

Paratohormona

Parathyroid Hormone

Código SCPC (Sociedad Colombiana de Patología Clínica): 41500.

Código CUPS (Codificación Única de Procedimientos en salud): 904912.

Sección: Química Clínica.

Nivel de complejidad: alto.

Metodología: inmunoensayo quimioluminiscente.

Sinónimos: hormona paratiroidea molécula intacta, PTH intacta, PTH.

Definición

Esta prueba consiste en un inmunoensayo quimioluminiscente *in vitro* para la determinación cuantitativa de la paratohormona humana en muestras de suero, de utilidad en el diagnóstico diferencial de los valores de hipercalcemia e hipocalcemia resultantes de desórdenes en el metabolismo del calcio.

Espectro clínico de aplicación

La paratohormona (PTH), también conocida como hormona paratiroidea, es un polipéptido de una sola cadena de 84 aminoácidos, secretada y almacenada por la glándula paratiroides y uno de los reguladores más importantes del metabolismo mineral. Tiene un rol determinante en mantener las concentraciones adecuadas de calcio y fósforo en la sangre, así como en el desarrollo y mantenimiento de la salud ósea.

La secreción de la paratohormona (1-84) está regulada principalmente por la concentración de calcio extracelular, que es detectada por los receptores sensibles al calcio en las células de la superficie de la glándula paratiroides. De esta manera, cuando los niveles de calcio son altos se activan los receptores,

lo que suprime la secreción de la paratohormona, mientras que cuando son bajos provocan un aumento en la liberación de la misma. La paratohormona, además, estimula la síntesis renal de la 1,25-dihidroxi vitamina D y la reabsorción renal de calcio. La vida media de esta hormona es de dos a cinco minutos.

La determinación de la paratohormona se utiliza junto con la del calcio para evaluar los trastornos en el metabolismo del calcio. No obstante, esta medición es difícil debido a la heterogeneidad de los péptidos que se producen tanto en la glándula como en la circulación.

La paratohormona se sintetiza en las glándulas paratiroides como un precursor de 115 aminoácidos que se convierte por proteólisis en la hormona aminoácida biológicamente activa de 84 aminoácidos. Además, se da la formación de algunos fragmentos que contienen porciones de la molécula, tanto en el carboxilo terminal (C-terminal) como el N-terminal, por degradación en la glándula o por descomposición proteolítica posterior cuando la paratohormona es liberada en la circulación a través de los riñones y el hígado.

La eliminación de los fragmentos C-terminal es más lenta que la de la hormona intacta y

dependiente de la función renal, lo que lleva a su acumulación y a concentraciones muy elevadas en los pacientes con falla renal grave o terminal.

La medición de la paratohormona está indicada en pacientes en estudio de hipercalcemia, control intraoperatorio de paratohormona, enfermedad renal crónica, paciente en estudio de hipocalcemia, estudio de enfermedad ósea metabólica y estudio de nefrolitiasis.

Fundamento

La determinación de paratohormona se realiza mediante un ensayo modificado de dos pasos, tipo sándwich, que utiliza dos anticuerpos policlonales de cabra para capturar y detectar la paratohormona intacta. En el primer paso se realiza la incubación de la muestra, calibrador o control con un tampón y un primer anticuerpo policlonal conjugado con un derivado de isoluminol dirigido contra la región N-terminal (aminoácidos 1-34) de la molécula intacta de paratohormona (1-84). Durante la incubación, la paratohormona se une a la fase sólida y, posteriormente, el anticuerpo conjugado con isoluminol se une a la paratohormona inmovilizada.

Luego de la incubación el material no unido se elimina con un ciclo de lavado y se agregan a la reacción partículas magnéticas revestidas por un segundo anticuerpo policlonal dirigido contra la región C-terminal (aminoácidos 39-84) de la molécula de paratohormona 1-84, incubándose nuevamente. Después de la segunda incubación, se realiza otro ciclo de lavado y se añaden los reactivos iniciadores que dan paso a una reacción quimioluminiscente rápida. Esta reacción produce una señal de luz que es medida en un fotomultiplicador como unidades relativas de luz (URL), que son

proporcionales a la concentración de paratohormona intacta presente en la muestra.

Control de calidad

Es recomendable efectuar un control de calidad por día de uso, o bien de conformidad con las normas o los requisitos de acreditación locales y los procedimientos de control de calidad del laboratorio. En el Laboratorio Clínico Hematológico se realiza un control idóneo de la prueba para utilizar o reportar los resultados de los pacientes. Además, se realiza un control de calidad externo evaluado por el Colegio Americano de Patólogos (CAP) con periodicidad de tres retos anuales.

Preparación del paciente y manejo de las muestras

Preparación del paciente

El paciente no requiere preparación especial; aunque es recomendable tomar la muestra en ayunas. La paratohormona presenta un ciclo circadiano, por lo tanto, se recomienda tomar la muestra antes de las 10:00 a. m. La muestra sérica debe ser tomada de acuerdo con los procedimientos establecidos por cada laboratorio.

Tipo de muestra

Suero humano a partir de sangre venosa recolectado en tubos secos (tapa roja) o en tubos separadores de suero (tapa amarilla).

Plasma con EDTA y heparina de litio.

Manejo y conservación de las muestras

La correcta manipulación de las muestras es crucial para garantizar la integridad de la paratohormona intacta.

Debido a la baja estabilidad y vida media de la molécula, la muestra debe tomarse en baño frío (recipiente con hielo molido para que se garantice la distribución homogénea de la temperatura en la muestra). Asimismo, los tubos deben prepararse a 4 °C antes de tomar la muestra.

Las muestras deben ser centrifugadas en dispositivos refrigerados a 4 °C y separar el suero del coágulo inmediatamente luego de este proceso. El suero separado debe ser almacenado a -80 °C. Para las muestras analizadas por el sistema DiaSorin LIAISON® la paratohormona es estable en el suero congelado hasta por nueve meses a -80 °C. Las muestras de suero previamente separado del coágulo se pueden conservar a una temperatura entre 2 °C y 8 °C si van a ser analizadas máximo en las ocho horas siguientes.

Si las muestras han sido congeladas estas deben ser descongeladas completamente para su procesamiento. Una vez descongeladas deben ser mezcladas por inversión 10 veces o más si es necesario hasta que estén visiblemente homogéneas.

Para el envío de muestras se deben utilizar contenedores estériles y se deben empacar según las normativas gubernamentales relativas al transporte de agentes biológicos. El suero debe separarse de las células/coágulo y congelarse a -20 °C o menos y enviarse con hielo seco. Durante el proceso de envío la temperatura no debe ser mayor de -20 °C. El volumen mínimo para el análisis es de 300 µL.

Valores esperados

Los valores esperados por el método quimioluminiscente del sistema DiaSorin LIAISON® N-TACT PTH Gen II son: 14,5 pg/mL a 87,1 pg/mL.

Interpretación de resultados

La concentración de paratohormona en las muestras analizadas se expresa en pg/mL. Para convertir los resultados a unidades del sistema internacional se aplica la siguiente fórmula: $\text{pg/mL} \times 0,103 = \text{pmol/L}$.

Los resultados de la medición de la molécula intacta de la paratohormona se deben analizar junto con otros datos clínicos y de laboratorio para ayudar a decidir el tratamiento a aplicar en cada paciente.

La interpretación de los resultados de paratohormona intacta se debe hacer teniendo en cuenta los resultados del calcio, el fósforo y la creatinina en suero y la correlación de estos analitos en los trastornos en los que intervienen.

Este ensayo no detecta la paratohormona no intacta, como los fragmentos de paratohormona 7-84. Esto puede resultar en resultados de paratohormona falsamente elevados en pacientes con función renal anormal, debido a que estos pacientes tienen en sangre diversas concentraciones de los fragmentos de paratohormona 7-84. Es por esto que se recomienda precaución en la interpretación de los resultados en este grupo de pacientes y abstenerse de tomar alguna conducta clínica solo con base en los resultados de la paratohormona intacta.

Los valores aumentados de la paratohormona también se pueden encontrar en estados de enfermedad aguda, posejercicio intenso y por otros factores fisiológicos como la edad (aumenta desde los 20 hasta los 90 años), la menopausia, la obesidad y la raza.

La paratohormona se puede encontrar disminuida en los neonatos, durante el emba-

razo y la lactancia materna, pacientes con alcoholismo crónico e ingestión de alcohol o con hemodiálisis.

Interferentes

Como se citó anteriormente la adecuada manipulación de la muestra es crucial para garantizar la calidad del analito.

El tipo de muestra utilizado (suero o plasma con heparina de litio) puede afectar la medición de la paratohormona intacta. Es por esto que se recomienda realizar los controles de los niveles de paratohormona intacta utilizando el mismo tipo de muestra y bajo el mismo método de medición a lo largo del periodo de seguimiento del paciente para evitar desviaciones (sesgos) en los resultados.

La contaminación bacteriana de las muestras o los ciclos repetidos de congelación y descongelación pueden afectar los resultados.

Los anticuerpos heterófilos y el factor reumatoideo presentes en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los reactivos o con otro material de los mismos e interferir con la reacción *in vitro*.

No se recomienda el uso de muestras hemolizadas ni lipémicas.

Limitaciones

Para resultados fiables es necesario atenerse estrictamente a los estándares de buen manejo y toma de la muestra.

Los resultados obtenidos deben utilizarse junto con otros datos clínicos o de laborato-

rio para ayudar a decidir cuál tratamiento se aplica en cada paciente.

No se recomienda utilizar otro tipo de muestra o tubos de recolección a los anteriormente especificados.

Observaciones adicionales

La prueba de la molécula intacta de la paratohormona hace parte del portafolio de servicios del Laboratorio Clínico Hematológico, Medellín, Colombia y está disponible para todo el país mediante el sistema de referencia y contrarreferencia de laboratorios clínicos.

Bibliografía recomendada

Armitage EK. Parathyrin (parathyroid hormone): metabolism and methods for assay. *Clin Chem* 1986; 32: 418-424.

Cavalier E, Carlisi A, Chapelle JP, Delanaye P. False positive PTH results: an easy strategy to test and detect analytical interferences in routine practice. *Clin Chim Acta* 2008; 387: 150-152.

Diasorin Inc. LIAISON® N-TACT® PTH II Assay. Italia. 2012.

Kumar V, Barnidge DR, Chen LS, Twentyman JM, Cradic KW, Grebe SK, et al. Quantification of serum 1-84 parathyroid hormone in patients with hyperparathyroidism by immunocapture in situ digestion liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2010; 56: 306-313.

Khundmiri SJ, Murray RD, Lederer E. PTH and Vitamin D. *Compr Physiol* 2016; 6: 561-601.

Morales-García AI, Górriz-Teruel JL, Plancha-Mansanet MC, Escudero-Quesada V, Pallardó-Mateu LM. Análisis de la variabilidad en la determinación de la PTH según el método empleado para procesar la muestra. *Nefrología (Madr)* 2009; 29: 331-335.

Silva BC, Costa AG, Cusano NE, Kousteni S, Bilezikian JP. Catabolic and anabolic actions of parathyroid hormone on the skeleton. *J Endocrinol Invest* 2011; 34: 801-810.