


MANLAB®

Diagnóstico Bioquímico y Genómico

Determinación de serotonina en muestras biológicas

 9 min.


La serotonina es un neurotransmisor central que ha sido asociado a distintas patologías entre las que podemos destacar la hipertensión, enfermedad de Huntington, distrofia muscular de Duchene y desórdenes de orden psiquiátrico. En el siguiente trabajo el Dr. Horacio Romo de la Sección de Toxicología y Monitoreo de Drogas del Laboratorio MANLAB nos presenta los métodos analíticos, los valores de referencia y la importancia de estas determinaciones en un futuro debido al creciente interés que tiene su dosaje en el campo de la psiquiatría.



ZDr. Horacio Pablo Romo
Sección de Toxicología y Monitoreo de Drogas
Laboratorio MANLAB



E-mail: horacio.romo.@manlab.com.ar



Introducción

La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) es un neurotransmisor central que ha sido asociado a distintas patologías, entre ellas algunos desórdenes de orden psiquiátrico. Además la serotonina es una de las sustancias vasoactivas segregadas por tumores carcinoideos y es la responsable del síndrome carcinoide, caracterizado por abundantes secreciones, diarreas y lesiones en las válvulas del

corazón. Otras patologías donde se observan aumento de la concentración de serotonina en sangre son: migraña, hipertensión esencial, Enfermedad de Huntington y distrofia muscular de Duchene.

La determinación urinaria del ácido 5 OH indo acético (5-HIAA), principal metabolito de la serotonina, ha sido utilizada como el principal test de laboratorio para detectar la sobreproducción de serotonina causada por tumores. El dosaje también de serotonina en orina, plasma y plaquetas, incrementa de forma notable la sensibilidad en el diagnóstico.

De forma fisiológica, entre las principales funciones de este neurotransmisor se pueden nombrar la de regular el apetito mediante la saciedad, equilibrar el deseo sexual, controlar la temperatura corporal, la actividad motora y las funciones perceptivas y cognitivas.

La serotonina también es necesaria para elaborar la melatonina, una hormona no proteica que es fabricada en el cerebro en la glándula pineal, y es la encargada de la regulación del sueño.

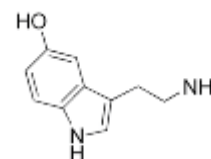
La serotonina disminuye al atardecer ya que a partir de ella se sintetiza la melatonina en la glándula pineal por la noche. La melatonina disminuye al amanecer, que es cuando se inhibe su síntesis, aumentando así la serotonina (que ya no es transformada a melatonina).

Como neurotransmisor exclusivamente se cree que actúa en la inhibición de la ira, la agresión, la temperatura corporal, el humor, el sueño, el vómito, la sexualidad, y el apetito. Estas inhibiciones están relacionadas directamente con síntomas de

depresión. Es por eso que muchos antidepresivos se ocupan de modificar los niveles de serotonina en el individuo.

De forma natural, el mayor porcentaje de la serotonina en el ser humano se encuentra en el sistema nervioso central, en la sangre, y en el tracto gastrointestinal.

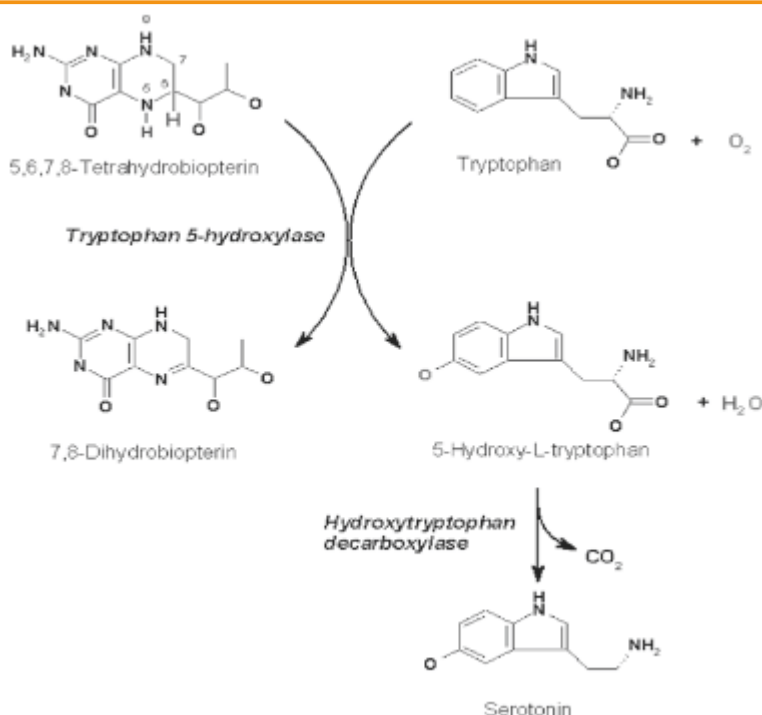
Debido que la mayoría de la serotonina en sangre se almacena en las plaquetas, y que la reacción de liberación de la serotonina se produce muy fácilmente, las mediciones en plasma y en plaquetas son engorrosas, por la aparición de artefactos e interferencias, tanto en la conservación de las muestras, como en su preparación antes de ser analizadas. Esto, sumado al pequeño tamaño de la molécula de la serotonina y a su alta susceptibilidad a la oxidación, hace que se requieran de medidas pre analíticas y analíticas muy precisas y optimizadas para asegurar la calidad de los resultados.



Molécula de serotonina. (C₁₀H₁₂N₂O) PM: 176,21

Síntesis biológica

En el cuerpo humano, la serotonina es sintetizada desde el aminoácido esencial triptófano en una vía metabólica corta que involucra dos enzimas: triptófano hidroxilasa (TPH) y una L-aminoácido aromático descarboxilasa (DDC).



La serotonina ingerida por vía oral no entra dentro de las vías serotoninérgicas del sistema nervioso central porque ésta no cruza la barrera hematoencefálica. Sin embargo, el triptófano y sus metabolito, el 5-Hidroxitriptófano (5-HTP), con los cuales la serotonina es sintetizada, pueden y cruzan la barrera hematoencefálica.

Estos agentes están disponibles como suplementos dietarios y pueden ser agentes serotoninérgicos efectivos.

Un producto del clivaje en esta síntesis es el ácido 5-hidroxiindolacético(5 HIAA), el cual es excretado en la orina.

Determinación analítica

Por las muy especiales características físico-químicas y por la magnitud en que se encuentra en los fluidos biológicos, del orden de los ng/ml, se requiere de un método muy sensible para la determinación de serotonina, tanto en

BD Vacutainer® Líder en Soluciones Preanalíticas

En BD Vacutainer® estamos comprometidos con la calidad, bioseguridad y la satisfacción de nuestros usuarios.

Para contactarse, llámenos al:
0800-444-55BD (23)
o escribanos a vacuainer@bd.com



sangre como en orina.

Un método apropiado es la determinación por HPLC (High performance liquid chromatography, o cromatografía líquida de alta performance). En Manlab se utiliza un sistema de HPLC marca Waters de última generación, con autosampler automático que permite procesar 100 muestras en la misma corrida cromatográfica.

El detector utilizado para medir serotonina por esta técnica analítica puede ser fluorométrico o electroquímico. En MANLAB se utiliza este último debido a su alta sensibilidad, y a la forma más práctica y sencilla de procesar la muestra previa a la inyección en el cromatógrafo, ya que esto resulta indispensable para procesar un gran número de muestras en el menor tiempo posible.

La etapa pre analítica de la técnica por HPLC depende obviamente de la muestra biológica de donde provenga la serotonina a analizar.

En el caso de orina, se utiliza orina de 24hs, recolectada sobre ácido clorhídrico 6N, y manteniendo la muestra refrigerada durante la recolección. La muestra así recibida en el laboratorio se procede a diluir con distintos solventes, antes de su inyección en el HPLC.

Si lo que se quiere analizar es serotonina en sangre, la muestra de elección es plasma con EDTA, y en este caso antes de la inyección se procede a una precipitación de las proteínas del plasma. Luego de centrifugar la muestra, se utiliza la fase acuosa para la inyección.

De ser serotonina plaquetaria la determinación a realizar, la muestra requerida es un botón del plasma con EDTA enriquecido en plaquetas, que se obtiene por una centrifugación especial de la sangre venosa. El botón remitido se re suspende con solución fisiológica, y luego se sigue el mismo procedimiento previo a la inyección como en la serotonina en sangre.

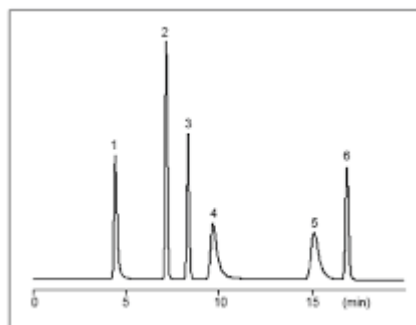
La determinación propiamente dicha se lleva a cabo entonces en un equipo de HPLC, utilizando un detector electroquímico, con una técnica de fase reversa, donde la fase móvil es una solución de buffer fosfato y la fase estacionaria, una columna del tipo C18.

La cuantificación de cada muestra se realiza interpolando el área del pico detectado, con una curva de calibración confeccionada con estándares de concentraciones conocidos.

Todo este proceso de detección y cuantificación de los distintos picos de la corrida cromatográfica, tanto en la confección de las curvas, como en cálculo final de las concentraciones de las muestras, se realiza con la ayuda de un poderoso Software de Gestión de Cromatografía, llamado EMPOWER, exclusivo de la marca Waters, y cuya última versión, la 3.0, es la que utiliza MANLAB en estos equipos.

Los valores de referencia que utiliza MANLAB de la serotonina dosada por este método son:

Serotonina en plasma: 50 - 200 ng/ml
Serotonina en orina: 0.20 - 15.0 mg/24hs
Serotonina plaquetaria: 125 - 500 pg/1.000.000 plaquetas



Ejemplo de un cromatograma de HPLC. En este caso la muestra es orina, y el pico 3 corresponde a la serotonina.

Resumen

La técnica de HPLC con detección electroquímica resulta muy efectiva a la hora de analizar la concentración de serotonina en plasma, orina o en plaquetas. Debido a la fragilidad de la molécula y a su alto poder de oxidación, se requiere medidas especiales tanto para la conservación de la muestra, como en el procesamiento de la misma, para obtener resultados confiables. Es de esperar que en un futuro estas determinaciones sean solicitadas cada vez con más frecuencia, no sólo en los Laboratorios de Alta Complejidad, sino también en los pequeños e intermedios, debido al creciente interés que tiene el dosaje de serotonina, sobre todo en el campo de la psiquiatría.



Bibliografía

1. Artigas F, Sarrias MJ, Martinez E, Gelpi E. Serotonina in body fluids: characterization of human plasmatic and cerebrospinal fluids pools by means of a new HPLC method. *Life Sci.* 1985 Aug 5; 37(5): 441-7.
2. Flachaire E, Beney C, Berthier A, Salandre J, Quincy C and Renaud B. Determination of reference values for serotonin concentration in platelets of healthy newborns, children, adults, and elderly subjects by HPLC with electrochemical detection. *Clin Chem.* 1990 Dec; 36(12): 2117-20.
3. Pussard E, Gulgeno N, Adam O and Giudicelli JF. Validation of HPLC-amperometric detection to measure serotonin in plasma, platelets, whole blood, and urine. *Clin Chem.* 1996 Jul; 42(7):1086-91.
4. Tagari PC, Boullin DJ and Davies CL. Simplified Determination of Serotonin in Plasma by Liquid Chromatography with Electrochemical Detection. *Clin Chem.* 1984 Jan; 30(1): 131-5.