Conclusión personal

A través de la PCR ultra-sensible solamente se puede identificar una pequeña parte de los pacientes con inflamación silenciosa. Por lo tanto, la ampliación del método diagnóstico con otros marcadores inflamatorios es necesaria y conveniente para

detectar esta forma discreta y diferenciada de inflamación. Los avances técnicos y los datos sobre los factores preanalíticos permiten realizar en la actualidad un análisis rutinario válido de las citoquinas séricas en el laboratorio.

Sobre el autor

Dipl. Biol. Wolfgang Mayer es biólogo en Lab4more, laboratorio de análisis clínicos en Munich, Alemania. Estuvo presente en el Congreso ICoMI2017, donde habló de la inflamación silenciosa y los marcadores de inflamación.

Referencias bibliográficas

Aho V, Ollila HM, Rantanen V, Kronholm E, et al. (2013) Partial Sleep Restriction Activates Immune Response-Related Gene Expression Pathways: Experimental and Epidemiological Studies in Humans. PLoS ONE 8(10): e77184. doi:10.1371/journal.pone.0077184

Chassaing B et al Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. Nature. 2015 Mar 5;519(7541):92-6. doi: 10.1038/nature14232. Epub 2015 Feb 25

Jean-François Bach (2002) The Effect of Infections on Susceptibility to Autoimmune and Allergic Diseases N Engl J Med; 347:911-920 September 19, 2002 DOI: 10.1056/NEJMra020100

Danesh, J., et. al. 2004. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. NEJM. 350:1387-97.

Gabay, C., and Kushner, I. 1999. Acute-Phase Proteins and other systemic responses to inflammation. NEJM. 340:448-54.

Herrmann et al.: Methodical and pre-analytical characteristics of a multiplex cancer biomarker immunoassay *World J Methodol* 2014 December 26; 4(4): 219-231

Pepys, Hirschfield, G.M. 2003. C-reactive protein: a critical update. J. Clin. Invest. 111:1805-1812