

## Biomarcadores en medicina equina

En la medicina veterinaria, los enfoques diagnósticos y terapéuticos no invasivos han cobrado cada vez más importancia en los últimos años. Por ello, cada vez se tienen más en cuenta los biomarcadores en el diagnóstico. Los biomarcadores son compuestos cuantificables que pueden servir de indicadores de diversos procesos fisiológicos o patológicos y, por tanto, tener importancia pronóstica o diagnóstica. En algunos casos, los biomarcadores pueden proporcionar información adicional importante para un examen clínico completo y contribuir así a la toma de decisiones. Los biomarcadores moleculares pueden determinarse en muestras biológicas (como suero, plasma o líquido cefalorraquídeo) y pueden ser moléculas, enzimas u hormonas específicas.

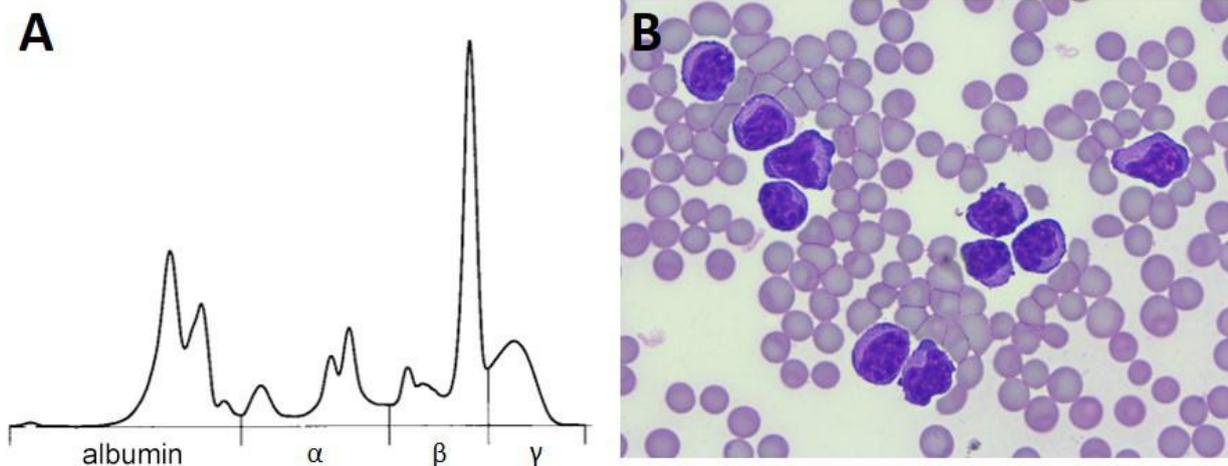
Especialmente en el diagnóstico de tumores, los biomarcadores se utilizan como herramientas útiles y no invasivas para el diagnóstico, el pronóstico y el seguimiento del tratamiento. En medicina equina, el diagnóstico de tumores es cada vez más importante debido al aumento de la edad de la población equina y sigue siendo un reto para el profesional debido a la limitada aplicación de técnicas de imagen en caballos (tórax, abdomen). Además, cuando padecen enfermedades neoplásicas, los pacientes equinos tienden a mostrar síntomas más bien inespecíficos, como fiebre, caquexia o anemia leve, el recuento de glóbulos blancos suele variar sólo ligeramente y rara vez se presentan síndromes paraneoplásicos (como hipercalcemia). Esto puede dificultar enormemente el diagnóstico. El linfoma equino (linfosarcoma) es la enfermedad tumoral maligna más frecuente en los caballos y puede manifestarse de forma gastrointestinal, cutánea, mediastínica o multicéntrica (Fig. 1).

Según el estadio de la enfermedad y la localización del tumor, a menudo no es posible tomar muestras para el diagnóstico histopatológico.



**Figura 1:** Hallazgos post mortem en una yegua islandesa de 3 años. El caballo presentaba un historial clínico de fiebre, epistaxis y estado general reducido. El diagnóstico de laboratorio mostró una anemia grave (eritrocitos 1,55 T/l, hematocrito 0,08 l/l, hemoglobina 54 g/l) con trombocitopenia (17 G/l). Histopatológicamente, se pudo confirmar un linfoma.

Recientemente, la **timidina quinasa** ha empezado a utilizarse como marcador de proliferación en el diagnóstico de tumores equinos. Se trata de una enzima celular que desempeña un papel decisivo durante la síntesis del ADN cuando el nucleósido timidina se incorpora al ADN, razón por la cual su concentración en el suero se correlaciona positivamente con la tasa de división celular. Dado que las enfermedades malignas del sistema hematopoyético y linfático (linfoma, leucemia, mieloma múltiple) suelen ser muy proliferativas, la timidina quinasa puede determinarse como un marcador de proliferación. Una inflamación grave puede provocar ligeros aumentos de la timidina quinasa y debe tenerse en cuenta en el diagnóstico diferencial. En este caso, deben determinarse además las proteínas de fase aguda. Además, un resultado negativo no descarta una enfermedad tumoral subyacente.



**Figura 2:** Curva de electroforesis de proteínas séricas con pico monoclonal en la fracción beta (A). Este caballo presentaba una leucocitosis grave que incluía numerosos linfocitos atípicos en la sangre periférica (B), una concentración de suero amiloide A significativamente elevada (850,15 µg/ml) y un nivel sérico de timidina quinasa de 19,3 U/l (rango de referencia < 3 U/l).

La **electroforesis de proteínas séricas (proteinograma)** puede ser una opción diagnóstica adicional y muy asequible en caso de sospecha de tumores. Las alteraciones monoclonales, a menudo en la fracción beta o gamma, son el resultado de una producción excesiva de una inmunoglobulina específica por parte de un clon de células plasmáticas y se han descrito principalmente en las enfermedades linfoproliferativas (Fig. 2 A y B).

Si se sospechan tumores hepáticos (por ejemplo, carcinoma hepatocelular), puede determinarse la **alfa-1-fetoproteína (AFP)**. La AFP es una glicoproteína que se forma fisiológicamente en los potros perinatales (hasta 1,5 años de edad) y, por tanto, también es elevada en los animales preñados. En caballos adultos y no preñados, un aumento puede indicar un tumor hepático, ya que la AFP es producida por las células hepáticas tumorales y entonces pueden medirse niveles séricos elevados. La **fosfatasa alcalina (AP)** se utiliza con menos frecuencia en el diagnóstico de tumores hepáticos. Es más probable encontrar un aumento de la actividad enzimática de la AP en el suero en los tumores óseos (por ejemplo, osteosarcoma), aunque éstos son bastante raros en los caballos.

Un tipo de tumor bastante frecuente en las yeguas es el tumor de células de la granulosa (TCG). A menudo puede establecerse un diagnóstico concluyente mediante la determinación de la **hormona antimülleriana (AMH)**. La AMH es una glicoproteína que influye en la diferenciación sexual durante el desarrollo embrionario y es formada por las células de la granulosa durante la foliculogénesis en las hembras maduras y por las células de Sertoli en el tejido testicular de los machos. Por lo tanto, la hormona antimülleriana puede utilizarse como marcador diagnóstico de laboratorio, no sólo en el diagnóstico de tumores, sino también para otras diversas cuestiones clínicas.

Para el diagnóstico de los tumores de células de la granulosa, la AMH es el marcador diagnóstico más sensible (98%), en comparación con la inhibina (80-90%) y la testosterona (50%). Típicamente, estas yeguas muestran signos clínicos de anestro, niveles muy bajos de progesterona (< 1ng/ml) y un ovario unilateral agrandado con un llamativo aspecto de panal en la ecografía. El ovario contralateral, en cambio, suele tener un tamaño muy reducido. A menudo, la diferenciación ecográfica de otras enfermedades ováricas, como el hematoma ovárico, el teratoma o el cistoadenoma, no es posible. La determinación de AMH puede ser útil en este caso, ya que es

producida en grandes cantidades por las células de la granulosa. Si la determinación de AMH no proporciona un resultado fiable (por ejemplo, si se está empezando a desarrollar un tumor de células de la granulosa), se recomienda volver a realizar la prueba al cabo de 3 - 4 meses como muy pronto. Además, el diagnóstico de un GCT mediante la determinación de la AMH también es posible durante la preñez, ya que el nivel sérico de AMH, a diferencia de la testosterona o la inhibina, no se ve afectado al final la preñez.

También en el ciclo normal de la yegua, la AMH no sufre fluctuaciones significativas y, a diferencia de la testosterona (corteza suprarrenal), sólo se produce en el propio ovario. En yeguas de edad avanzada (> 20 años), puede producirse un descenso del nivel de AMH correlacionado con una disminución de la reserva folicular (folículos primordiales).

La determinación de AMH también puede ser útil en sementales. A diferencia del sulfato de estrona, la concentración de AMH en machos es concluyente para el diagnóstico de criptorquidia independientemente de la edad y, por tanto, representa un biomarcador útil de la presencia de tejido testicular. El nivel basal de testosterona en los sementales criptóquidos puede ser bajo o limítrofe y sólo aporta poca información cuando se determina de forma individual. Por lo tanto, la testosterona debe medirse siempre mientras se realiza una prueba de estimulación con hCG (valor basal y de estimulación). Debido a su vida media bastante larga (1,5 - 2 días), la AMH sólo debería determinarse después de un mínimo de 2 semanas post castración, ya que las concentraciones séricas habrán disminuido entonces a un nivel concluyente desde el punto de vista diagnóstico. Antes de que transcurran estos 14 días, la testosterona es más adecuada, ya que tiene una vida media mucho más corta (aprox. 1 h). Los niveles muy bajos de AMH en sementales intactos pueden indicar degeneración testicular o deberse a la estación del año (otoño/invierno). La degeneración testicular relacionada con la edad es más común en sementales de edad avanzada, pero los niveles de AMH no proporcionan información sobre la fertilidad de un animal. Por

otra parte, unos niveles muy elevados, en combinación con signos clínicos, pueden ser un indicador de tumor de células de Sertoli y siempre deben verificarse mediante un examen histopatológico.

Sin embargo, los biomarcadores no sólo desempeñan un papel en el diagnóstico de tumores. Si se sospecha de inflamación, las proteínas de fase aguda como el **suero amiloide A (SAA)** o el **fibrinógeno** también pueden ser útiles para evaluar la gravedad clínicamente no visible de la inflamación o para estimar el éxito terapéutico.

En general, las proteínas de fase aguda se dividen en negativas, cuya concentración en sangre disminuye durante la respuesta de fase aguda (por ejemplo, la albúmina), y positivas, que, a su vez, aumentan durante la inflamación. Las proteínas de fase aguda positivas son: proteínas de fase aguda mayores (aumento rápido en un corto periodo de tiempo de 10 a 1000 veces), moderadas (aumento lento de 5 a 10 veces con una fase de meseta) o menores (aumento de 0,5 a 5 veces). La formación de proteínas de fase aguda se inicia durante la respuesta de fase aguda de la inflamación. Se trata de una reacción sistémica temprana e inespecífica al daño tisular provocado por una infección (bacteriana, vírica o parasitaria), un traumatismo o una neoplasia. Además de los efectos locales y sistémicos, la liberación de mediadores inflamatorios, como las citoquinas proinflamatorias, estimula la síntesis de proteínas de fase aguda en los hepatocitos del hígado.

En los caballos, la determinación de **SAA** como proteína principal de fase aguda se utiliza cada vez más en el diagnóstico de laboratorio clínico. El SAA es una apolipoproteína que, por un lado, recluta quimiotácticamente células inflamatorias en una zona inflamada, pero que, por otro, suprime la proliferación de linfocitos. En caballos sanos, el SAA sólo puede detectarse en concentraciones muy bajas. Si está presente un agente nocivo, se produce un aumento muy rápido (en un plazo de 6 a 12 h) y fuerte de la concentración (de 100 a 1000 veces) y también se producirá una disminución muy rápida cuando se elimina el agente nocivo (en un plazo de 12 h). El SAA es un marcador muy sensible de los procesos inflamatorios tempranos, que puede proporcionar una ayuda importante en el diagnóstico, el pronóstico y el seguimiento.

Especialmente cuando es esencial actuar con rapidez, como por ejemplo en medicina de potros, los niveles de SAA pueden medirse para detectar septicemia, neumonía bacteriana o artritis séptica en una fase temprana. Los niveles de SAA también pueden ayudar a diferenciar entre infecciones bacterianas y víricas, pero siempre deben interpretarse en el contexto del examen clínico general y otros parámetros de laboratorio, ya que el SAA es una proteína de fase aguda no específica. Pueden medirse niveles ligeramente elevados después de estrés, transporte, vacunación o grandes esfuerzos. Además, el aumento de SAA nunca debe ser el único criterio para el tratamiento antibiótico. También deben incluirse el recuento de glóbulos blancos, la bioquímica y otros marcadores de inflamación y, por supuesto, exámenes clínicos y bacteriológicos.

El **fibrinógeno**, que es una proteína de fase aguda moderada, también se utiliza como herramienta de diagnóstico en medicina equina. En comparación con la SAA, sólo aumenta de 1 a 2 veces dentro de las primeras 24 h después del agente nocivo y alcanza su punto máximo después de aproximadamente 48 h. El fibrinógeno puede permanecer elevado durante algunas semanas y, por lo tanto, no es tan sensible cuando se realiza el control. El fibrinógeno sólo puede determinarse a partir de plasma citratado.

Un diagnóstico rápido y precoz no sólo es relevante en la inflamación aguda, sino también en órganos con una baja tasa de regeneración, como el músculo cardíaco. Un biomarcador útil de la necrosis miocárdica aguda es la troponina I cardíaca, que puede utilizarse como parámetro cardíaco específico en caballos. Las troponinas cardíacas son proteínas que intervienen en la regulación de la contracción y relajación miocárdicas. Si las células están dañadas, se puede detectar un aumento de los niveles séricos de troponina cardíaca después de aprox. 5 - 7 h. Las causas pueden ser víricas o bacterianas, cardiopatías congénitas, deficiencias, toxinas o también neoplasias.

Así pues, en general, en el diagnóstico de laboratorio clínico se dispone de varios biomarcadores diferentes y muy sensibles. Por separado o en combinación, pueden proporcionar una ayuda adecuada en la práctica en términos de diagnóstico, evaluación del pronóstico y para predecir el éxito terapéutico, así como para apoyar las decisiones sobre el tratamiento.

*Svenja Möller*

Parámetro	Indicación	Material de muestra
Timidina quinasa	Neoplasia linfoproliferativa	Suero, centrifugado, frío
Alfa-1-fetoproteína (AFP)	Tumor hepático	Suero
Fosfatasa alcalina (PA)	Parámetro hepático, tumor óseo	Suero
Hormona antimülleriana (AMH)	Tumor de células de la granulosa, criptorquidia	Suero, centrifugado, frío
Suero amiloide A (SAA)	Inflamación	Suero
Fibrinógeno	Inflamación	Citrato plasma
Troponina I	Daño miocárdico agudo	Suero, centrifugado, frío