Alfafetoproteína en Pediatría*

Drs. Lilliana Rebolledo**, Benito González*** y
Ricardo Sörensen****

La alfafetoproteína (AFP) es la fracción mayor de las proteínas séricas del embrión y es la primera de las globulinas alfa que aparece en el suero de los mamíferos. Fue descubierta por Pedersen, en 1944, en el suero de bovinos; más tarde Bergstrand encontró una proteína similar en el feto humano y Tatarnov la describió en la sangre del cordón.

Estudios posteriores demostraron que la "fetuina" de Pedersen era una mezcla de 2 proteínas: una, de movilidad α_2 - β_1 , y la otra de movilidad α_1 , la única realmente embrionaria. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha propuesto desde 1970 la denominación de α_1 -fetoproteína. Tiene un PM de 64 000 a 70 000 y una constante de sedimentación de 4,5 a 5 S. (1)

Se sintetiza en las células del parénquima hepático, en el saco vitelino y en una pequeña cantidad, en el tracto gastrointestinal fetal. Desde que en 1960 Yalow y Berson aplicaron el método del radioinmunoanálisis al dosage de esta proteína se ha podido tener un mejor conocimiento de sus propiedades fisiológicas y patológicas. Así, se ha comprobado que

existe AFP circulante en adultos normales en concentración estable siempre inferior al 10 ng/ml, con una cifra promedio de 2,5 ng/ml. (2)

Mediante métodos de mediana sensibilidad, generalmente formación de inmunoprecipitados en gel de agar, no se detecta este antígeno en sujetos normales, pero sí en recién nacidos y en portadores de hepatomas, cáncer primitivo del hígado, y teratomas ováricos y testiculares, tal como lo describieron Abelev y colaboradores. Estos autores demostraron la reaparición de esta proteína fetoespecífica en el suero de ratones portadores de hepatomas inducidos por cancerígenos químicos. (3)

Normalmente, AFP se detecta en el embrión de 7 semanas. Su nivel se eleva hasta unos 300 mg% a las 13 semanas y luego declina linealmente hasta encontrarse alrededor de 7 mg% en el recién nacido de término. En prematuros se alcanzan cifras de 30 a 90 mg%. La presencia de AFP en el feto es una medida de síntesis y madurez fetal, estableciéndose una relación inversa entre los niveles séricos y la edad gestacional, contrariamente a lo que sucede con inmunoglobulina G y albúmina, cuyos niveles se elevan a medida que la edad gestacional aumenta. (4)

Durante el embarazo AFP aumenta en el suero materno; se piensa que su presencia deriva del feto por la correlación que existe con los niveles de éste y la caída brusca de la concentración después del parto. Brock y Sutcliffe, (5) en 1972 demostraron que AFP aumenta en el líquido amniótico en fetos con defectos neurológicos. Basados en esta expe-

*Presentado como Relato Oficial en las V Jornadas Anuales de la Sociedad Chilena de Pediatría, Lo Barnechea, 1975.

**Q.F. Unidad de Inmunología Hospital Luis Calvo Mackenna. Laboratorio de Investigación, Departamento Pediatría, U. de Chile.

***Unidad de Inmunología Hospital Luis Calvo Mackenna.

****Unidad de Inmunología Hospital Luis Calvo Mackenna. Departamento de Inmunología Instituto Bacteriológico de Chile.

riencia, Harris y colaboradores (6) encontraron que esta proteína se encuentra elevada en asociación con anencefalia y espina bífida, lo que permite su diagnóstico precoz. El hecho de que niveles séricos maternos elevados no ocurren en ciertos casos, aun cuando su nivel en líquido amniótico esté aumentado, induce a concluir que el diagnóstico debe referirse según los niveles en este último.

Desde hace 2 años hemos aplicado el método de Inmunoelectroforesis cruzada para detectar AFP en diversos tumores de niños controlados en el Servicio de Oncología del Hospital Luis Calvo Mackenna.

Nuestra casuística confirma los resultados publicados por otros autores, como asimismo las determinaciones efectuadas en hepatitis neonatal, en las que también se ha descrito la presencia anormal de esta fetoproteína, no encontrándose, en cambio, en atresia de vías biliares, lo que permitiría una diferenciación. (7)

MATERIAL Y METODO

Sangre obtenida sin anticoagulante. El suero se separó por centrifugación y se guardó en freezer a -20°C hasta el momento de análisis.

Antisuero de conejo, monoespecífico, anti-alfafetoproteína humana.

Alfafetoproteína como control positivo.

(Ambos sueros se obtuvieron en el Departamento de Inmunología del Instituto Bacteriológico de Chile).

Gel agar-agarosa: Agar 0.625 g% y Agarosa 0.425% en Buffer Veronal 0.05 M. pH 8.20.

Método: Inmunoelectroforesis cruzada en Buffer Veronal 0.05 M. pH 8.20 con 6 mA. por cada portaobjetos conteniendo 3 ml de la mezcla del gel.

Grupos estudiados:

- 1) Un grupo control de 120 niños desde RN hasta 4 meses de edad distribuidos en la forma siguiente: prematuros menores de 1 mes: 22; prematuros mayores de 1 mes: 5; RN de término: 19; lactantes de 1 mes: 11; lactantes de 2 meses: 18; lactantes de 3 meses: 26; lactantes de 4 meses: 19.
- 2) Un grupo de lactantes menores con patología hepática: hepatitis neonatal: 4, y atresia de vías biliares: 3.
- 3) Un grupo de niños con diversos tumores: hepatomas: 4; teratomas y teratocarcinomas: 8; otros tumores sólidos: 14.

RESULTADOS

En este estudio se aprovechó la movilidad electroforética α_1 de esta proteína que permite su detección cualitativa por Inmunoelectroforesis cruzada frente a su antisuero monoespecífico.

Utilizando un control positivo del Instituto Bacteriológico de Chile, en concentración de 10.2 mg%, determinamos la sensibilidad del método, pudiendo detectar hasta 0.51 mg%.

Los resultados están consignados en las Tablas N° 1 y N° 2.

Alfafetoproteína sérica desciende rápidamente desde el nacimiento hasta hacerse no detectable a los 2 ó 4 meses de edad (Tabla N° 1, a).

Al estudiar esta fetoproteína en niños con patología hepática se encontró que persiste en el suero de lactantes con hepatitis neonatal, no evidenciándose presencia alguna de ella en atresia biliar (Tabla N° 1, b).

Tabla N° 1 (a y b)

ALFAFETOPROTEINA

Unidad de Inmunología Hospital L. Calvo Mackenna, 1975

Controles: 120 casos

a)	Edad	Prematuros		RNT	1 ms	2 ms	3 ms	4 ms
		<1 ms	>1 ms					
	N° casos	22	5	19	11	18	26	19
	Positivos	22	3	19	3	0	2	0
	%							
	Positivos	100		100	27	0	7,7	0

En lactantes menores

b)		Casos analizados	Casos positivos
	Hepatitis RN (1.5—2.5 ms)	4	4
	Atresia vías biliares (1—2 y 4 ms)	3	0

Tabla N° 2

ALFAFETOPROTEINA EN PATOLOGÍA EN NIÑOS

Unidad de Inmunología Hospital L. Calvo Mackenna, 1975

	Casos analizados	Casos positivos
Hepatomas*	4	4
Hemangiopericitoma		
maligno, hígado	1	1
Hepatitis		
(3—13 años)	13	1**
Teratomas y Teratocarcinomas		
embrionarios*	8	3***
Otros tumores sólidos	14	0

*Controlados en el Servicio de Oncología, Hospital L.C.M.

**1 coma hepática grave

***1 adenocarcinoma ovárico

1 teratoma ovárico

1 teratoma sacro

Tabla N° 3

APLICACIONES CLINICAS DE ALFAFETOPROTEINA
METODOS

<i>Tipo de análisis</i>	<i>Métodos</i>	<i>Aplicación</i>
Detección cualitativa	Inmunoelectroforesis cruzada	Tumores
	Método de Ouchterlony o doble difusión	
	Inmunodifusión radial	Tumores (evolución) Hepatitis neonatal Atresia biliar
Determinación cuantitativa	Radioinmunoanálisis	Enfermedades neurológicas (líquido amniótico, suero materno)

En la Tabla N° 2 se presentan 4 casos de hepatomas, encontrándose un 100% de positividad para AFP sérica. Un caso cuyo diagnóstico histopatológico fue hemangiopericitoma maligno del hígado, resultó positivo. Comparativamente, en las hepatitis analizadas, el único caso positivo fue un coma hepático grave. Al analizar suero de enfermos con otros tumores sólidos, entre los cuales se incluyen 4 tumores de Wilms (Tabla N° 2), no se encontró AFP.

DISCUSION

El hallazgo de AFP en el suero humano por un test de excelente especificidad, como es la Inmunoelectroforesis cruzada, reviste gran interés, por cuanto constituye un nuevo método para establecer el diagnóstico de ciertos cánceres. En este aspecto son 2 los antígenos más conocidos y definidos químicamente; uno es la alfafetoproteína, objeto de nuestro estudio, y el otro es el antígeno carcinoembrionario de los tumores del tubo digestivo. Ambos constituyen el grupo de los llamados antígenos carcinoembrionarios. Su ausencia en los tejidos no neoplásicos puede ser sólo aparente,

por cuanto la positividad depende de la sensibilidad del método empleado en su detección.

Es interesante hacer notar que en ciertos aspectos clínicos el análisis cualitativo de AFP debe ir seguido de una determinación cuantitativa, a fin de establecer diferentes tipos de evolución, diagnóstico y pronóstico de la enfermedad. Tabla N° 3.

En lactantes menores con patología hepática, aunque la casuística incluye un reducido número de casos, pudo apreciarse de AFP en todas las hepatitis neonatal a una edad, 1½ a 2½ meses, en que AFP no es detectable, como se observa en la Tabla N° 1, a.

Es posible que algunos de los casos encontrados negativos en atresia de vías biliares se deban a la desaparición de AFP propia de la edad, motivo por el cual el examen debe hacerse a una edad lo más temprana posible cuando se sospechan síntomas de esta enfermedad.

La respuesta compensatoria a hepatitis es la producción de AFP por parte del hepatocito proliferante; en cambio, en atresia de vías biliares la respuesta compensatoria es la proliferación del endotelio del conducto biliar, incapaz de sintetizar AFP. (7) Este método

permitiría una diferenciación entre ambas enfermedades, tan importante de establecer en hepatología pediátrica. Sin embargo, al aplicar este criterio es preciso insistir en una determinación cuantitativa de AFP, ya que, según Zeltzer y colaboradores, (7) una concentración promedio de 4 mg% se inclinaría más a una hepatitis que a una atresia biliar.

Hay reaparición de AFP en el suero de individuos portadores de hepatomas y tumores de origen embrionario. Originalmente se pensaba que todos los sueros eran negativos, con excepción de los casos citados; de este modo, en las enfermedades hepáticas la presencia de AFP indicaría un hepatoma. Sin embargo, se han descrito hepatitis graves en que aparece AFP, pero en forma transitoria, al igual que en cierta patología hepática no tumoral. En éstas se han demostrado, mediante biopsia, numerosos focos de regeneración. Un tipo semejante de estas células aparece también en el hígado de ratas después de sometidas durante 2 meses a un régimen adicionado de un cancerígeno, Aflotoxina, pero desaparecen después de suspendido el régimen. (3)

Uriel, en 1973, por métodos autorradiográficos mediante estrógenos tritiados y aprovechando la propiedad estrogenofílica de AFP, demostró que ésta no sería sintetizada por hepatocitos tumorales, sino por una célula de tipo especial, probablemente transitoria; ésta estaría presente en el hígado durante la histogénesis embrionaria y postnatal y podría, en el adulto, multiplicarse bajo el efecto de estímulos particulares, sobreviniendo patología hepática neoplásica. (3)

Nuestra casuística en tumores confirma resultados publicados por otros autores. Considerando el total de los tumores analizados, el porcentaje de positividad en este test diagnóstico es bajo.

Sin embargo, la rapidez y simplicidad de su ejecución (Inmunolectroforesis cruzada durante 1 hora) lo hacen indispensable en todo Servicio de Oncología. Actualmente la cuantificación por Inmunodifusión radial ofrece la posibilidad de seguir la evolución de la enfermedad.

El hecho de no usar un método tan sensible como el radioinmunoanálisis tiene la ventaja de no dar resultados falsamente positivos. La repetición seriada de los exámenes es un factor importante y decisivo, tanto en el diagnóstico, pronóstico y vigilancia terapéutica.

RESUMEN

Se utiliza el método de Inmunolectroforesis cruzada para la detección de Alfafetoproteína (AFP) en un grupo de recién nacidos y lactantes, y en niños con diversos tumores controlados en el Hospital Luis Calvo Mackenna.

AFP disminuye rápidamente desde el nacimiento y no se detecta a los 2 ó 4 meses de edad. Persiste en hepatitis neonatal y no se le encuentra en atresia de vías biliares. Para una mejor diferenciación entre ambas enfermedades debe usarse el método cuantitativo. (Inmunodifusión radial).

En hepatomas, 4 casos, la positividad fue de 100%; en teratomas, 8 casos, se encontraron 3 casos positivos. No se detectó en otros tumores sólidos analizados ni en las hepatitis, a excepción de un coma hepático.

Se concluye que este examen es de una alta especificidad y de gran importancia para el diagnóstico, pronóstico y evolución de la enfermedad.

SUMMARY

Counter-immunolectrophoresis is used for the detection of serum AFP in a group of newborn infants, and children suffering from different tumors. All of them being controlled in Hospital Luis Calvo Mackenna.

AFP rapidly decreases during the first days of life and it is not detected in 2 or 4 month old infants. This protein was found to be present in neonatal hepatitis and absent in biliary atresia, suggesting a good method for a differentiation between them. In this aspect, the fetoprotein measurement must be quantitative (Radial Immunodiffusion).

100% of hepatomas (4 cases) and 3 from a total of 8 teratomas were positive. It was not found either in other solid tumors or in

hepatitis (3-13 years old children) with the exception of an hepatic comma.

It is concluded that the detection of AFP is highly specific and of a great importance in the diagnosis, prognosis and therapeutic survey of disease.

REFERENCIAS

1. *Buffe, D.*: Bull. du Cancer, 60, N° 4: 371-382, 1973.
2. *Masseyeff, R., Krebs, B.P., Cassuto, J.P., Bonet, C., Lalanne, C.M. et Delmont, J.*: Bull. du Cancer, 60, N° 4: 383-392, 1973.
3. *Uriel, J.*: Bull. de Cancer, 60, N° 4: 363-370, 1973.
4. *Hyvarinen, M., Zeltzer, P.M., Ch. W. and Stiehm, E.R.*: Pediatrics, Vol. 82, N° 3: 430-437, 1973.
5. *Seller, M.J., Singer, J.D., Coltart, T.M. and Campbell, S.*: Lancet, 1: 428-429, 1974.
6. *Harris, R., Jennison, R.F., Barson, A.J., Laurence, K.M., Rouslahti, E. and Seppala, M.*: Lancet, Vol. 1, N° 7855: 429-433, 1974.
7. *Zeltzer, P.M., Neerhout, R.C., Fonkalsrud, E.W. and Stiehm, E.*: Lancet, Vol. 1, N° 7854: 373-375, 1974.