

## Biomarcadores y predicción del riesgo de ECN

Nota del editor: Esta es una transcripción de una presentación en vivo realizada en noviembre de 2024. Se editó para brindar mayor claridad.



Misty Good, médica con una maestría en Ciencias  
Jefa de la División de Medicina Neonatal y Perinatal  
Codirectora del programa Pediatric Physician Scientist Training Program  
Universidad de Carolina del Norte en

Chapel Hill  
Chapel Hill, North Carolina

Sé que no tengo que explicarle a esta sala lo que es la enterocolitis necrotizante (ECN), pero sí quiero comenzar la charla diciendo por qué dediqué mi carrera a estudiar esta enfermedad. Todos hemos visto a estos bebés durante el cuidado cotidiano, que son prematuros, están bien y crecen con todo el increíble trabajo que Mandy y otras personas hacen, pero de repente, desarrollan un abdomen distendido, heces con sangre y lo siguiente que sabemos es que los están operando y están muriendo de ECN mientras los cuidamos. Cuando era residente de pediatría, me interesé mucho en saber por qué les sucede esto a estos bebés y qué podemos hacer para prevenirlo. Cuando me convertí en becaria y estaba en un laboratorio trabajando con ratones, realmente quería saber más sobre lo que les sucede a nuestros bebés y cómo podemos trasladar lo que hacemos en el laboratorio al cuidado del paciente. Comenzamos a tomar algunas muestras de las que luego hablaré más, pero aquí hay algunas diapositivas histológicas de muestras del intestino delgado que obtuvimos en quirófano de estos bebés.

Todos sabemos que hay muchos desafíos en el diagnóstico de la ECN y en cómo podemos diferenciarla realmente de otras enfermedades, como la intolerancia alimentaria, etc., pero creo que no hace falta decir que sabemos que la patogénesis de la ECN es realmente muy compleja y multifactorial y varios de esos factores en realidad siguen siendo desconocidos. Una de las formas en las que podemos profundizar un poco en eso es analizar muchas de las muestras de estos bebés. Esa será la premisa de la charla.

Sabemos que no todas las ECN son iguales y, por lo tanto, entre los bebés prematuros con ECN, tenemos tanto a los bebés más pequeños como a los bebés en crecimiento más grandes que están casi listos para irse a casa, y luego tenemos a los bebés a término que tienen cardiopatías congénitas o que estuvieron expuestos a sustancias en el útero. Sabemos que la etiología varía entre los pacientes. Eso se transforma en un dilema de diagnóstico para todos los que estamos al cuidado de estos bebés y, a veces, diagnosticamos esta enfermedad cuando es demasiado tarde, como todos saben. La otra cuestión que

realmente ha limitado el campo durante varios años es que la ECN afecta a un número relativamente pequeño de pacientes en centros individuales. Ahora, todos sabemos que vimos la ECN y no todas las ECN son iguales, pero hay tanta heterogeneidad en la enfermedad que realmente necesitamos profundizar en esta edad gestacional en particular, cómo se ve la ECN para este o aquel grupo de pacientes.

Lo más importante es la colaboración entre instituciones con equipos de investigadores altamente capacitados y comprometidos porque, de nuevo, como todos sabemos, esta es una enfermedad presente las 24 horas del día, los 7 días de la semana, y realmente es necesario obtener muestras adecuadas para una investigación de calidad.

El criterio principal es, obviamente, la radiografía abdominal y, por lo tanto, sabemos que hay muchos desafíos de diagnóstico en ese sentido. La detección temprana en verdad puede reducir la mortalidad y la morbilidad, pero en efecto sigue siendo un desafío. Los primeros estudios se centraron en la proteína C reactiva, por ejemplo, si el recuento de glóbulos blancos aumenta, pero también sabemos que bebés murieron delante de nosotros con un nivel de proteína C reactiva normal y sabemos que tenían ECN. Sabemos también que, cuando miramos las radiografías abdominales, no siempre podemos ver la neumatosis y no sé qué opinarán sus radiólogos, pero los nuestros dirán heces frente a neumatosis. Realmente necesitamos algo que nos ayude a distinguir eso. De hecho, en mi grupo de investigación lo llamamos "poopatosis" ["hecestosis"] y realmente necesitamos algo más.

Pasamos a la obtención de ecografías abdominales con un abdomen sin gases, por ejemplo, y pueden ser más sensibles que nuestras radiografías y útiles en entornos clínicos. No todas las radiografías son tan claras como esta, donde hay neumoperitoneo y una gran cantidad de neumatosis, pero necesitamos mejores pruebas diagnósticas.

Cuando pensamos en pruebas diagnósticas, específicamente, pensamos en biomarcadores y puede haber una prueba en el cuidado cotidiano que nos diga, sí, este bebé tiene ECN o no, no la tiene. Hay mucho trabajo realizado en este campo durante las últimas décadas, por lo que solo daré una descripción general de alto nivel aquí sobre los marcadores inflamatorios.

Todos sabemos que la ECN es una enfermedad inflamatoria. Los bebés tendrán citoquinas y quimiocinas altas y todo tipo de otros marcadores inflamatorios, pero en realidad no muestran si un bebé tiene ECN específicamente o si tiene otra infección como, por ejemplo, sepsis, o solo intolerancia a la alimentación



## Biomarcadores y predicción del riesgo de ECN

o está estresado por otra cuestión. Entonces, en los últimos 8 a 10 años, los marcadores microbianos y de metabolitos se volvieron muy importantes. Pensando puntualmente en el microbioma intestinal, por ejemplo, del que hablaré un poco más adelante, pero también en los metabolitos microbianos y en cómo podemos diagnosticar antes la ECN y qué podemos hacer al respecto de forma más específica. Entonces, trabajos más recientes están analizando un enfoque multiómico y nuestro grupo y otros lo están revisando. Por eso, hablaré un poco más sobre esto en las próximas diapositivas, pero se trata de analizar específicamente los marcadores proteómicos y otros marcadores metabólicos que tienen péptidos o aminoácidos específicos altos o bajos en los bebés con ECN en comparación con sus pares prematuros de control. Además, tenemos una beca para analizar los marcadores epigenéticos, por lo que sé que hablamos mucho sobre genética y aún no tenemos suficientes datos para decir que la ECN puede estar predispuesta por una enfermedad genética. Diré que se está trabajando mucho en esta área, pero aún no tenemos el veredicto final al respecto. Pero hablaré un poco sobre algunos modificadores epigenéticos que pueden ser importantes en el futuro.

Si profundizamos en esto, los biomarcadores inflamatorios y microbianos para la ECN, mencioné las citocinas y las quimiocinas, pero se han realizado muchos trabajos buenos que analizan lo sucedido en la trayectoria del bebé prematuro, en particular antes del diagnóstico de ECN, y algunas de las citocinas, específicamente las relacionadas con la gravedad de la ECN, incluyen TNF-alfa, interleucina-6 e interleucina-8, y las vemos en casi todos los bebés que tienen ECN. Pero lo que sucede y cuál es la trayectoria y el curso temporal de esas citocinas de hecho está por determinarse porque no estamos analizando muchas de estas muestras antes del diagnóstico de ECN. Solo se realizan análisis de sangre, por ejemplo, cuando creemos que tienen un diagnóstico y, a menudo, es demasiado tarde.

En los últimos 8 a 10 años, se realizó un buen trabajo sobre el microbioma y se vieron estos cambios en la composición microbiana de las heces, como la disminución de las bifidobacterias y el aumento de las enterobacterias que se correlacionan con la ECN. Si analizamos eso, podemos ver estos cambios en el microbioma 48 horas antes de un diagnóstico de ECN. Si tuviéramos la capacidad de poder verlo en el cuidado del paciente en tiempo real, ¿qué significaría eso para nosotros como médicos y qué podríamos hacer al respecto? ¿Podríamos empezar con los antibióticos antes? ¿Necesitamos modificar el microbioma con probióticos o incluso dar probióticos para poder alimentar el microbioma y aplicar esos cambios en un enfoque más protector? Eso aún está por verse.

A la vanguardia de este análisis está pensar si se puede predecir el microbioma de un bebé y el momento del cambio, ¿qué podemos hacer en el cuidado del paciente para poder prevenir esta enfermedad devastadora?

Muchas personas analizaron los biomarcadores en las heces porque sabemos que, cuando un bebé tiene ECN, uno de los signos que vemos es la sangre en las heces. Y, de nuevo, en el microbioma, tenemos esta disbiosis o estos cambios en las bacterias que preceden a un diagnóstico de ECN, a veces una semana antes. Otros biomarcadores en las heces incluyen la calprotectina. Es un marcador inflamatorio que en realidad no es específico para la ECN, pero a muchos de nosotros nos gusta aprovecharnos de él un poco y lo comprobamos en modelos de ratón y todo tipo de cuestiones por el estilo. Pero, en última instancia, no es lo que necesitamos en el cuidado del paciente.

Algunos biomarcadores más nuevos incluyen lo que se llama compuestos orgánicos volátiles o COV. No sé si alguna vez escucharon a un enfermero decir: “¿Creemos que este bebé tiene ECN porque huele diferente?”. Estos compuestos orgánicos volátiles son lo que llamamos una huella de olor que se puede poner en la incubadora de un bebé, por ejemplo. Es una nariz electrónica que puede oler si un bebé tiene ECN o sepsis. Así que es un recurso a futuro, pero hay que estar atentos.

Hay un grupo en Tulane con el que colaboramos y el grupo de Sun Yong Kim. Su equipo encontró que hay una fosfatasa alcalina intestinal, como una proteína alta, en las heces asociada con una baja actividad enzimática que puede predecir la aparición de ECN. En el futuro, se hablará mucho sobre esto.

Si pasamos de los biomarcadores en las heces a los de orina, hay muchos biomarcadores de orina diferentes y realizamos algunos trabajos, pero esto se remonta a 10 años. Algunos investigadores encontraron que la proteína de unión a ácidos grasos intestinales en la orina, que es un marcador de daño en la mucosa, es más alta de 3 a 7 días antes de la ECN. ¿Qué haríamos si 7 días antes supiéramos que un bebé tendrá ECN? No estoy segura, y el jurado aún está deliberando sobre eso, pero parecía prometedor en ese momento.

La proteína amiloide A sérica en orina es mayor en la ECN grave y, además, otro marcador, el principal metabolito urinario de la prostaglandina E2, se asocia con la longitud del intestino necrótico. Esto implica llegar demasiado tarde para nosotros y queremos poder predecir la enfermedad. Todos estos estudios, y hay varios otros que no tengo tiempo de mencionar, son realmente prohibitivos porque no cuentan con muchas muestras ni reclutaron muchos pacientes.



## Biomarcadores y predicción del riesgo de ECN

Todos me preguntan: “Bueno, ¿por qué no tenemos un biomarcador para la ECN, Misty?”. Y diré que es un trabajo difícil. Cuando era becaria empecé a tomar estas muestras, intenté que otras personas se sumaran en esta cuestión y es realmente complicado. Hablaré un poco sobre nuestro Biorepositorio de ECN y estamos trabajando mucho en él.

Uno de los problemas en el campo es que no hay mucha ECN en un centro determinado y tomar estas muestras es difícil porque, nuevamente, requiere una operación las 24 horas del día, los 7 días de la semana y muchas personas no tienen tanta dedicación como para levantarse de la cama a las 3:00 de la mañana y tomar una muestra intestinal en el quirófano. Cuando empecé a hacer biobancos, tenía muchas ganas de desarrollar un biorepositorio con muchas muestras de muchos bebés y, para mí, empezó en un centro porque, de nuevo, yo era becaria en ese momento.

¿Qué es un biorepositorio? Toma, procesa, almacena y distribuye muestras biológicas para ayudar a la investigación. Bien, cuando era becaria, no podía hacer un estudio multicéntrico, pero quería comenzar en algún lugar, así que comencé en nuestro centro. El objetivo es mantener estas muestras, obtenerlas con un gran manual de operaciones y procedimientos quirúrgicos estándar y, en verdad, obtener esa información clínica para la investigación. Uno de los obstáculos fue: ¿podemos tomar la muestra y ver qué le está sucediendo exactamente al bebé en ese día? ¿Es que tiene intolerancia alimentaria? ¿Recibió un medicamento nuevo? ¿Alguien agregó algo a su comida, cloruro de sodio, por ejemplo, u otras cosas que pueden cambiar el entorno intestinal? De hecho, nuestro trabajo para el biorepositorio es asegurar la calidad y, por ende, la accesibilidad y distribución de las muestras, así que hablaré más sobre eso.

En 2017, me asocié con NEC Society para ayudar realmente a abogar y atraer a otros centros, que no fueran los de mis amigos y colegas con los que compartía la misión, para poder comenzar a tomar muestras y profundizar en la búsqueda de un biomarcador para la ECN. NEC Society fue fundada por Jennifer Canvasser, para los que no la conocen, y son realmente nuestros socios para impulsar este biorepositorio de ECN. En los últimos años, hemos avanzado mucho. Ahora tenemos ocho centros de investigación inscritos con más de 843 bebés, y esto se actualizó el mes pasado, pueden ver aquí todos los diferentes centros implicados. Nuestro objetivo en efecto es obtener financiamiento para que todos puedan tener estas operaciones de investigación las 24 horas del día, los 7 días de la semana y puedan realmente acelerar la investigación de esta enfermedad devastadora.

Aquí está el mapa de los centros del repositorio de biomarcadores, y se puede ver que están en todo Estados

Unidos. Ciertamente podemos agregar más centros, por lo que estaré feliz de hablar con cualquiera en el descanso si están interesados. Y para abordar un poco la estructura administrativa, una de las cuestiones que escucho cuando se trata de tomar muestras, es que la gente dirá que es difícil, que no quieren hacer la Junta de Revisión Institucional (IRB). No se preocupen, hice todas las IRB por ustedes y hay una sola IRB para todos los centros miembros supervisados por mi centro y eso, generalmente, ayuda a otras IRB a sentirse bien de poder unirse. Todos los protocolos de la IRB están estandarizados e incluyen el intercambio porque esa es la naturaleza y el espíritu del biorepositorio. Por eso, se comparten entre centros, todos los consentimientos están estandarizados y permiten compartir dentro del biorepositorio, pero también con otros colaboradores. Además, capacitamos y brindamos apoyo al personal de investigación en cada centro para que el investigador principal (IP) no tenga que capacitar necesariamente a su coordinador de investigación sobre cómo hablar con una familia que tiene un bebé que se está muriendo de ECN, por ejemplo. También tenemos acuerdos de transferencia de materiales y de uso de datos entre cada centro para facilitar el intercambio de datos y muestras.

También brindamos supervisión y capacitación, por supuesto, al momento de la incorporación. Contamos con procedimientos quirúrgicos estándar y un manual de operaciones, y una base de datos REDCap compartida, donde recolectamos todos los datos clínicos de estos bebés. ¿Qué comieron el día que tomaron esa muestra y les realizaron una transfusión de sangre o de plaquetas o tuvieron algún tipo de exposición en realidad? Y analizamos las diversas exposiciones y cómo afectan a las muestras. ¿Estas muestras se procesan de manera regular y se garantiza que haya un almacenamiento y reactivos adecuados? Y no puedo decirles lo importante que es eso en la guía de ciencia básica del laboratorio. De hecho, enviamos reactivos a algunos de los centros que no tienen laboratorios de ciencias básicas para asegurarnos de que se mezclen y se almacenen correctamente. Además, ofrecemos la solución de cualquier problema. Digamos que tienen un cirujano o un enfermero quirúrgico o algo que no permite obtener esa muestra, trabajamos con los equipos para poder superar algunos obstáculos que personalmente tuve que superar en diferentes centros también.

¿Qué muestras tomamos? Eso es lo que todos quieren saber. Tomamos muestras de casi todo. Extraemos sangre en el momento de la inscripción. En el momento de la ECN, también extraemos sangre. Pero tomamos toda la sangre desechada que queda en el laboratorio clínico. Nos asociamos con ellos para recoger todo lo que sobra, y les sorprendería la cantidad de sangre que se desecha y la usamos para nuestros objetivos. Además, orina; heces y aspirado gástrico; leche materna, que recolectamos hasta tres veces por semana; y saliva, una vez



## Biomarcadores y predicción del riesgo de ECN

para el ADN genómico y luego cada vez que se extrae un trozo de intestino para la ECN o cualquier indicación, las 24 horas del día, los 7 días de la semana.

Las personas preguntan mucho sobre la obtención de tejidos y, entonces, ¿cuál es el control para un bebé que tuvo ECN en cuanto a la extracción intestinal? Los ejemplos incluyen el cierre de estoma, atresias intestinales, perforaciones intestinales espontáneas, estenosis, literalmente cualquier razón por la que se somete a un bebé a una laparotomía exploratoria con una extracción. Cuando pensamos en lo que no es ECN, no son muestras de control porque obviamente no hay bebés que se sometan a colonoscopias, por ejemplo, pero es nuestra mejor opción y la posibilidad de tener una comparación adecuada.

Trabajamos con los equipos para hablar sobre procedimientos detallados para obtener tejidos las 24 horas del día, los 7 días de la semana, los 365 días del año. Respecto a cómo procesar y almacenar, realmente intentamos agilizar esas medidas para que sea fácil para todos. Además, antes hablé del financiamiento, así que en términos de mantenimiento de biorepositorios, no dejaremos de hacer esto hasta que tengamos biomarcadores para todos nosotros en el cuidado del paciente. Cómo mantener la financiación es una preocupación constante. Reitero, nos asociamos con NEC Society. Brindan financiamiento para que los centros comiencen y pongan el operativo en marcha. Aportaron generosamente \$42 500 a todos los centros asociados con nosotros. Luego lo que hacemos es trabajar con cada centro para obtener su propio financiamiento, ya sea interno, de los National Institutes of Health (*Institutos Nacionales de la Salud*, NIH) o de una fundación, y tuvimos un éxito increíble en ese sentido.

Uno de los premios que recibimos hace un par de años y acabamos de recibir otro desembolso, en asociación nuevamente con la NEC Society, es el premio de Chan Zuckerberg Initiative por la colaboración entre pacientes y socios, por lo que otorgaron un total de \$2 000 000. Otorgan \$1 000 000 en cada desembolso, es decir, \$1 600 000 para ciencia y \$400 000 para NEC Society por el desarrollo de capacidades. El verdadero objetivo de este trabajo es encontrar estos fenotipos de la ECN, de nuevo, en las diferentes edades gestacionales, mediante enfoques multiómicos, y todo esto es posible gracias al biorepositorio que desarrollamos.

Cambiamos de tema para hablar de algunos de los estudios piloto que realizamos para obtener parte de este trabajo, observar efectivamente esos diferentes fenotipos y profundizar el uso de enfoques multiómicos. Estos son algunos gráficos dinámicos, pero lo que quiero que vean es que observamos algunas de las muestras intestinales. En el colon, el colon está a la izquierda y el íleon, a la derecha, se puede ver, en la parte

inferior de aquí, las muestras de ECN comparadas con las muestras de control o las que no son de ECN. Lo que me gustaría que apreciaran es el azul oscuro aquí en los pacientes con ECN en comparación con los controles. Lo que esto nos mostró es que hay ADN, lo que llamamos hipermetilación o metilación alta general en todo el genoma. Este fue uno de esos marcadores de ECN. Ahora, esto es en el momento de la extracción de tejido, por lo que todos sabemos que, si un bebé se somete a una cirugía, no es necesariamente un biomarcador si puede indicarnos la diferencia entre tejido inflamado y no inflamado.

Queríamos observar una pequeña cohorte: ¿podemos identificar esto en las heces y cómo se ve? Este es un proyecto piloto que hicimos en un estudio de casos y controles en el que analizamos a pacientes ya diagnosticados con ECN y sus heces. Se puede ver esta hipermetilación del ADN de color azul oscuro presente en los bebés con ECN. Ahora, lo que tenemos, actualmente nos financia R01 para hacer análisis. Es un gran estudio prospectivo en varios centros para determinar si esto sucede en cada edad gestacional y si es algo para lo que podemos desarrollar una prueba rápida para el cuidado del paciente para que sea accesible para todos.

Obtenemos mucha sangre, así que queríamos analizar toda esta sangre que recolectamos de nuestros bebés, ¿podemos ver las diferentes proteínas que contiene y podemos encontrar algo diferente? Hicimos este estudio que analizó más de 3000 marcadores de proteínas en el suero de bebés con ECN y sin esta enfermedad y encontramos solo 11 proteínas séricas significativamente diferentes entre los bebés con ECN y los controles. Cuando se piensa en cuáles son las mejores formas en las que podemos diagnosticar esta enfermedad, puede ser o no el suero o puede ser una muestra de suero, orina y heces. Pero solo hay 11 y muchas de ellas son algunas quimiocinas y otras cosas. Nos pareció interesante y quería compartirlo con ustedes.

Observamos, en el suero de estos bebés, los controles homologados por edad y luego los controles autocompatibles. Cuando hablamos de controles autocompatibles, eso se debe a que tomamos muestras prospectivamente de bebés que no tienen ECN porque no podemos indicar qué bebés desarrollarán ECN, pero los controles autocompatibles serán una muestra de un bebé que no tuvo ECN en comparación al momento en que la tuvieron. Definitivamente, hubo patrones de diferente abundancia de proteína sérica entre estos bebés y estamos profundizando en esto en una cohorte más grande.

Recientemente, analizamos la orina y, de nuevo, hicimos proteómica y lo que quiero que vean es que en definitiva hay una diferencia mayor en términos de orina como un líquido potencial en el que podemos diagnosticar la ECN en



## Biomarcadores y predicción del riesgo de ECN

comparación con el suero. Esto es algo emocionante que aún no se publicó, pero esperamos que se haga pronto. Hay mucho por venir.

En resumen, lo que encontramos es que hay dos paneles de proteínas en los que estamos realmente interesados y, a la izquierda, estos son REG1B y también REG3A y DEFA5. Estas tres son algunas proteínas de tipo peptídico antimicrobiano, por lo que estamos profundizando un poco más, pero definitivamente tenemos estos paneles de proteínas de orina que nos interesan.

Estamos haciendo un trabajo muy emocionante, por lo que nos encantaría asociarnos con cualquiera que esté interesado en convertirse en un centro del biorepositorio de ECN. Para hacerlo, envíeme un correo electrónico y organizaremos una reunión para hablar con su equipo y nuestro equipo sobre cómo funciona el biorepositorio, sobre la infraestructura con más detalle y la recolección de datos que requerimos para poder decir que alguna exposición afectó a estos bebés. Les daremos más información que necesiten. Luego, los agregaremos como centro, con una sola IRB, a nuestra base de datos compartida, por lo que no tienen que configurar nada de eso. Nosotros nos encargamos de eso.

En conclusión, la complejidad de la fisiopatología subyacente de la ECN impidió el avance durante décadas, y el descubrimiento de biomarcadores, enfoques preventivos y terapias efectivas realmente requiere un enfoque colaborativo, por lo que queremos asociarnos con ustedes en esto. Realmente, todos necesitamos trabajar juntos para construir un mundo sin enterocolitis necrotizante.

🕒 *Para completar este curso y reclamar su crédito, haga clic [aquí](#).*



**ANNENBERG CENTER  
FOR HEALTH SCIENCES**  
AT EISENHOWER

*Imparting knowledge. Improving patient care.*

Esta actividad está respaldada por una subvención educativa de  
**Mead Johnson Nutrition.**