

QUÍMICA CLÍNICA

**Principios, procedimientos
y correlaciones**

Quinta edición

Michael L. Bishop

**Mc
Graw
Hill**

Química clínica

PRINCIPIOS, PROCEDIMIENTOS Y CORRELACIONES

QUINTA EDICIÓN

Química clínica

PRINCIPIOS, PROCEDIMIENTOS Y CORRELACIONES

QUINTA EDICIÓN

Michael L. Bishop, MS, CLS, MT(ASCP)

Application Specialist
Global Customer Service
Knowledge Center 6
bioMérieux
Durham, North Carolina

Edward P. Fody, MD

Chief
Department of Pathology
Erlanger Medical Center
Chattanooga, Tennessee

Larry E. Schoeff, MS, MT(ASCP)

Director and Associate Professor, Medical Laboratory Science Program
University of Utah School of Medicine
Education Consultant, ARUP Laboratories
Salt Lake City, Utah

Traducción:

IQ Francisco Sánchez Fragoso
QFB Carina Amador Vázquez



MÉXICO • BOGOTÁ • BUENOS AIRES • CARACAS • GUATEMALA
LISBOA • MADRID • NUEVA YORK • SAN JUAN • SANTIAGO • SAO PAULO
AUCKLAND • LONDRES • MILÁN • MONTREAL • NUEVA DELHI
SAN FRANCISCO • SIDNEY • SINGAPUR • ST. LOUIS • TORONTO

*A Sheila, Chris, y Carson por su
apoyo y paciencia*

MLBA

*A Nancy, mi esposa, por su continuo
apoyo y dedicación*

EPF

*A mi esposa, Anita, por su amor
y apoyo*

LES

Prólogo

Parece que fue hace poco que escribí el prólogo de la cuarta edición de este libro. No obstante, desde entonces encuentro que han sido introducidas muchas pruebas de diagnóstico nuevas y que, bajo las recientes normas ADA/HSS, las pruebas más antiguas, incluso la de la glucosa, tienen que cumplir funciones más demandantes. Nuestro laboratorio ha cambiado la mayor parte de sus sistemas analíticos, instalado un nuevo sistema de información y ha sido reorganizado para satisfacer las necesidades siempre crecientes de un sistema de atención de la salud que depende en gran medida de pruebas de laboratorio. Mucho ha cambiado desde la cuarta edición, y es mérito de los editores y colaboradores de este libro que estén comprometidos a mantener el contenido educacional actual con los cambios que ocurren en la medicina de laboratorio.

Muchas pruebas, métodos y sistemas de medición nuevos continúan siendo introducidos en el mercado de atención de la salud que cada vez es más competitivo. Las pruebas de laboratorio parecen fáciles de realizar; sin embargo, los procesos de análisis suelen requerir tecnología compleja que es más difícil entender. Nuevas pruebas están evolucionando como resultado de hallazgos de investigación recientes, junto con nuevos procesos de medición que, otra vez, dependen de tecnología compleja. El único constante es, al parecer, el conocimiento creciente requerido para entender la ciencia del laboratorio clínico actual.

Este cambio rápido y evolución de las pruebas de laboratorio hace cada vez más difícil captar el conocimiento que define el estado actual de la práctica para los científicos del laboratorio clínico. La tarea del profesional de laboratorio se vuelve más imponente y también más crítica con cada año que pasa. Por fortuna, los editores y colaboradores de este texto han estado dispuestos a enfrentar esta tarea en apariencia imposible para apoyar y desarrollar la profesión. ¡Deseo agradecerles y felicitarlos!

La quinta edición de *Química clínica: principios, procedimientos y correlaciones* continúa su misión de atender las necesidades de la educación formal de nuestros estudiantes en la ciencia del laboratorio clínico, así como las necesidades continuas de los profesionales del área. Ésta

facilita el proceso educacional al identificar los objetivos del aprendizaje, enfocándose en conceptos e ideas clave, y aplicando la teoría a través de casos prácticos. Cubre los aspectos básicos del análisis de laboratorio, así como muchas áreas especiales de las pruebas de laboratorio clínico. Y, aún es posible llevar este libro a clase, al laboratorio, la oficina o a casa para estudiar.

Por haber trabajado de forma personal con algunos de los editores y colaboradores, sé que tienen gran nivel, tanto en el laboratorio como en el salón de clases. Sus intereses y bases proveen un balance excelente entre lo académico y lo práctico, lo que asegura que tanto estudiantes como profesionales tengan ante sí una base bien desarrollada de conocimiento que ha sido refinada de manera cuidadosa por la experiencia. Proveen el cribado y selección necesarios para separar el trigo de la paja, y proveer el sustento real para nuestros estudiantes y nosotros mismos.

Para la multitud de estudiantes a quienes va dirigido este libro, permítanme transmitirles algunas recomendaciones de mi amigo y mentor Olaf el vikingo. Al parecer su joven hijo se estaba embarcando en un viaje al mundo real de trabajo. El hijo de Olaf le pregunta, “¿Cómo llego a la cima?” la recomendación de Olaf fue, “¡Tienes que empezar desde abajo y comenzar a subir!” Después de reflexionar esto por un momento, su hijo preguntó, “¿Cómo llego al fondo?” Olaf contestó, “¡Tienes que conocer a alguien!” Al igual que los estudiantes de la ciencia del laboratorio clínico, se debe estudiar y prestar atención a las recomendaciones de este libro; sin embargo, se debe buscar también a los mentores. Los autores de este libro, así como sus instructores de curso y sus profesores en el laboratorio, son claves para iniciar su carrera. ¡Búsquelos y benefíciese de su aprendizaje y experiencia! Estos profesionales conocen lo último, y poseen el conocimiento actual del área y, sobre todo, están dedicados a ayudarlo.

Jame O. Westgard, PhD
Professor, Pathology and Laboratory Medicine
University of Wisconsin
Madison, Wisconsin

Prefacio

La química clínica continúa siendo una de las áreas de la medicina de laboratorio que avanza con más rapidez. Desde la publicación de la primera edición de este libro en / 1985, han tenido lugar muchos cambios. Nuevas tecnologías y técnicas analíticas han sido introducidas, con un impacto impresionante en la práctica de la química clínica. Además, el sistema de atención de la salud está cambiando. Hay mayor énfasis en mejorar la calidad de la atención del paciente, los resultados de cada uno de los pacientes, la responsabilidad financiera y la administración de calidad total. La prueba en el lugar de la atención (PLDA) está también a la vanguardia de la práctica de la atención de la salud, y ha puesto de manifiesto retos y oportunidades para los laboratoristas clínicos. Ahora, más que nunca, los laboratoristas necesitan interesarse en las correlaciones de enfermedad, interpretaciones, resolución de problemas, aseguramiento de la calidad y efectividad de costos; necesitan saber no sólo el *cómo* de las pruebas sino también el *qué*, *por qué* y *cuándo*. Los editores de *Química clínica: principios y procedimientos* han designado la quinta edición como un recurso incluso más valioso para estudiantes y profesionales.

Al igual que las cuatro ediciones anteriores, la quinta edición de *Química clínica: principios, procedimientos y correlaciones* es completa, actualizada y fácil de entender para estudiantes de todos los niveles. También pretende ser un recurso organizado de manera práctica para profesores y profesionales. Los editores han intentado mantener la legibilidad del libro y mejorar su contenido. Debido a que los laboratoristas clínicos usan sus habilidades interpretativas

y analíticas en la práctica diaria de la química clínica, se ha hecho un esfuerzo para mantener un equilibrio apropiado entre principios analíticos, técnicas y las correlaciones de resultados con los estados morbosos.

En esta quinta edición, los editores han hecho varios cambios importantes en respuesta a peticiones de lectores, alumnos, profesores y profesionales. Los contenidos de capítulo, objetivos, términos clave y resúmenes han sido actualizados y ampliados. Cada capítulo ahora incluye estudios de caso comunes, actualizados, y preguntas o ejercicios de práctica. Se ha ampliado el glosario de términos. Para proveer un estudio actualizado y completo de la química clínica, todos los capítulos han sido actualizados y revisados por profesionales que practican la química clínica y la medicina de laboratorio todos los días. Los procedimientos básicos de los procedimientos analíticos analizados en los capítulos reflejan las técnicas más recientes o ejecutadas comúnmente en el laboratorio de química clínica. Los procedimientos detallados han sido omitidos debido a la diversidad de equipo y conjuntos comerciales empleados en los laboratorios clínicos actuales. Los manuales de instrumento e instrucciones de los conjuntos son las referencias más confiables para instrucciones detalladas o procedimientos analíticos actuales. Todo el material de los capítulos ha sido actualizado, mejorado y reorganizado para mejor continuidad y legibilidad.

Michael L. Bishop
Edward P. Fody
Larry E. Schoeff

Colaboradores

Dev Abraham, MD

Assistant Professor in Medicine
University of Utah School of Medicine
Salt Lake City, Utah

John J. Ancy, MA, RRT

Director of Respiratory Services
St. Elizabeth's Hospital
Belleville, Illinois

Michael J. Bennett, PhD, FRCPATH, FACB, DABCC

Professor of Pathology and Pediatrics
Mary Quincy Parsons and Kelsey Louise Wright Professor of Mitochondrial Disease Research
University of Texas Southwestern Medical Center
Dallas, Texas

Larry H. Bernstein, MD

Chief, Clinical Pathology
New York Methodist Hospital Weill Cornell
Brooklyn, New York

Larry A. Broussard, PhD, DABCC, FACB

Professor
Clinical Laboratory Sciences
LSU Health Sciences Center
New Orleans, Louisiana

Ellen Carreiro-Lewandowski, MS, CLS

Professor
Department of Medical Laboratory Science
University of Massachusetts Dartmouth
North Dartmouth, Massachusetts

George S. Cembrowski, MD, PhD

Associate Professor
Department of Laboratory Medicine and Pathology
University of Alberta
Director, Medical Biochemistry
Regional Laboratory Services
Capital Health Authority
Edmonton, Alberta, Canada

Sharon S. Ehrmeyer, PhD, MT(ASCP)

Professor, Pathology and Laboratory Medicine
Director, MT/CLS
University of Wisconsin
Madison, Wisconsin

Elizabeth L. Frank, PhD

Assistant Professor—Clinical
Department of Pathology
University of Utah Health Sciences Center
Salt Lake City, Utah

Vicki S. Freeman, PhD, MT(ASCP)SC

Chair and Associate Professor
Department of Clinical Laboratory Science
School of Allied Health Science
The University of Texas Medical Branch at Galveston
Galveston, Texas

Lynn R. Ingram, MS

Program Director
Clinical Laboratory Sciences
University of Tennessee, Memphis
Memphis, Tennessee

Robert E. Jones, MD, FACP, FACE

Adjunct Associate Professor of Medicine and Pediatrics
University of Utah School of Medicine
Diabetes Scientific Manager
Aventis Pharmaceuticals
Salt Lake City, Utah

Lauren E. Knecht, BA

Salt Lake City, Utah

Thomas P. Knecht, MD, PhD

Associate Professor of Medicine
Division of Endocrinology
University of Utah School of Medicine
Salt Lake City, Utah

Daniel H. Knodel, MD, FACP, JD

Associate Professor of Medicine—Clinical
Division of Endocrinology and Metabolism
University of Utah School of Medicine
Salt Lake City, Utah

Robin Gaynor Krefetz, MEd, MT(ASCP), CLS(NCA)

CLT Program Director
Community College of Philadelphia
Philadelphia, Pennsylvania

Ronald H. Laessig, PhD

Professor, Population Health
Professor, Pathology and Laboratory Medicine
Director, Wisconsin State Laboratory of Hygiene
University of Wisconsin
Madison, Wisconsin

Louann W. Lawrence, DrPH, CLS(NCA)

Professor and Department Head
Clinical Laboratory Sciences
School of Allied Health Professions
Louisiana State University Health Sciences Center
New Orleans, Louisiana

Barbara J. Lindsey, MS, CLSp(C), C(ASCP), ART(CSLT)

Chair, Department of Clinical Laboratory Sciences
Virginia Commonwealth University
Richmond, Virginia

Roberta A. Martindale, BSc(MLS), MLT, MT(ASCP)

Lecturer/Clinical Instructor
Division of Medical Laboratory Science
Department of Laboratory Medicine and Pathology
University of Alberta
Edmonton, Alberta, Canada

Gwen A. McMillin, PhD

Assistant Professor (Clinical) of Pathology
University of Utah School of Medicine
Medical Director, Clinical Toxicology
ARUP Laboratories, Inc.
Salt Lake City, Utah

Judith R. McNamara, MT

Lipid Metabolism and Cardiovascular Research
Laboratories
Jean Mayer USDA Human Nutrition Research Center on
Aging at Tufts University and
Gerald J. and Dorothy R. Friedman School of Nutrition
Science and Policy
Tufts University
Boston, Massachusetts

A. Wayne Meikle, MD

Professor of Medicine and Pathology
University of Utah School of Medicine
Director, Endocrine Testing Laboratory
ARUP Laboratories
Salt Lake City, Utah

Susan Orton, PhD, MS, MT(ASCP)

Senior Clinical Immunology Fellow
McLendon Clinical Labs
University of North Carolina Healthcare
Chapel Hill, North Carolina

Joan E. Polancic, MEd, CLS(NCA)

Director of Education & Project Planning
American Society for Clinical Laboratory Science
Bethesda, Maryland

Elizabeth E. Porter, BS, MT(ASCP)

Lab Alliance, Cincinnati, Ohio
Technical Specialist, Point of Care
The Health Alliance, Laboratory Services
Cincinnati, Ohio

Alan T. Remaley, MD, PhD

National Institutes of Health
Senior Staff
Department of Laboratory Medicine
Bethesda, Maryland

William L. Roberts, MD, PhD

Associate Professor
Department of Pathology
University of Utah Health Sciences Center
Salt Lake City, UT

Frank A. Sedor, PhD, DABCC

Director, Clinical Chemistry Services
Duke University Medical Center
Durham, North Carolina

Carol J. Skarzynski, BA, SC(ASCP)

Clinical Instructor
Department of Pathology and Laboratory Medicine
Hartford Hospital School of Allied Health
Hartford, Connecticut

LeAnne Swenson, MD

Division of Endocrinology
Department of Medicine
University of Utah
Salt Lake City, Utah

David P. Thorne, PhD, MT(ASCP)

Medical Technology Program
Michigan State University
East Lansing, Michigan

John G. Toffaletti, PhD

Associate Professor of Pathology
Co-Director of Clinical Chemistry Services
Duke University Medical Center
Durham, North Carolina

Tolmie E. Wachter, SLS(ASCP)

AVP, Director of Corporate Safety
ARUP Laboratories
Salt Lake City, Utah

G. Russell Warnick, MS, MBA

President
Pacific Biometrics Research Foundation
Issaquah, Washington

Alan H. B. Wu, PhD

Director, Clinical Chemistry Laboratory
Hartford Hospital
Hartford, Connecticut

James T. Wu

Professor of Pathology
Department of Pathology
University of Utah Health Sciences Center
Salt Lake City, Utah

Agradecimientos

Un proyecto tan grande como éste requiere la asistencia y apoyo de muchos individuos. Los editores desean expresar su agradecimiento a los colaboradores de esta quinta edición de *Química clínica: principios, procedimientos y correlaciones* –los profesionales de laboratorio y educadores dedicados a quienes los editores han tenido el privilegio de conocer y con quienes han intercambiado ideas durante años. Estas personas fueron seleccionadas por su experiencia en áreas particulares y su compromiso con la educación de los laboratoristas clínicos. Muchos han pasado su vida profesional en el laboratorio clínico, en la mesa de trabajo, enseñando a los alumnos o intercambiando ideas con especialistas clínicos. En estas posiciones de primera línea, han desarrollado una perspectiva de lo que es importante para la siguiente generación de laboratoristas clínicos.

Se extiende el agradecimiento a los alumnos, colegas, profesores y mentores en la profesión que han ayudado a conformar nuestras ideas acerca de la práctica de la química clínica y la educación. También, queremos agradecer a

las muchas compañías y organizaciones profesionales que proporcionaron información de productos y fotografías, o autorizaron reproducir diagramas y cuadros de sus publicaciones. Muchos documentos del *National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)* han sido también recursos de información importantes. Estos documentos están referidos de modo directo en los capítulos apropiados.

Los editores reconocen la contribución y esfuerzo de las personas que participaron en ediciones anteriores. Sus esfuerzos proporcionaron el marco para muchos de los nuevos capítulos. Por último, se reconoce con gratitud la cooperación y asistencia del personal de Lippincott Williams & Wilkins, en particular a Kevin Dietz por sus recomendaciones y apoyo.

Los editores se esfuerzan de forma continua para mejorar ediciones futuras de este libro. De nuevo se pide y se da la bienvenida a comentarios, críticas e ideas de nuestros lectores para el mejoramiento de este libro.

Contenido

Prólogo / vii

Prefacio / ix

Colaboradores /xi

Agradecimientos / xv

PARTE I

Principios básicos y práctica de la química clínica / 1

1 Principios básicos y práctica / 2

Eileen Carreiro-Lewandowski

UNIDADES DE MEDIDA / 3

REACTIVOS / 4

- Sustancias químicas / 4
- Materiales de referencia / 5
- Especificaciones para el agua / 5
- Propiedades de la solución / 6

MATERIALES DEL LABORATORIO CLÍNICO / 8

- Termómetros y temperatura / 9
- Material de vidrio y de plástico / 9
- Desecadores y desecantes / 15
- Balanzas / 16

TÉCNICAS BÁSICAS DE SEPARACIÓN / 17

- Centrifugación / 17
- Filtración / 18
- Diálisis / 18

MATEMÁTICAS Y CÁLCULOS DE LABORATORIO / 19

- Cifras significativas / 19
- Logaritmos / 19
- Concentración / 20
- Diluciones / 23
- Agua de hidratación / 25

CONSIDERACIONES ACERCA DE LA MUESTRA / 26

- Tipos de muestras / 26
- Procesamiento de la prueba / 29
- Variables de la muestra / 29
- Cadena de custodia / 31

RESUMEN / 31

PREGUNTAS DE REPASO / 31

REFERENCIAS / 32

2 Seguridad y regulaciones en el laboratorio / 34

Tolmie E. Wachter

SEGURIDAD Y REGLAS EN EL LABORATORIO / 35

- Ley de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA) / 35
- Otras reglas y normas / 35

CÓMO CREAR CONCIENCIA DE LA SEGURIDAD ENTRE EL PERSONAL DEL LABORATORIO / 35

- Responsabilidad sobre la seguridad / 35
- Señalización y etiquetado / 36

EQUIPO DE SEGURIDAD / 36

- Campanas / 36
- Equipo de almacenamiento químico / 36
- Equipo de protección personal / 37

SEGURIDAD BIOLÓGICA / 38

- Consideraciones generales / 38
- Derrames / 38
- Plan de control de exposición a patógenos llevados por la sangre / 38
- Patógenos llevados por el aire / 39
- Envío / 39

SEGURIDAD QUÍMICA / 39

- Comunicación de riesgos / 39
- Hoja de datos de seguridad del material (HDSM) / 39
- Estándar de laboratorio / 40
- Efectos tóxicos de sustancias peligrosas / 40
- Almacenamiento y manejo de sustancias químicas / 40

SEGURIDAD EN RELACIÓN CON LA RADIACIÓN / 41

- Protección ambiental / 41
- Protección del personal / 41
- Radiación no ionizante / 41

SEGURIDAD CONTRA INCENDIOS / 42

- Química del fuego / 42
- Clasificación de incendios / 42
- Tipos y aplicaciones de extintores de fuego / 42

CONTROL DE OTROS RIESGOS / 43

- Riesgos eléctricos / 43
- Riesgos con gases comprimidos / 43
- Riesgos con materiales criogénicos / 44
- Riesgos mecánicos / 44
- Riesgos ergonómicos / 44

ELIMINACIÓN DE MATERIALES PELIGROSOS / 44

- Desechos químicos / 44
- Desechos radiactivos / 45
- Desechos biopeligrosos / 45

DOCUMENTACIÓN E INVESTIGACIÓN DE ACCIDENTES / 45

RESUMEN / 46

PREGUNTAS DE REPASO / 46

LECTURAS RECOMENDADAS / 47

3 Control de calidad y estadística / 48

George S. Cembrowski y Roberta A. Martindale

CONCEPTOS ESTADÍSTICOS / 49

- Estadística descriptiva / 49
- Estadísticas inferenciales / 55

INTERVALOS DE REFERENCIA (ALCANCE NORMAL) / 57

- Definición del intervalo de referencia / 57
- Recolección de datos para estudios de intervalo de referencia / 58

Análisis estadístico de los datos del intervalo de referencia / 58

EFICACIA DEL DIAGNÓSTICO / 61

Teoría del valor predictivo / 61

MÉTODO DE SELECCIÓN Y EVALUACIÓN / 64

Método de selección / 64

Método de evaluación / 64

Medición de la imprecisión / 64

Medición de la inexactitud / 65

Experimento de comparación de métodos / 66

ASEGURAMIENTO Y CONTROL DE LA

CALIDAD / 69

Control de calidad / 70

Operación general de un sistema de control de calidad estadístico / 71

Respuesta de las reglas de control al error / 72

Uso de datos del paciente para control de calidad / 79

Control de calidad externo / 80

Prueba en el lugar de la atención: la dificultad más reciente / 81

Hacia la atención de calidad del paciente / 83

PROBLEMAS DE PRÁCTICA / 84

PREGUNTAS DE REPASO / 86

REFERENCIAS / 87

4 Técnicas analíticas e instrumentación / 90

Alan H. B. Wu

ESPECTROFOTOMETRÍA Y FOTOMETRÍA / 91

Ley de Beer / 91

Instrumentos espectrofotométricos / 93

Elementos de un espectrofotómetro / 93

Aseguramiento de la calidad del espectrofotómetro / 96

Espectrofotómetro de absorción atómica / 97

Fotometría de flama / 98

Fluorometría / 98

Quimioluminiscencia / 100

Turbidez y nefelometría / 100

Aplicaciones láser / 101

ELECTROQUÍMICA / 101

Celdas galvánicas y electrolíticas / 101

Semiceldas / 101

Electrodos selectivos de iones (ESI) / 102

Electrodos de pH / 102

Electrodos detectores de gas / 104

Electrodos de enzimas / 104

Clorídometros coulométricos y voltametría de separación anódica / 105

ELECTROFORESIS / 105

Procedimiento / 105

Materiales de soporte / 106

Tratamiento y aplicación de la muestra / 106

Detección y cuantificación / 106

Electroendosmosis / 107

Enfoque isoelectrico / 107

Electroforesis capilar / 107

CROMATOGRFÍA / 108

Modos de separación / 108

Procedimientos cromatográficos / 109

Cromatografía líquida de alta presión (CLAP) / 110

Cromatografía de gases / 111

INSTRUMENTACIÓN PARA PROTEÓMICA / 115

Electroforesis bidimensional / 116

Espectrometría de masas MADI-TOF y SELDI-TOF / 116

OSMOMETRÍA / 117

Osmómetro de punto de congelamiento / 118

TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA PRUEBAS EN EL

LUGAR DE LA ATENCIÓN (PLDA) / 119

RESUMEN / 120

PREGUNTAS DE REPASO / 121

REFERENCIAS / 122

5 Principios de automatización química clínica / 124

William L. Roberts

HISTORIA DE LOS ANALIZADORES

AUTOMATIZADOS / 125

FUERZAS IMPULSORAS HACIA MÁS

AUTOMATIZACIÓN / 125

ENFOQUES BÁSICOS HACIA LA

AUTOMATIZACIÓN / 126

PASOS DEL ANÁLISIS AUTOMATIZADO / 127

Preparación e identificación de la muestra / 127

Medición de la muestra y entrega / 129

Sistemas de reactivos y entrega / 132

Fase de reacción química / 133

Fase de medición / 136

Procesamiento de la señal y manejo de datos / 138

SELECCIÓN DE ANALIZADORES

AUTOMATIZADOS / 139

AUTOMATIZACIÓN TOTAL DEL LABORATORIO / 140

Fase preanalítica (procesamiento de la muestra) / 140

Fase analítica (análisis químicos) / 141

Fase posanalítica (manejo de datos) / 142

TENDENCIAS FUTURAS EN LA

AUTOMATIZACIÓN / 142

RESUMEN / 142

PREGUNTAS DE REPASO / 143

REFERENCIAS / 144

6 Inmunoensayos y técnicas con sonda de ácido nucleico / 145

Susan Orton

INMUNOENSAYOS / 146

Consideraciones generales / 146

Inmunoensayos no marcados / 147

Inmunoensayos marcados / 151

SONDAS DE ÁCIDO NUCLEICO / 160

Química del ácido nucleico / 161

Técnicas de hibridación / 161

Aplicaciones de la sonda de ácido nucleico / 164

RESUMEN / 164

PREGUNTAS DE REPASO / 165

REFERENCIAS / 166

7 Pruebas en el lugar de la atención / 168

Elizabeth E. Porter

ADMINISTRACIÓN Y ESTRUCTURA / 169

Licencia y regulación CLIA / 169

Personal de apoyo / 169
Estandarización / 171
Estructura de supervisión / 172

COMUNICACIÓN / 172

Manejo de una petición para PLDA nueva o adicional / 172
Selección preliminar de dispositivos o métodos / 172
Validación / 173
Negociación de contrato / 173
Ejecución / 173

EXAMEN DE APTITUD / 174

APLICACIONES EN EL LUGAR DE LA ATENCIÓN / 175

Determinación de glucosa en el LDA / 175
Constituyentes químicos y gases sanguíneos determinados en el LDA / 175
Coagulación en el LDA / 175
Hematología en el LDA / 176
Conectividad en el LDA / 176

RESUMEN / 176

PREGUNTAS DE REPASO / 177

REFERENCIAS / 177

PARTE II

Correlaciones clínicas y procedimientos analíticos / 178

8 Aminoácidos y proteínas / 179

Barbara J. Lindsey

AMINOÁCIDOS / 180

Estructura básica / 180
Metabolismo / 180
Aminoacidopatías / 180
Análisis de aminoácidos / 186

PROTEÍNAS / 186

Características generales / 186
Síntesis / 191
Catabolismo y balance de nitrógeno / 192
Clasificación / 192
Función general de las proteínas / 192
Proteínas plasmáticas / 193
Proteínas diversas / 199
Anormalidades de proteína total / 202
Métodos de análisis / 203
Proteínas en otros líquidos corporales / 211

RESUMEN / 215

PREGUNTAS DE REPASO / 216

REFERENCIAS / 217

9 Compuestos de nitrógeno no proteínico / 219

Elizabeth L. Frank

UREA / 220

Bioquímica / 220
Correlaciones de enfermedad / 220
Métodos analíticos / 221
Requisitos de la muestra y sustancias que interfieren / 222
Intervalo de referencia / 223

CREATININA/CREATINA / 223

Bioquímica / 223
Correlaciones de enfermedad / 223
Métodos analíticos para creatinina / 225
Requisitos de la muestra y sustancias que interfieren / 227
Fuentes de error / 227
Intervalo de referencia / 227
Métodos analíticos para creatina / 227

ÁCIDO ÚRICO / 227

Bioquímica / 227
Correlaciones de enfermedad / 28
Métodos analíticos / 2239
Requisitos de la muestra y sustancias que interfieren / 230
Intervalo de referencia / 230

AMONIACO / 231

Bioquímica / 231
Correlaciones de enfermedad / 231
Métodos analíticos / 231
Requisitos de la muestra y sustancias que interfieren / 231
Fuentes de error / 232
Intervalo de referencia / 232

RESUMEN / 232

PREGUNTAS DE REPASO / 233

REFERENCIAS / 234

10 Enzimas / 236

Robin Gaynor Krefetz y Gwen A. McMillin

PROPIEDADES GENERALES

Y DEFINICIONES / 237

CLASIFICACIÓN DE ENZIMAS

Y NOMENCLATURA / 237

CINÉTICA DE ENZIMAS / 238

Mecanismo catalítico de enzimas / 238
Factores que afectan las reacciones enzimáticas / 239
Medición de la actividad enzimática / 242
Cálculo de la actividad enzimática / 243
Medición de la masa de enzima / 243
Enzimas como reactivos / 243

ENZIMAS DE IMPORTANCIA CLÍNICA / 243

Cinasa de creatina / 243
Deshidrogenasa de lactato / 248
Aminotransferasa de aspartato / 250
Aminotransferasa de alanina / 251
Fosfatasa alcalina / 252
Fosfatasa ácida / 253
 γ -Glutamyltransferasa / 255
Amilasa / 256
Lipasa / 257
Deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato / 258

RESUMEN / 259

PREGUNTAS DE REPASO / 259

REFERENCIAS / 260

11 Carbohidratos / 262*Vicki S. Freeman***DESCRIPCIÓN GENERAL DE LOS****CARBOHIDRATOS / 263**

Clasificación de los carbohidratos / 263

Estereoisómeros / 264

Monosacáridos, disacáridos y polisacáridos / 264

Propiedades químicas de los carbohidratos / 264

Metabolismo de la glucosa / 265

Destino de la glucosa / 265

Regulación del mecanismo de carbohidratos / 267

HIPERGLUCEMIA / 268

Diabetes mellitus / 268

Fisiopatología de la diabetes mellitus / 271

Criterios para el diagnóstico de la diabetes mellitus / 271

HIPOGLUCEMIA / 273

Defectos genéticos en el metabolismo de carbohidratos / 274

FUNCIÓN DEL LABORATORIO EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON ALTERACIONES METABÓLICAS DE LA GLUCOSA / 274

Métodos de medición de glucosa / 275

Automonitoreo de glucosa sanguínea (AMGS) / 276

Tolerancia a la glucosa y pruebas posprandiales de dos horas / 276

Hemoglobina glucosilada / 277

Cetonas / 278

Microalbuminuria / 279

Prueba de autoanticuerpo insulínico de los islotes / 279

RESUMEN / 279**PREGUNTAS DE REPASO / 280****REFERENCIAS / 281****12 Lípidos y lipoproteínas / 282***Alan T. Remaley, Judith R. McNamara y G. Russell Warnick***QUÍMICA DE LÍPIDOS / 283**

Ácidos grasos / 283

Triglicéridos / 284

Fosfolípidos / 284

Colesterol / 285

ESTRUCTURA GENERAL DE LIPOPROTEÍNAS / 285

Quilomicrones / 286

Lipoproteínas de muy baja densidad / 287

Lipoproteínas de baja densidad / 287

Lipoproteína (a) / 287

Proteínas de alta densidad / 287

FISIOLOGÍA Y METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS / 287

Absorción de lípidos / 288

Vía exógena / 288

Vía endógena / 289

Vía inversa de transporte de colesterol / 289

DISTRIBUCIONES DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS EN LA POBLACIÓN / 290**PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD / 293**

Arteriosclerosis / 293

Hiperlipoproteinemia / 294

Hipercolesterolemia / 295

Hipertrigliceridemia / 295

Hiperlipoproteinemia combinada / 296

Incremento de Lp(a) / 296

Hipolipoproteinemia / 296

Hipoalfalipoproteinemia / 296

ANÁLISIS DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS / 298

Medición de lípidos / 298

Medición de colesterol / 298

Medición de triglicérido / 299

Métodos de lipoproteína / 300

Métodos de HDL / 300

Métodos para LDL / 302

Analizadores compactos / 303

Métodos de apolipoproteína / 303

Medición de fosfolípidos / 303

Medición de ácidos grasos / 303

ESTANDARIZACIÓN DE ENSAYOS DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS / 304

Precisión / 304

Exactitud / 304

Interacciones de matriz / 305

Red de laboratorios para el método de referencia de colesterol del CDC / 305

Objetivos de desempeño analítico / 305

Control de calidad / 305

Recolección de la muestra / 305

RESUMEN / 306**PREGUNTAS DE REPASO / 306****REFERENCIAS / 307****13 Electrolitos / 314***Joan E. Polancic***AGUA / 315**

Osmolalidad / 315

ELECTRÓLITOS / 317

Sodio / 317

Potasio / 322

Cloruro / 324

Bicarbonato / 326

Magnesio / 327

Calcio / 331

Fosfato / 334

Lactato / 336

INTERVALO ANIÓNICO / 338**ELECTRÓLITOS Y FUNCIÓN RENAL / 339****RESUMEN / 340****PREGUNTAS DE REPASO / 341****REFERENCIAS / 341****14 Gases en la sangre, pH, y sistemas amortiguadores / 343***Sharon S. Ehrmeyer, Ronald H. Laessig y John J. Ancy***DEFINICIONES: ÁCIDO, BASE, DISOLUCIÓN AMORTIGUADORA / 344**

EQUILIBRIO ACIDOBASE / 344Mantenimiento del H^+ / 344Sistemas amortiguadores: regulación del H^+ / 344

Regulación del equilibrio acidobase: pulmones y riñones / 345

VALORACIÓN DE LA HOMEOSTASIS**ACIDOBASE / 346**

El sistema amortiguador de bicarbonato y la ecuación de Henderson-Hasselbalch / 346

Trastornos acidobase: acidosis y alcalosis / 348

INTERCAMBIO DE OXÍGENO Y GAS / 349

Oxígeno y bióxido de carbono / 349

Transporte de oxígeno / 351

Cantidades relacionadas con la evaluación del estado de oxigenación del paciente / 352

Disociación hemoglobina-oxígeno / 353

MEDICIÓN / 353

Determinación espectrofotométrica (cooxímetro) de la saturación del oxígeno / 353

Analizadores de gas en la sangre: pH, PCO_2 y PO_2 / 354Medición de PO_2 / 354Mediciones de pH y PCO_2 / 356

Tipos de sensores electroquímicos / 356

Sensores ópticos / 357

Calibración / 357

Parámetros calculados / 358

Corrección de la temperatura / 358

ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD / 358

Consideraciones preanalíticas / 358

Evaluaciones analíticas: control de calidad y prueba de eficiencia / 360

Interpretación de los resultados / 361

RESUMEN / 361**PREGUNTAS DE REPASO / 362****REFERENCIAS / 362****15 Oligoelementos / 364***John G. Toffaletti***CONSIDERACIONES GENERALES DE LA****RECOLECCIÓN, EL PROCESAMIENTO Y LA DETERMINACIÓN EN LABORATORIO DE LOS OLIGOELEMENTOS / 366****HIERRO / 366**

Distribución del hierro / 366

Requisitos dietéticos de hierro / 366

Absorción del hierro / 366

Transporte del hierro / 366

Excreción del hierro / 366

Funciones bioquímicas del hierro / 367

Trastornos clínicos de la deficiencia de hierro / 367

Trastornos clínicos del exceso de hierro / 368

Papel del hierro en el daño tisular / 368

Evaluación en laboratorio del estado de hierro / 368

Contenido de hierro total (hierro sérico) / 368

Capacidad total de fijación del hierro / 369

Saturación porcentual / 369

Transferrina y ferritina / 369

COBRE / 369

Requerimientos dietéticos de cobre / 369

Absorción, transporte y excreción de cobre / 369

Funciones bioquímicas del cobre / 369

Deficiencia de cobre / 370

Exceso de cobre / 370

Evaluación en laboratorio del estado de cobre / 370

CINC / 370

Requisitos dietéticos de cinc / 370

Absorción, transporte y excreción del cinc / 370

Funciones bioquímicas del cinc / 370

Deficiencia y toxicidad del cinc / 371

Evaluación en laboratorio del estado de cinc / 371

COBALTO / 371**CROMO / 371****FLÚOR / 371****MANGANESO / 372****MOLIBDENO / 372****SELENIO / 373****RESUMEN / 373****PREGUNTAS DE REPASO / 374****REFERENCIAS / 375****16 Porfirinas y hemoglobina / 377***Louann W. Lawrence y Larry A. Broussard***PORFIRINAS / 378**

Función de las porfirinas en el cuerpo / 378

Química de las porfirinas / 378

Síntesis de la porfirina / 378

Significado clínico y correlación de la enfermedad / 379

Métodos para el análisis de porfirinas / 381

HEMOGLOBINA / 383

Papel en el cuerpo / 383

Estructura de la hemoglobina / 383

Síntesis y degradación de la hemoglobina / 384

Significado clínico y correlación de la enfermedad / 385

Metodología / 390

Tecnología del DNA / 393

MIOGLOBINA / 393

Estructura y función en el cuerpo / 393

Significado clínico / 394

Metodología / 394

RESUMEN / 394**PREGUNTAS DE REPASO / 395****REFERENCIAS / 396****PARTE III****Valoración de las funciones del sistema orgánico / 398****17 Introducción a las hormonas y la función hipofisaria / 399***Robert E. Jones***EMBRIOLOGÍA Y ANATOMÍA / 400****ASPECTOS FUNCIONALES DE LA UNIDAD****HIPOTALÁMICA-HIPOFISARIA / 400****HORMONAS HIPOFISIOTRÓPICAS****O HIPOTALÁMICAS / 402****HORMONAS DE LA HIPÓFISIS ANTERIOR / 402****HORMONA DEL CRECIMIENTO / 402**

Acciones de la hormona del crecimiento / 403

Pruebas / 404

- Acromegalia / 404
- Deficiencia de la hormona del crecimiento / 405

PROLACTINA / 405

- Prolactinoma / 406
- Otras causas de hiperprolactinemia / 406
- Evaluación clínica de la hiperprolactinemia / 406
- Control del prolactinoma / 406
- Galactorrea idiopática / 407

HIPOPITUITARISMO / 407

- Etiología del hipopituitarismo / 407
- Tratamiento del panhipopituitarismo / 408

HORMONA DE LA HIPÓFISIS POSTERIOR / 408

- Oxitocina / 409
- Vasopresina / 409

PREGUNTAS DE REPASO / 409

REFERENCIAS / 410

18 Función suprarrenal / 412

LeAnne Swenson y Daniel H. Knodel

LA GLÁNDULA SUPRARRENAL: UN PANORAMA GENERAL / 413

EMBRIOLOGÍA Y ANATOMÍA / 413

LA CORTEZA SUPRARRENAL POR ZONA / 414

- Esteroidogénesis de la corteza / 414
- Hiperplasia suprarrenal congénita / 415

DIAGNÓSTICO DEL ALDOSTERONISMO

PRIMARIO / 417

- Algoritmo del diagnóstico / 417

INSUFICIENCIA SUPRARRENAL (ENFERMEDAD DE ADDISON) / 418

- Diagnóstico de insuficiencia suprarrenal / 418
- Tratamiento con insuficiencia suprarrenal / 419

HIPERCORTISOLISMO / 419

SÍNDROME DE CUSHING / 419

- Diagnóstico del síndrome de Cushing / 420
- Cuando se confirma Cushing, las pruebas de estimulación de la CRH ayudan a determinar la dependencia de la ACTH (por lo general innecesaria) / 421
- Procedimientos de localización / 422
- Algoritmo para la determinación de Cushing / 422
- Tratamiento / 423

EXCESO DE ANDRÓGENO / 423

- Diagnóstico de la producción excesiva de andrógeno / 423
- Tratamiento para la sobreproducción andrógena suprarrenal / 423

MÉDULA SUPRARRENAL / 424

- Desarrollo / 424
- Biosíntesis y almacenamiento de las catecolaminas / 424
- Degradación de las catecolaminas / 424
- Mediciones de las catecolaminas urinarias y plasmáticas / 425
- Causas de hiperactividad simpática / 426
- Diagnóstico del feocromocitoma / 426
- Tratamiento del feocromocitoma / 427
- Resultado y pronóstico / 427

INCIDENTALOMA / 427

PREGUNTAS DE REPASO / 429

REFERENCIAS / 429

19 Función gonadal / 431

Dev Abraham y A. Wayne Meikle

OVARIO / 432

- Anatomía funcional del ovario / 432
- Producción hormonal por los ovarios / 432
- Ciclo menstrual / 432
- Control hormonal de la ovulación / 433
- Desarrollo puberal femenino / 433
- Anormalidades del ciclo menstrual / 433
- Hipogonadismo hipogonadotrópico / 434
- Hirsutismo / 435
- Terapia del reemplazo de estrógeno / 436

TESTÍCULOS / 436

- Anatomía funcional del aparato reproductor masculino / 436
- Fisiología de los testículos / 437
- Trastornos del desarrollo sexual e hipofunción testicular / 438
- Diagnóstico del hipogonadismo / 441
- Terapia de reemplazo de testosterona / 441
- Monitoreo de la terapia de reemplazo de testosterona / 442

PREGUNTAS DE REPASO / 442

REFERENCIAS / 443

LECTURAS RECOMENDADAS / 444

20 Función de la glándula tiroides / 445

Daniel H. Knodel

LA TIROIDES / 446

- Anatomía y desarrollo de la tiroides / 446
- Síntesis de la hormona tiroidea / 446
- Unión proteica de la hormona tiroidea / 447
- Control de la función de la tiroides / 448
- Acciones de la hormona tiroidea / 448

PRUEBAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA TIROIDES / 448

- Pruebas sanguíneas / 448

OTROS INSTRUMENTOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA TIROIDES / 449

- Evaluación por medicina nuclear / 449
- Ultrasonido de la tiroides / 450
- Aspiración con aguja fina / 450

TRASTORNOS DE LA TIROIDES / 450

- Hipotiroidismo / 450
- Tirotoxicosis / 451
- Enfermedad de Graves / 451
- Adenomas tóxicos y bocios multinodulares / 453

DISFUNCIÓN DE LA TIROIDES INDUCIDA POR FÁRMACOS / 453

- Enfermedad de la tiroides inducida por amiodarona / 453
- Tiroiditis subaguda / 454

ENFERMEDAD NO TIROIDEA / 454

NÓDULOS TIROIDEOS / 454

RESUMEN / 454

PREGUNTAS DE REPASO / 455

REFERENCIAS / 455

21 Función paratiroidea y control de la homeostasis del calcio / 457

Thomas P. Knecht y Lauren E. Knecht

HOMEOSTASIS DEL CALCIO / 458

Control hormonal del metabolismo del calcio / 458

FISIOLOGÍA ORGÁNICA Y METABOLISMO

DEL CALCIO / 461

Sistema gastrointestinal / 461

Sistema renal / 461

Sistema óseo / 462

HIPERCALCEMIA / 462

Signos y síntomas de la hipercalcemia / 463

Causas de la hipercalcemia / 463

HIPOCALCEMIA / 465

Signos y síntomas de hipocalcemia / 466

Causas de hipocalcemia / 466

FÁRMACOS QUE AFECTAN EL METABOLISMO DEL CALCIO / 468

ENFERMEDADES ÓSEAS METABÓLICAS / 469

Raquitismo y osteomalacia / 469

Osteoporosis / 470

RESUMEN / 472

PREGUNTAS DE REPASO / 472

REFERENCIAS / 473

22 Función hepática / 475

Edward P. Fody

ANATOMÍA / 476

Unidad estructural / 476

FISIOLOGÍA / 477

Función excretora y secretora / 477

Actividad principal de síntesis / 479

Desintoxicación y metabolismo de fármacos / 480

TRASTORNOS DEL HÍGADO / 480

Ictericia / 480

Cirrosis / 480

Tumores / 480

Síndrome de Reye / 481

Trastornos relacionados con fármacos y alcohol / 481

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN HEPÁTICA / 481

Análisis de la bilirrubina / 481

Urobilinógeno en orina y heces / 483

Medición de los ácidos biliares en el suero / 484

Pruebas enzimáticas en la enfermedad hepática / 484

Pruebas de medición de la capacidad sintética del hígado / 485

Pruebas de medición del metabolismo del nitrógeno / 485

Hepatitis / 486

RESUMEN / 491

PREGUNTAS DE REPASO / 492

REFERENCIAS / 492

23 Función cardíaca / 496

Lynn R. Ingram

CARDIOPATÍA / 497

Síntomas de cardiopatía / 497

CARDIOPATÍA CONGÉNITA / 498

INSUFICIENCIA CARDÍACA CONGESTIVA / 500

SÍNDROME CORONARIO AGUDO / 501

CARDIOPATÍA HIPERTENSIVA / 503

CARDIOPATÍA INFECCIOSA / 504

DIAGNÓSTICO DE LA CARDIOPATÍA / 505

Diagnóstico de laboratorio para el infarto agudo del miocardio / 505

Marcadores de trastornos inflamatorios y de coagulación / 507

Marcadores de insuficiencia cardíaca congestiva / 509

Otros marcadores / 509

Pruebas cardíacas centradas en el paciente / 510

El papel del laboratorio en la vigilancia de la cardiopatía / 511

TRATAMIENTO / 511

Tratamiento con fármacos / 512

Tratamiento quirúrgico / 514

RESUMEN / 514

PREGUNTAS DE REPASO / 514

REFERENCIAS / 515

24 Función renal / 517

Carol J. Skarzynski y Alan H. B. Wu

ANATOMÍA RENAL / 518

FISIOLOGÍA RENAL / 519

Filtración glomerular / 519

Función tubular / 519

Eliminación de los compuestos nitrogenados no proteicos / 521

Homeostasis del agua, electrolítica y acidobásica / 522

Función endocrina / 523

1,25-Dihidroxivitamina D₃ / 524

PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS / 524

Mediciones de eliminación / 524

Electroforesis de la orina / 525

β₂-Microglobulina / 525

Mioglobina / 525

Microalbúmina / 525

Cistatina C / 526

Urianálisis / 526

FISIOPATOLOGÍA / 529

Enfermedades glomerulares / 529

Enfermedades tubulares / 530

Infección/obstrucción del tracto urinario / 531

Cálculos renales / 531

Insuficiencia renal / 531

RESUMEN / 536

PREGUNTAS DE REPASO / 536

REFERENCIAS / 537

25 Función pancreática / 538

Edward P. Fody

FISIOLOGÍA DE LA FUNCIÓN PANCREÁTICA / 538

ENFERMEDADES DEL PÁNCREAS / 540

PRUEBAS DE LA FUNCIÓN PANCREÁTICA / 541

Prueba de secretina / CCK / 542

Análisis de la grasa fecal / 543

Determinaciones de electrolitos en sudor / 544

Enzimas séricas / 544

Otras pruebas de la función pancreática / 545

RESUMEN / 545

PREGUNTAS DE REPASO / 546

REFERENCIAS / 546

LECTURAS RECOMENDADAS / 546

26 Función gastrointestinal / 547*Edward P. Fody***FISIOLOGÍA Y BIOQUÍMICA DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA / 547****ASPECTOS CLÍNICOS DEL ANÁLISIS GÁSTRICO / 548****PRUEBAS DE LA FUNCIÓN GÁSTRICA / 548**

Mediciones del ácido gástrico en pruebas secretorias basales y máximas / 548

Medición del ácido gástrico / 548

Gastrina plasmática / 549

FISIOLOGÍA INTESTINAL / 549**ASPECTOS CLINICOPATOLÓGICOS DE LA FUNCIÓN INTESTINAL / 550****PRUEBAS DE LA FUNCIÓN INTESTINAL / 550**

Prueba de tolerancia a la lactosa / 550

Prueba de absorción de la D-xilosa / 550

Carotenoides séricos / 551

Análisis de la grasa fecal / 551

Otras pruebas de malabsorción intestinal / 551

RESUMEN / 552**PREGUNTAS DE REPASO / 552****REFERENCIAS / 553****LECTURAS RECOMENDADAS / 553****27 Análisis de los líquidos corporales / 554***Frank A. Sedor***LÍQUIDO AMNIÓTICO / 555****LÍQUIDO CEREBROESPINAL / 560****SUDOR / 563****LÍQUIDO SINOVIAL / 564****LÍQUIDOS SEROSOS / 564**

Líquido pleural / 565

Líquido pericárdico / 565

Líquido peritoneal / 565

RESUMEN / 566**PREGUNTAS DE REPASO / 566****REFERENCIAS / 567****LECTURAS RECOMENDADAS / 567****PARTE IV****Áreas de especialidad de la química clínica / 569****28 Monitoreo de fármacos terapéuticos / 570***David P. Thorne***VÍAS DE ADMINISTRACIÓN / 571****ABSORCIÓN / 571****FÁRMACOS LIBRES EN COMPARACIÓN CON COMBINADOS / 572****DISTRIBUCIÓN DEL FÁRMACO / 572****ELIMINACIÓN DE FÁRMACOS / 572**

Eliminación metabólica / 574

Eliminación renal / 575

FARMACOCINÉTICA / 575**RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA / 576****FÁRMACOS CARDIOACTIVOS / 577**

Digoxina / 577

Lidocaína / 578

Quinidina / 578

Procainamida / 578

Disopramida / 579

ANTIBIÓTICOS / 579

Aminoglucósidos / 579

Vancomicina / 579

FÁRMACOS ANTIEPILÉPTICOS / 580

Fenobarbital / 580

Fenitoína / 580

Ácido valproico / 581

Carbamacepina / 581

Etosuximida / 581

FÁRMACOS PSICOACTIVOS / 581

Litio / 581

Antidepresivos tricíclicos / 581

BRONCODILATADORES / 582

Teofilina / 582

FÁRMACOS INMUNOSUPRESIVOS / 582

Ciclosporina / 582

Tacrólimo / 583

ANTINEOPLÁSICOS / 583

Metotrexato / 583

RESUMEN / 583**PREGUNTAS DE REPASO / 584****REFERENCIAS / 585****LECTURAS RECOMENDADAS / 586****29 Toxicología / 587***David P. Thorne***EXPOSICIÓN A TOXINAS / 588****VÍAS DE EXPOSICIÓN / 588****RELACIÓN DOSIS-RESPUESTA / 588**

Toxicidad aguda y crónica / 589

ANÁLISIS DE LOS AGENTES TÓXICOS / 589**TOXICOLOGÍA DE AGENTES ESPECÍFICOS / 589**

Alcohol / 589

Monóxido de carbono / 592

Agentes cáusticos / 593

Cianuro / 593

Metales / 593

Pesticidas / 596

TOXICOLOGÍA DE LOS FÁRMACOS**TERAPÉUTICOS / 597**

Salicilatos / 597

Acetaminofeno / 597

TOXICOLOGÍA DE FÁRMACOS DE ABUSO / 598

Anfetaminas / 599

Esteroides anabólicos / 600

Canabinoides / 600

Cocaína / 600

Opiáceos / 601

Fenciclidina / 601

Hipnóticos sedantes / 601

RESUMEN / 601**PREGUNTAS DE REPASO / 602**

REFERENCIAS / 603**LECTURAS RECOMENDADAS / 603****30 Marcadores tumorales en circulación: conceptos básicos y aplicaciones clínicas / 604***James T. Wu***CONCEPTOS BÁSICOS / 605**

Regulación del crecimiento / 605
 Neoplasia e hiperplasia / 605
 Diferencias entre células normales y cancerígenas / 605
 Tumores benignos y malignos / 605
 Metástasis / 605
 Vía de transducción de la señal / 605
 Ciclo celular / 606
 Apoptosis / 606
 Angiogénesis / 607
 Adhesión / 607

ESPECIFICIDAD Y SENSIBILIDAD / 608**UTILIDADES CLÍNICAS DE LOS MARCADORES TUMORALES / 608**

Valoración / 608
 Monitoreo en el tratamiento / 608
 Pronóstico / 609
 Detección temprana / 609
 Terapia objetivo / 609

TIPOS DE MARCADORES TUMORALES / 609

Enzimas, proteínas del suero y hormonas / 609
 Proteínas carcinoembrionarias / 610
 Marcadores tumorales definidos monoclonales / 611
 Marcadores tumorales no específicos / 611
 Marcadores tumorales específicos celulares / 611

RECOMENDACIONES PARA LA SOLICITUD DE UNA PRUEBA / 612

Solicitud de pruebas en serie / 612
 Uso del mismo equipo / 612
 Vida media del marcador tumoral / 612
 Efecto de gancho / 612

MARCADORES TUMORALES SOLICITADOS CON FRECUENCIA / 612

Marcadores tumorales individuales / 612
 Antígeno carcinoembrionario (ACE) / 613
 Cromogranina A / 613
 Ácido homovanílico (AHV) / 613
 Ácido siálico relacionado con lípidos en plasma (ASAL-P) / 614
 Antígeno de carcinoma celular escamoso (ACCE) / 614
 Ácido vanililmandélico (AVM) / 614

PREGUNTAS DE REPASO / 615**REFERENCIAS / 615****LECTURAS RECOMENDADAS / 616****31 Vitaminas, grasas esenciales y macronutrientes / 617***Larry H. Bernstein***REQUERIMIENTOS ENERGÉTICOS / 618****ENERGÍA DE COMBUSTIBLES / 618****VITAMINAS / 618**

Vitaminas solubles en grasa / 620

Vitaminas solubles en agua / 622

Requerimiento dietético recomendado (RDR) / 626

Metabolismo vitamínico / 626

Dietas especiales / 627

ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES / 627**RIESGO DE DESNUTRICIÓN / 628**

Personas en riesgo de desnutrición / 628

Respuesta inflamatoria sistémica y la dicotomía adaptativa nutricional dependiente / 629

Hipermetabolismo por estrés / 629

EVALUACIÓN NUTRICIONAL / 632

Programa de prevención del riesgo de desnutrición / 632

Índice creatinina/altura / 632

Pruebas inmunológicas / 632

Composición corporal / 632

Pruebas funcionales / 633

Marcadores proteínicos en la evaluación nutricional / 633

Nutrición parenteral total / 636

RESUMEN / 638**PREGUNTAS DE REPASO / 639****REFERENCIAS / 639****32 Química clínica y el paciente geriátrico / 642***Larry H. Bernstein***EL IMPACTO DE LOS PACIENTES GERIÁTRICOS EN EL LABORATORIO CLÍNICO / 643****TEORÍAS DEL ENVEJECIMIENTO / 644****CAMBIOS BIOQUÍMICOS Y FISIOLÓGICOS DEL ENVEJECIMIENTO / 645**

Cambios de la función endocrina / 645

Diabetes mellitus y resistencia a la insulina / 647

Cambios en la función renal / 648

Cambios en la función hepática / 649

Función pulmonar y cambios electrolíticos / 649

Cambios lipídicos y cardiovasculares / 650

Cambios enzimáticos / 650

RESULTADOS DE QUÍMICA CLÍNICA Y ENVEJECIMIENTO / 650

Establecimiento de intervalos de referencia en ancianos / 650

Variables preanalíticas, los ancianos y los resultados químicos / 651

Monitoreo de la terapéutica con fármacos en el anciano / 651

Los efectos del ejercicio y la nutrición en ancianos y resultados químicos / 652

RESUMEN / 652**PREGUNTAS DE REPASO / 653****REFERENCIAS / 653****33 Química clínica pediátrica / 655***Michael J. Bennett***CAMBIOS EN EL DESARROLLO DEL NEONATO AL ADULTO / 656**

Respiración y circulación / 656

Crecimiento / 656

Desarrollo orgánico / 656
Problemas de premadurez e inmadurez / 656
FLEBOTOMÍA Y ELECCIÓN DE LA INSTRUMENTACIÓN PARA MUESTRAS PEDIÁTRICAS / 657
Flebotomía / 657
Aspectos preanalíticos / 657
Elección del analizador / 658
ANÁLISIS EN LOS PUNTOS DE ATENCIÓN EN PEDIATRÍA / 658
REGULACIÓN DE LOS GASES SANGUÍNEOS Y DEL pH EN NEONATOS E INFANTES / 659
Medición del gas sanguíneo y acidobase / 659
REGULACIÓN DE LOS ELECTRÓLITOS Y DEL AGUA: FUNCIÓN RENAL / 660
Trastornos que afectan el equilibrio electrolítico y del agua / 660
DESARROLLO DE LA FUNCIÓN HEPÁTICA / 661
Ictericia fisiológica / 661
Metabolismo energético / 661
Diabetes / 662
Metabolismo del nitrógeno / 662
Productos nitrogenados finales como marcadores de la función renal / 663
Pruebas de la función hepática / 663
CALCIO Y METABOLISMO ÓSEO EN PEDIATRÍA / 663
Hipocalcemia e hipercalcemia / 663
FUNCIÓN ENDOCRINA EN PEDIATRÍA / 664
Secreción hormonal / 664
Sistema hipotalámico-hipofisario-tiroideo / 664
Sistema hipotalámico-hipofisario-corteza suprarrenal / 665
Factores del crecimiento / 665
Control endocrino de la maduración sexual / 666
DESARROLLO DEL SISTEMA INMUNITARIO / 666
Conceptos básicos de inmunidad / 667
Componentes del sistema inmunitario / 667
Producción de anticuerpos en neonatos y lactantes / 668
Trastornos de la inmunidad / 668
ENFERMEDADES GENÉTICAS / 668
Fibrosis quística / 669
Valoración del recién nacido en poblaciones completas / 669
Diagnóstico de enfermedad metabólica en clínica / 669
METABOLISMO DE FÁRMACOS Y FARMACOCINÉTICA / 671

Monitoreo terapéutico del fármaco / 672
Problemas toxicológicos en química clínica pediátrica / 672

RESUMEN / 672**PREGUNTAS DE REPASO / 673****REFERENCIAS / 673****Apéndices / 674**

A. UNIDADES BÁSICAS DEL SI / 675
B. PREFIJOS POR UTILIZARSE CON UNIDADES DEL SI / 675
C. CONVERSIONES BÁSICAS DE LABORATORIO CLÍNICO / 675
D. CONVERSIÓN DE UNIDADES TRADICIONALES A UNIDADES DEL SI PARA ANALITOS QUÍMICOS FRECUENTE / 676
E. CONCENTRACIONES DE ÁCIDOS Y BASES USADOS CON FÓRMULAS RELACIONADAS / 677
F. EJEMPLOS DE QUÍMICOS INCOMPATIBLES / 678
G. NOMOGRAMA PARA LA DETERMINACIÓN DEL ÁREA DE LA SUPERFICIE CORPORAL / 680
H. NOMOGRAMA DE FUERZA CENTRÍFUGA RELATIVA / 681
I. CENTRIFUGACIÓN: AJUSTE DE LA VELOCIDAD Y EL TIEMPO / 682
J. CUADRO DE CONVERSIÓN DE TRANSMITANCIA-ABSORBANCIA PORCENTUAL / 682
K. PESOS ATÓMICOS SELECCIONADOS / 684
L. CARACTERÍSTICAS DE LOS TIPOS DE VIDRIO / 685
M. CARACTERÍSTICAS DE LOS TIPOS DE PLÁSTICO / 686
N. RESISTENCIA QUÍMICA DE LOS TIPOS DE PLÁSTICO / 686
O. LIMPIEZA DEL MATERIAL DE LABORATORIO / 687
P. CUADRO DE RESUMEN DE PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS / 688
Q. INFORMACIÓN SELECCIONADA SOBRE FÁRMACOS QUE SUELEN CAUSAR ADICCIÓN / 690
R. TABLA PERIÓDICA DE LOS ELEMENTOS / 692

Glosario / 693**Índice / 711**

Principios básicos y práctica de la química clínica

Principios básicos y práctica

Eileen Carreiro-Lewandowski

CAPÍTULO

1

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- UNIDADES DE MEDIDA
- REACTIVOS
 - Sustancias químicas
 - Materiales de referencia
 - Especificaciones para el agua
 - Propiedades de la solución
- MATERIALES DEL LABORATORIO CLÍNICO
 - Termómetros y temperatura
 - Material de vidrio y de plástico
 - Desecadores y desecantes
 - Balanzas
- TÉCNICAS BÁSICAS DE SEPARACIÓN
 - Centrifugación
 - Filtración
 - Diálisis
- MATEMÁTICAS Y CÁLCULOS DE LABORATORIO
 - Cifras significativas
 - Logaritmos
 - Concentración
 - Diluciones
 - Agua de hidratación
- CONSIDERACIONES ACERCA DE LA MUESTRA
 - Tipos de muestras
 - Procesamiento de la prueba
 - Variables de la muestra
 - Cadena de custodia
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al terminar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Convertir resultados de un formato de unidad a otro usando el SI.
- Describir las especificaciones para cada tipo de agua de laboratorio.
- Identificar los diversos grados químicos empleados en la preparación de reactivos e indicar su uso correcto.
- Definir estándar primario, SRM, estándar secundario.
- Describir los siguientes términos que se relacionan con soluciones y, cuando sea apropiado, proporcionar las unidades respectivas: por ciento, molaridad, normalidad, molalidad, saturación, propiedades coligativas, potencial redox, conductividad y densidad relativa.
- Definir una disolución amortiguadora y dar la fórmula para calcular pH y pK.
- Usar la ecuación de Henderson-Hasselbalch para determinar la variable faltante cuando se da el pK y el pH, o el pK y la concentración del ácido débil y su base conjugada.
- Elaborar una lista de los tipos de termómetros utilizados en el laboratorio clínico, y describir cada uno de ellos.
- Clasificar el tipo de pipeta cuando se tiene una pipeta real o su descripción.
- Describir dos formas de calibrar una pipeta.
- Definir un desecante y explicar cómo se utiliza en el laboratorio clínico.
- Llevar a cabo de manera correcta los cálculos matemáticos de laboratorio proporcionados en este capítulo.
- Identificar y describir los tipos de muestras utilizadas en la química clínica.
- Describir los pasos generales para procesar muestras de sangre.
- Identificar las variables preanalíticas, de precolección, colección y poscolección que afectan de manera adversa los resultados de laboratorio.
- Elaborar una lista con el orden de disposición adecuado para los tubos de colección.
- Identificar el aditivo o conservador, si está presente, cuando se da un color de tapón de recolección.

TÉRMINOS CLAVE

Absorbancia Δ	Dilución	Ley de Beer	Presión osmótica
Agente oxidante	Dilución serial	Líquido cefalorraquídeo (LCR)	Propiedad coligativa
Agua desionizada	Disolución	Mantisa	Reducida
Agua destilada	Disolución amortiguadora	Materiales de referencia estándar (SRM)	Relación
Agua RO	Disolvente	Molalidad	Sangre arterial
Analito	EDTA	Molaridad	Sangre total
Anhidra	Estándar	Nanofiltración	Sistema Internacional de Unidades (SI)
Bureta	Estándar primario	NCCLS	Solución en por ciento
Calibración de un punto	Estándar secundario	Normalidad	Soluto
Cáncer	Filtración	Oxidado	Suero
Centrifugación	Filtrado	Paracentesis	Sustancias delicuescentes
Cifras significativas	Flebotomía	Peso equivalente	Termistor
Conductividad	Fuerza iónica	pH	Tubo evacuado
Densidad	Hemólisis	Pipeta	Ultrafiltración
Densidad relativa	Henderson-Hasselbalch	pK	Unidad internacional
Desecadro	Hidrato	Potencial redox	Valencia
Desecante	Higroscópica		Venipunción
Diálisis	Ictericia		

El objetivo principal de un laboratorio de química clínica es la ejecución correcta de procedimientos analíticos que producen información exacta y precisa, lo que contribuye al diagnóstico y tratamiento del paciente. El logro de resultados confiables requiere que el laboratorista clínico use de manera correcta los materiales y el equipo, y comprenda los conceptos fundamentales críticos para cualquier procedimiento analítico. Los temas de este capítulo son unidades de medición, materiales básicos de laboratorio, matemáticas de laboratorio a nivel de introducción, además de una explicación breve de la recolección y el procesamiento de muestras.

UNIDADES DE MEDIDA¹

Cualquier resultado de laboratorio cuantitativo importante incluye dos componentes. El primero representa el valor real, y el segundo es una etiqueta que identifica las unidades de la expresión. El número describe el valor numérico, mientras que la unidad define la cantidad física o dimensión (p. ej., masa, longitud, tiempo o volumen).

Aunque las distintas divisiones científicas han utilizado de manera tradicional varios sistemas de unidades, se prefiere el *Sistema Internacional de Unidades (SI)*, adoptado a nivel internacional en 1960, en las publicaciones científicas y los laboratorios clínicos, y suele ser el único sistema utilizado en muchos países. Este sistema se diseñó para dar a la comunidad científica global un método uniforme al describir cantidades físicas. Las unidades del SI (denominadas *unidades SI*) se basan en el sistema métrico. En el SI existen varias clasificaciones de unidades, una de las cuales es la unidad básica. Hay varias unidades básicas (cuadro 1-1), donde longitud (metro), masa (kilogramo) y cantidad de sustancia (mol) son las que se encuentran con más frecuencia. A otro conjunto de unidades reconocidas se le denomina *unidades derivadas*. Una unidad derivada,

como lo indica su nombre, es una derivada o una función matemática de una de las unidades básicas. Un ejemplo de una unidad SI es metro por segundo (m/s) que se utiliza para expresar velocidad. Sin embargo, algunas unidades que no son del SI se utilizan tanto que su uso se ha vuelto aceptable con las unidades SI básicas o derivadas (cuadro 1-1). Entre éstas se incluyen ciertas unidades antiguas, como hora, minuto, día, gramo, litro y ángulos planos expresados como grados. Estas unidades, aunque se utilizan y reconocen, no se clasifican técnicamente como unidades SI básicas ni derivadas.

Otra convención SI es el uso de prefijos estándar utilizados junto con una unidad simple (cuadro 1-2). Los prefijos se pueden añadir para indicar fracciones decimales o múltiplos de una determinada unidad. Por ejemplo, 0.001 L se podría expresar por medio del prefijo *mili*, lo que equivaldría a un mililitro y se escribe como 1 ml. Note que el término SI para masa es *kilogramo*; es la única unidad básica que contiene un prefijo como parte de su convención de nombre. Por lo general, los prefijos estándar para masa emplean el término *gramo* en vez de kilogramo.

Los resultados de laboratorio suelen expresarse en términos de concentración de sustancia (p. ej., moles) o la masa de una sustancia (mg/dl, g/dl, meq/L y UI). Estas unidades familiares y tradicionales pueden causar confusión durante la interpretación. Se recomienda presentar el informe de *analitos* usando moles de soluto por volumen de disolución (concentración de sustancia) y que el litro se use como volumen de referencia.² Los cuadros en que se presentan valores de referencia de laboratorio proporcionan valores tradicionales, además de valores SI recomendados. En el apéndice D, *Conversión de unidades tradicionales a unidades SI para analitos químicos clínicos comunes*, se presentan ambas unidades junto con el factor de conversión de unidades tradicionales a unidades SI para analitos comunes.

CUADRO 1-1. UNIDADES DEL SI

CANTIDAD BASE	NOMBRE	SÍMBOLO
longitud	metro	m
masa	kilogramo	kg
tiempo	segundo	s
corriente eléctrica	ampere	A
temperatura termodinámica	kelvin	K
cantidad de sustancia	mol	mol
intensidad luminosa	candela	cd
Derivada seleccionada		
frecuencia	hertz	Hz
fuerza	newton	N
temperatura Celsius	grado Celsius	°C
actividad catalítica	katal	kat
Selección no aceptada por el SI		
minuto (tiempo)	(60s)	min
hora	(3600s)	h
día	(86,400s)	d
litro (volumen)	(1 dm ³ = 10 ⁻³ m ³)	L
angstrom	(0.1 nm = 10 ⁻¹⁰ m)	Å

REACTIVOS

Al parecer, en el laboratorio altamente automatizado de nuestros días hay poca necesidad de que el laboratorista clínico prepare reactivos. Casi todos los fabricantes de instrumentos también elaboran reactivos, por lo común en forma de "kit" fácilmente disponible (es decir, los reactivos necesarios y sus recipientes de almacenamiento respectivos se preempacan como una unidad) o que sólo requieren la adición de agua o disolución amortiguadora a los componentes de reactivo preempacados. Una mayor conciencia de los riesgos de ciertas sustancias químicas y numerosos requisitos de agencias reguladoras han ocasionado que los laboratorios químico clínicos eliminen reservas masivas de sustancias químicas y opten por usar reactivos preparados. De forma periódica, sobre todo en laboratorios de hospitales relacionados con la investigación y el desarrollo, análisis especializados o validación de métodos, es posible que el laboratorista tenga que preparar varios reactivos o disoluciones. Como resultado del deterioro del reactivo, de la oferta y la demanda, o de la institución de programas de contención de costos, llega a tomarse la decisión de preparar los reactivos internamente. Por tanto, es necesario conocer por completo sustancias químicas, estándares, disoluciones, disoluciones amortiguadoras y requisitos de agua.

Sustancias químicas³

Las sustancias químicas analíticas existen en varios grados de pureza: grado reactivo analítico (AR); ultrapura, químicamente pura (CP); *United States Pharmacopea* (USP);

CUADRO 1-2. PREFIJOS EMPLEADOS CON UNIDADES SI

FACTOR	PREFIJO	SÍMBOLO
10 ⁻¹⁸	atto	a
10 ⁻¹⁵	femto	f
10 ⁻¹²	pico	p
10 ⁻⁹	nano	n
10 ⁻⁶	micro	μ
10 ⁻³	milli	m
10 ⁻²	centi	c
10 ⁻¹	deci	d
10 ¹	deka	da
10 ²	hecto	h
10 ³	kilo	k
10 ⁴	mega	M
10 ⁹	giga	G
10 ¹²	tera	T
10 ¹⁵	peta	P
10 ¹⁸	exa	E

Nota: los prefijos se emplean para indicar una subunidad o un múltiplo de una unidad básica del SI.

National Formulary (NF), y grado técnico o comercial. La *American Chemical Society* (ACS) ha establecido especificaciones para sustancias químicas grado reactivo analíticas, y los fabricantes satisfarán o excederán estos requisitos. Las etiquetas en estos reactivos expresan las impurezas reales de cada lote de sustancia o enumeran las impurezas máximas permisibles. Las etiquetas deben estar impresas de manera clara e incluir el porcentaje de impurezas presente y las iniciales AR o ACS, o los términos *para uso en laboratorio* o *materiales de referencia grado estándar ACS*. Las sustancias químicas de esta categoría son adecuadas para la mayor parte de los procedimientos analíticos de laboratorio. Las sustancias ultrapuras, que pasan por más pasos de purificación, se emplean en procedimientos específicos como cromatografía, absorción atómica, inmunoensayos, diagnóstico molecular, estandarización u otras técnicas que requieren sustancias extremadamente puras. Estos reactivos podrían llevar las designaciones HPLC o cromatográfica (véase a continuación) en sus etiquetas.

Debido a que las sustancias grado USP y NF se emplean para elaborar fármacos, las limitaciones establecidas para este grupo de sustancias se basan sólo en el criterio de que no sean dañinas para los individuos. Las sustancias de este grupo pueden ser suficientemente puras para usarse en casi todos los procedimientos químicos; sin embargo, se debe reconocer que sus estándares de pureza no se basan en las necesidades del laboratorio y, por tanto, podrían satisfacer o no los requisitos del ensayo.

Las designaciones para reactivo de CP o grado puro indican que no se expresan las limitaciones de impurezas,

y que la preparación de estas sustancias no es uniforme. Con frecuencia se emplea el análisis de temperatura de fusión para determinar el intervalo de pureza aceptable. No se recomienda que los laboratorios clínicos usen estas sustancias para preparación de reactivos a menos que se incluya más purificación o un blanco de reactivo. Los reactivos grado técnico o comercial se emplean sobre todo en manufactura, y nunca se deben usar en el laboratorio clínico.

Los reactivos orgánicos también tienen varios grados de pureza que difieren de los que se emplean para clasificar reactivos inorgánicos. Estos grados incluyen un grado práctico con algunas impurezas; químicamente puro, con enfoques al nivel de pureza de sustancias químicas grado reactivo; reactivos orgánicos grado espectroscópico (pura desde el punto de vista espectral) y cromatográfico (pureza mínima de 99% determinada mediante cromatografía de gases), con niveles de pureza logrados mediante sus procedimientos respectivos, y grado reactivo (ACS), que cuenta con certificación de que contiene impurezas por debajo de ciertos niveles establecidos por la ACS. Como en cualquier método analítico, la pureza deseada del reactivo orgánico se indica mediante la aplicación particular.

Aparte de los aspectos de pureza de las sustancias químicas, leyes como la *Occupational Safety and Health Act* (OSHA)⁴ requieren que los fabricantes indiquen con claridad el número de lote, más cualquier riesgo físico o biológico para la salud y precauciones necesarias para el uso seguro y almacenamiento de cualquier sustancia química. Se requiere que un fabricante proporcione hojas de datos técnicos de cada sustancia y un documento llamado hoja de datos de seguridad del material (*material safety data sheet*, MSDS). En el capítulo 2, *Seguridad y regulaciones en el laboratorio*, se presenta una explicación más detallada de este tema.

Materiales de referencia⁵⁻⁹

A diferencia de otras áreas, la química clínica se relaciona con el análisis de subproductos bioquímicos encontrados en el *suero*, lo que hace casi imposible la purificación y la determinación de su exacta composición. Por esta razón, los estándares definidos de manera tradicional no se aplican estrictamente en la química clínica.

Recuerde que un *estándar primario* es una sustancia altamente purificada que se puede medir de modo directo para producir una sustancia de pureza y concentración conocida *exacta*. Las tolerancias de pureza ACS para estándares primarios son $100 \pm 0.02\%$. Debido a que casi no hay constituyentes biológicos disponibles dentro de estas limitaciones, se emplean los *materiales de referencia estándar* (*standard reference materials*, SRM) certificados por el NIST, en lugar de los estándares primarios ACS.

El NIST desarrolló material de referencia certificado (CRM/SRM) para uso en laboratorios químico clínicos. Se les asigna un valor después del análisis cuidadoso, con lo último en métodos y equipo. Así, se certifica la composición química de estas sustancias; sin embargo, es posible que no posean el equivalente de pureza de un estándar primario. Debido a que cada sustancia ha sido caracterizada

para ciertas propiedades químicas y físicas, se puede usar en lugar de un estándar primario ACS en el trabajo clínico y se emplea con frecuencia para comprobar la calibración o evaluaciones de exactitud y sesgo. Muchos fabricantes utilizan un NIST SRM al producir materiales estándar y de calibración y, de este modo, son considerados “localizables según el NIST”, y pueden satisfacer ciertos requisitos de acreditación. Hay materiales de referencia estándar para un número limitado de analitos, incluso hormonas, fármacos seleccionados y gases sanguíneos. Están disponibles los SRM 909a y 909b para suero humano, con el SRM 909a certificado para calcio, cloruro, colesterol, creatinina, glucosa, litio, magnesio, potasio, sodio, urea, ácido úrico, y los oligoelementos cadmio, cromo, cobre, hierro, plomo y vanadio; y el SRM 909b añade los triglicéridos.¹⁰

Un *estándar secundario* es una sustancia de menor pureza, cuya concentración se determina por comparación con un estándar primario. El estándar secundario no sólo depende de su composición, que no se puede determinar de modo directo, sino también del método de referencia analítico. Una vez más, debido a que por lo general no se dispone de estándares primarios fisiológicos, los químicos clínicos no tienen por definición estándares secundarios “verdaderos”. Los fabricantes de estándares secundarios incluirán el SRM o el estándar primario utilizado para comparación. Esta información llega a ser necesaria durante procesos de acreditación de laboratorio.

Especificaciones para el agua¹¹

El agua es el reactivo utilizado con más frecuencia en el laboratorio. Debido a que el agua de la llave es inadecuada para aplicaciones de laboratorio, en casi todos los procedimientos, incluida la preparación de reactivos y estándares, se emplea agua que ha sido purificada en forma sustancial. El agua que se purifica sólo por destilación da como resultado *agua destilada*; el agua que se purifica por intercambio iónico produce *agua desionizada*. La ósmosis inversa, en que se bombea agua por una membrana semipermeable, produce *agua de ósmosis inversa*. El agua se purifica también mediante ultrafiltración, luz ultravioleta, esterilización o tratamiento con ozono. Los requisitos de laboratorio suelen indicar *agua grado reactivo* que, según el *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS), pertenece a uno de tres tipos (I, II o III). Se recomienda denominar al agua grado reactivo, seguida del tipo relacionado (I, II o III), en vez del método de preparación.¹²

La filtración previa elimina partículas de materia de suministros de agua municipales antes que cualquier tratamiento adicional. Los cartuchos de filtración están formados por vidrio, algodón, carbón activado (que elimina materiales orgánicos y cloro) y filtros de submicras (≤ 0.2 mm), que eliminan cualquier sustancia más grande que los poros del filtro, incluidas bacterias. El uso de estos filtros depende de la calidad del agua municipal y los otros métodos de purificación empleados. Por ejemplo, el agua dura (que contiene calcio, hierro y otros elementos disueltos) podría requerir prefiltración con un filtro de vidrio o algodón en vez de carbón activado o filtros de submicras,

que se taponan con facilidad y cuya operación resulta costosa. Los filtros de submicras llegan a resultar mejores después de la destilación, desionización o del tratamiento por ósmosis inversa.

El agua destilada se purifica para eliminar casi todos los materiales orgánicos. Se usa una técnica de destilación muy parecida a la que se encuentra en experimentos de destilación de laboratorios de química orgánica en que el agua se hierve y evapora. El vapor sube y entra al serpentín de un condensador, un tubo de vidrio que contiene un serpentín de vidrio. El agua fría que rodea a este serpentín condensador disminuye la temperatura del vapor de agua. El vapor de agua vuelve al estado líquido, que se recolecta después. Muchas impurezas no suben en el vapor de agua, y permanecen en el aparato de ebullición. El agua recolectada después de la condensación tiene menos contaminación. Debido a que los laboratorios usan miles de litros de agua todos los días, se usan alambiques en lugar de pequeños aparatos de condensación; sin embargo, los principios son básicamente los mismos. El agua puede ser destilada más de una vez, y en cada ciclo de destilación se eliminan más impurezas.

En el agua desionizada se han eliminado algunos o todos los iones, aunque podría estar presente material orgánico, así que no es pura ni estéril. Por lo general, el agua desionizada se purifica a partir de agua tratada previamente, como el agua prefiltrada o destilada. El agua desionizada se produce por medio de una resina de intercambio de aniones o cationes, seguida del reemplazo de las partículas eliminadas con iones hidróxido o hidrógeno. Los iones que se prevé eliminar del agua determinarán el tipo de resina de intercambio iónico que se usará. Una columna es insuficiente para todos los iones presentes en el agua. La combinación de varias resinas producirá diferentes grados de agua desionizada. Un sistema de doble cama emplea una resina aniónica seguida de una catiónica. Las diferentes resinas pueden estar en columnas separadas o en la misma. Este proceso es excelente para eliminar sólidos ionizados y gases disueltos.

La ósmosis inversa es un proceso que usa presión para forzar el agua por una membrana semipermeable, y produce agua que refleja un producto filtrado del agua original. No elimina gases disueltos. La ósmosis inversa podría utilizarse como pretratamiento para el agua.

La ultrafiltración y la nanofiltración, al igual que la destilación, son excelentes para eliminar materia particulada, microorganismos y cualquier pirógeno o endotoxinas. La oxidación ultravioleta (elimina algunos materiales orgánicos traza) o los procesos de esterilización (utilizan longitudes de ondas específicas), junto con el tratamiento por ozono, destruyen bacterias que dejan productos residuales. Estas técnicas se emplean después que se utilizaron otros procesos de purificación.

La producción de agua grado tipo I depende en gran medida de la condición del agua alimentada. Por lo general, el agua se obtiene al filtrarla inicialmente para eliminar materia particulada, seguida de ósmosis inversa, desionización y un filtro de 0.2 mm o procesos de filtración más restrictivos. El agua tipo III es aceptable para lavar material de vidrio pero no para análisis o preparación de

reactivos. El agua tipo II es aceptable para casi todos los requisitos analíticos, incluidos preparación de reactivos, controles de calidad y estándares. El agua tipo I se emplea para probar métodos que requieren interferencia mínima, como análisis de metales traza, hierro y enzimas. El uso con cromatografía líquida de alta resolución podría requerir una etapa de filtración final con un filtro menor de 0.2 mm. Debido a que el agua tipo I se debe usar de inmediato, no se recomienda el almacenamiento por los cambios de resistividad. El agua tipo II se debe almacenar de manera tal que se reduzca cualquier contaminación química o bacteriana y durante periodos cortos.

Los procedimientos de prueba para determinar la calidad del agua grado reactivo incluyen mediciones de resistencia; pH, cuentas de colonias (para evaluar la contaminación bacteriana) en medios selectivos y no selectivos para la detección de coliformes, cloro, amoníaco, nitrato o nitrito, hierro, dureza, fosfato, sodio, sílice, dióxido de carbono, demanda química de oxígeno (DQO) y detección de metales. Algunas agencias de acreditación¹³ recomiendan que los laboratorios documenten el desarrollo de cultivos, pH y resistencia específica al agua utilizada en la preparación del reactivo. La resistencia se mide porque el agua pura, desprovista de iones, es un mal conductor de la electricidad. La relación entre pureza del agua y resistencia es lineal. Por lo general, si se incrementa la pureza, también se incrementa la resistencia. Esta medición es insuficiente para determinar la pureza verdadera del agua porque es posible que esté presente un contaminante iónico que tenga poco efecto en la resistencia. En el cuadro 1-3 se presenta una lista de las especificaciones del agua grado reactivo de cada tipo para parámetros seleccionados de acuerdo con las normas del NCCLS.

Tome nota de que el agua grado reactivo que satisfice las especificaciones de otras organizaciones, como la *American Society for Testing Materials* (ASTM), tal vez no sea equivalente a las especificaciones que establece para cada tipo el NCCLS, y se debe tener cuidado de satisfacer los requisitos de procedimiento del ensayo respecto a las exigencias de tipo de agua. En el caso de ciertos procedimientos, tal vez se requiera agua tipo especialidad que excede las especificaciones del agua tipo I.

Propiedades de la solución

En la química clínica se miden sustancias encontradas en líquidos biológicos (p. ej., suero, orina y líquido espinal).

CUADRO 1-3. AGUA PARA REACTIVO

	TIPO I	TIPO II	TIPO III
Recuento máximo de colonias (UFC/ml)	≤10	1000	NE
Silicato (mg/L SiO ₂)	0.05	0.1	1.0
Resistividad (megaohm-cm)	10 (en línea)	1.0	0.1
pH	NE	NE	5.0–8.0

NE = no especificado.

Una sustancia que se disuelve en un líquido se llama *solut*; en ciencia del laboratorio, a estos solutos biológicos se les conoce también como *analitos*. El líquido en el que se disuelve el soluto, en este caso un líquido biológico, es el *disolvente*. Juntos representan una *disolución*. Cualquier disolución química o biológica se describe mediante sus propiedades básicas, como concentración, saturación, propiedades coligativas, potencial redox, conductividad, densidad, pH y resistencia iónica.

Concentración

La concentración de analito en disolución se puede expresar de muchas maneras. En general, la concentración se expresa como disolución en por ciento, molaridad, molaridad y normalidad, y estas expresiones se analizan aquí porque tienen un uso extendido, aunque no son del SI. Observe que la expresión SI para la cantidad de una sustancia es el mol.

Las *disoluciones en por ciento* son iguales a parte por cien o la cantidad de soluto por 100 unidades totales de disolución. Tres expresiones de soluciones en por ciento son peso por peso (p/p), volumen por volumen (v/v) y, la más común, peso por volumen (p/v). En el caso de soluciones v/v, se recomienda usar mililitros por litro (mL/L) en lugar de por ciento o % (v/v).

La *molaridad* se expresa como el número de moles por 1 L de disolución. Un mol de sustancia es igual a su peso molecular en gramos (pmg). La representación SI para la concentración molar tradicional es moles de soluto por volumen de disolución, con el volumen de disolución expresado en litros. La expresión SI para la concentración se debe representar como moles por litro (mol/L), milimoles por litro (mmol/L), micromoles por litro (μ mol/L) y nanomoles por litro (nmol/L). El SI adoptó el término familiar *molaridad* como expresión de concentración.

La *molalidad* representa la cantidad de soluto por 1 kg de disolvente. En ocasiones, se le confunde con la molaridad; sin embargo, se distingue fácilmente de ésta porque la molalidad se expresa siempre en términos de peso por peso o moles por kilogramo y describe moles por 1 000 g (1 kg) de disolvente. La expresión preferida para molalidad es moles por kilogramo (mol/kg).

La *normalidad* es la menos probable de las cuatro expresiones de concentración encontradas en los laboratorios clínicos, pero se usa con frecuencia en titulaciones químicas y clasificación de reactivos químicos. Se define como el número de pesos equivalentes gramo por 1 L de disolución. Un *peso equivalente* es igual al peso molecular en gramos de una sustancia dividido entre su valencia. La *valencia* es el número de unidades que se combinan o reemplazan 1 mol de iones hidrógeno para ácidos, iones hidróxido para bases, y el número de electrones intercambiados para reacciones de oxidorreducción. Es el número de átomos o elementos que se combinan para un determinado compuesto; por tanto, el peso equivalente es el peso de combinación en gramos de un material. La normalidad siempre es igual o mayor que la molaridad de ese compuesto. La normalidad se usaba antes para presentar

el informe de valores de electrólitos, como sodio [Na^+], potasio [K^+] y cloruro [Cl^-] expresados como miliequivalentes por litro (meq/L); sin embargo, esta convención se ha reemplazado por las unidades familiares de milimoles por litro (mmol/L).

La saturación de la disolución da poca información específica acerca de la concentración de solutos en una disolución. La temperatura, así como la presencia de otros iones, puede afectar la constante de solubilidad para un soluto en una determinada disolución y, por tanto, afectar la saturación. Los términos de rutina en el laboratorio clínico que describen el grado de saturación son *diluido*, *concentrado*, *saturado* y *supersaturado*. En una *disolución diluida* hay relativamente poco soluto. En contraste, una *disolución concentrada* tiene gran cantidad de soluto en disolución. Una disolución en la que hay un exceso de partículas de soluto no disueltas es una *disolución saturada*. Como indica su nombre, una *disolución supersaturada* tiene una concentración mayor de partículas de soluto no disueltas que una saturada de la misma sustancia. Como resultado de la mayor concentración, una disolución supersaturada es inestable desde el punto de vista termodinámico. La adición de un cristal de soluto o la agitación mecánica perturba la solución supersaturada, y el material excedente de la disolución se cristaliza. Un ejemplo es cuando se mide la osmolalidad sérica mediante la depresión del punto de congelación.

Propiedades coligativas

El comportamiento de las partículas en disolución demuestra cuatro propiedades reproducibles con base únicamente en el número relativo de cada clase de molécula presente. A las propiedades de presión osmótica, presión de vapor, punto de congelación y punto de ebullición, se les denomina *propiedades coligativas*. La *presión de vapor* es la presión a la que el disolvente líquido está en equilibrio con el vapor de agua. El *punto de congelación* es la temperatura a la que las presiones de vapor de las fases sólida y líquida son las mismas. El *punto de ebullición* es la temperatura a la que la presión de vapor del disolvente alcanza una atmósfera.

La *presión osmótica* es la que permite al disolvente fluir por una membrana semipermeable para establecer el equilibrio entre compartimientos de distinta osmolalidad. La presión osmótica de una disolución diluida es proporcional a la concentración de las moléculas en disolución. La expresión para la concentración es el osmol. Un osmol de sustancia es igual a la molaridad multiplicada por el número de partículas en disociación. Cuando un soluto se disuelve en un disolvente, estas propiedades coligativas cambian de manera predecible para cada osmol de sustancia presente; el punto de congelación se reduce en -1.86°C , el punto de ebullición se eleva en 0.52°C , la presión de vapor se reduce en 0.3 mmHg o torr, y la presión osmótica se incrementa en un factor de 1.7×10^4 mmHg o torr. En el entorno clínico, el punto de congelación y la depresión de la presión de vapor se miden como una función de la osmolalidad.

Potencial redox

El *potencial redox* o *potencial de oxidación-reducción*, es una medida de la capacidad de una solución para aceptar o donar electrones. Las sustancias que donan electrones son los *agentes reductores*; las que aceptan electrones se consideran *agentes oxidantes*.

Conductividad

La *conductividad* es una medida del paso de la electricidad por una solución. La calidad de la conductividad de una solución depende principalmente del número de cargas respectivas de los iones presentes. *Resistividad*, el recíproco de la conductividad, es una medida de la resistencia de una sustancia al paso de la corriente eléctrica. La aplicación principal de la resistividad en el laboratorio clínico es para evaluar la pureza del agua. La resistividad o resistencia se expresa como ohms, y la conductividad como ohms⁻¹ o mho.

pH y disoluciones amortiguadoras

Las *disoluciones amortiguadoras* son ácidos o bases débiles y sus sales relacionadas que, como resultado de sus características de disociación, reducen los cambios en la concentración de ion hidrógeno. La concentración de iones hidrógeno se expresa como pH. Una *p* minúscula antes de ciertas letras o abreviaturas significa operacionalmente el “logaritmo negativo de” o el “log inverso de” esa sustancia. De acuerdo con esta convención, el término *pH* representa el log negativo o inverso de la concentración de iones hidrógeno. En términos matemáticos, el pH se expresa como

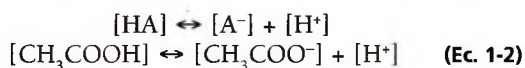
$$\begin{aligned} \text{pH} &= \log(1/[\text{H}^+]) \\ \text{pH} &= -\log[\text{H}^+] \end{aligned} \quad (\text{Ec. 1-1})$$

donde $[\text{H}^+]$ es igual a la concentración de iones hidrógeno en moles por litro.

La escala de pH varía de 0 a 14, y es una forma conveniente de expresar la concentración de iones hidrógeno.

Una capacidad de las disoluciones amortiguadoras para reducir cambios de pH se relaciona con las características de disociación del ácido o base débil en presencia de su sal respectiva. A diferencia de un ácido o base fuerte, que se disocia casi por completo, la constante de disociación para una disolución de ácido o base débil tiende a ser muy pequeña, lo que significa que ocurre poca disociación.

La ionización del ácido acético (CH_3COOH), un ácido débil, se puede ilustrar como sigue:



donde HA = ácido débil, A⁻ = base conjugada y H⁺ = iones hidrógeno.

Tome en cuenta que la constante de disociación, K_a , de un ácido débil se calcula con la siguiente ecuación:

$$K_a = \frac{[\text{A}^-][\text{H}^+]}{[\text{HA}]} \quad (\text{Ec. 1-3})$$

Al reordenar esta ecuación se encuentra que

$$[\text{H}^+] = K_a \times \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^+]} \quad (\text{Ec. 1-4})$$

Si se toma el log de cada cantidad y luego se multiplica por 1 (-1), la ecuación se puede reescribir como

$$-\log[\text{H}^+] = -\log K_a \times -\log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^+]} \quad (\text{Ec. 1-5})$$

Por convención, la *p* significa “log negativo de”; por tanto, $-\log [\text{H}^+]$ se puede escribir como pH, y $-K_a$ como $\text{p}K_a$. La ecuación ahora se convierte en

$$\text{pH} = \text{p}K_a - \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^+]} \quad (\text{Ec. 1-6})$$

La eliminación del signo de menos antes del log de la cantidad $[\text{HA}]/[\text{A}^+]$ produce una ecuación conocida como de *Henderson-Hasselbalch*, que matemáticamente describe las características de disociación de ácidos y bases débiles y el efecto en el pH:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{A}^+]}{[\text{HA}]} \quad (\text{Ec. 1-7})$$

Cuando la relación entre $[\text{A}^+]$ y $[\text{HA}]$ es 1, el pH es igual al $\text{p}K_a$ y la disolución amortiguadora tiene una capacidad máxima de amortiguamiento. La constante de disociación K_a y, por tanto, el $\text{p}K_a$ siguen siendo iguales para una determinada sustancia. Cualquier cambio de pH se debe sólo a la relación entre la concentración de base/sal $[\text{A}^+]$ y la concentración de ácido débil $[\text{HA}]$.

La fuerza iónica es otro aspecto importante de las disoluciones amortiguadoras, en particular en las técnicas de separación. La *fuerza iónica* es la concentración o actividad de iones en una disolución o una disolución amortiguadora. Se define¹⁴ como sigue:

$$\begin{aligned} \mu &= I = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2, \text{ o,} \\ &\frac{\sum \{(C_i) \times (Z_i)^2\}}{2} \end{aligned} \quad (\text{Ec. 1-8})$$

donde C_i es la concentración del ion, Z_i es la carga del ion y Σ es la suma de la cantidad $(C_i) \times (Z_i)^2$ para cada ion presente. En mezclas de sustancias, se debe considerar el grado de disociación. El incremento de la fuerza iónica hace que crezca la nube iónica que rodea a un compuesto y disminuya la tasa de migración de partículas. El incremento de la solubilidad de algunas sales, junto con cambios de corriente, también puede promover eficazmente la disociación del compuesto en iones, lo que afecta también la separación electroforética.

MATERIALES DEL LABORATORIO CLÍNICO

Muchos materiales distintos se requieren en el laboratorio médico actual; sin embargo, varios artículos son comunes en la mayor parte de las instalaciones, como termómetros, pipetas, matraces, vasos de precipitado, buretas, desecadores y material de filtración. A continuación se explica de manera breve la composición y el uso general de estos suministros.

Termómetros y temperatura^{15,16}

La práctica predominante para medición de temperatura emplea la escala Celsius (°C); sin embargo, también se emplean las escalas Fahrenheit (F) y Kelvin (K). La designación SI para la temperatura es la escala Kelvin. En el apéndice C, *Conversiones básicas del laboratorio clínico* se presentan las distintas fórmulas de conversión entre cada escala.

Todas las reacciones analíticas ocurren a una temperatura óptima. Algunos procedimientos de laboratorio, como las determinaciones de enzimas, requieren control preciso de la temperatura, mientras que otros funcionan bien en un intervalo amplio de temperaturas. Las reacciones que dependen de la temperatura emplean algún tipo de celda de enfriamiento o calentamiento, bloque de calentamiento o enfriamiento, o baño de agua o hielo para proporcionar el entorno correcto de temperatura. Las temperaturas del refrigerador de laboratorio suelen ser críticas y requieren verificación periódica. Los termómetros son una parte integral de un instrumento o requieren que se les coloque en el dispositivo para mantenimiento de la temperatura. Los tres tipos principales de termómetros descritos incluyen el de líquido en vidrio, el termómetro electrónico o *termistor* y el termómetro digital; sin embargo, también se emplean otros tipos de dispositivos indicadores de temperatura. Sin importar el uso que se les dé, todos los dispositivos indicadores de temperatura se deben calibrar para constatar la precisión.

Los termómetros de líquido en vidrio, en que se utiliza un líquido coloreado (rojo u otro material de color), están reemplazando a los dispositivos más tradicionales de mercurio en vidrio. En esencia el diseño es el mismo, con un bulbo en un extremo y un tallo graduado. Normalmente se emplean para medir temperaturas entre -20°C y 400°C. Los termómetros de inmersión parcial se usan para medir temperaturas en unidades como bloques de calentamiento y baños de agua, y se deben sumergir a la altura apropiada, como indica la línea continua grabada en el tallo del termómetro. Los termómetros de inmersión total se emplean para aplicaciones de refrigeración, y los de superficie llegan a necesitarse para comprobar temperaturas en superficies planas, como en una incubadora y un horno de calentamiento. La inspección visual del termómetro de líquido en vidrio debe revelar una línea continua de líquido, libre de separación o burbujas de gas. El intervalo de precisión para un termómetro que se emplea en laboratorios clínicos se determina mediante la aplicación específica pero, en general, debe ser igual a 50% del intervalo de temperatura deseado que requiere el procedimiento.

Los termómetros de líquido en vidrio se deben calibrar contra un termómetro certificado por el NIST, o que cumpla con sus especificaciones, para aplicaciones de laboratorio críticas.¹⁷ El NIST tiene un termómetro SRM con varios puntos de calibración (0°, 25°, 30° y 37°C) para uso con termómetros de líquido en vidrio. El galio, otro material de referencia estándar, tiene un punto de fusión conocido, y también se puede usar para verificación de termómetros.

A medida que avanza la automatización y se miniaturiza, se ha incrementado la necesidad de contar con un termómetro electrónico exacto de fácil lectura (termistor), y en la actualidad se incorpora de manera rutinaria en

muchos dispositivos. Las ventajas de un termistor sobre los termómetros de líquido en vidrio más tradicionales son el tamaño y el tiempo de respuesta de milisegundos. Una desventaja puede ser el costo inicial, aunque el uso de una sonda termistora anexa a un medidor de volts y ohms (VOM) puede resultar económico. Igual que los termómetros de líquido en vidrio, el termistor se puede calibrar contra un termómetro SRM o la celda de temperatura de fusión de galio.^{18,19} Cuando el termistor se calibra contra la celda de galio, éste se puede usar como una referencia para cualquier tipo de termómetro.

Material de vidrio y de plástico

Hasta hace poco, los materiales de laboratorio (como pipetas, matraces, vasos de precipitado y buretas) eran de algún tipo de vidrio y se les denominaba, de manera correcta, *materiales de vidrio*. A medida que se ha depurado el plástico y se puso a disposición de los fabricantes, éste se utiliza cada vez más para elaborar utensilios de laboratorio. Antes de analizar los materiales generales de laboratorio, se presenta un breve resumen de los tipos y usos del vidrio y el plástico vistos comúnmente hoy día en los laboratorios. (Véanse apéndice L, *Características de tipos de vidrio*; apéndice M, *Características de tipos de plástico*, y apéndice N, *Resistencia química de tipos de plástico*.) Sin importar el diseño, casi todos los suministros de laboratorio deben satisfacer ciertas tolerancias de exactitud. Los que satisfacen las especificaciones del NIST^{20,21} se clasifican como clase A. Los recipientes que contienen o transfieren líquido están diseñados para contener (TC) o para entregar (TD) un volumen específico. Como indica el nombre, la diferencia principal es que los dispositivos TC no entregan el mismo volumen cuando el líquido se transfiere a un recipiente, mientras que la designación TD significa que el dispositivo entregará esa cantidad.

El material de vidrio empleado en el laboratorio clínico suele caer en una de las categorías siguientes: Kimax/Pyrex (borosilicato), Corex (aluminosilicato), con alto contenido de silicio, Vycor (resistente al ácido y las bases), actínico bajo (color ámbar) o cristal con plomo (cal sodada) empleado para material desechable.²² Siempre que sea posible, el material de vidrio químico clínico de uso rutinario debe ser de vidrio térmico de borosilicato o aluminosilicato, y satisfacer las tolerancias clase A recomendadas por el NIST. El material de vidrio que *no* satisface las especificaciones tipo A podría tener el doble del intervalo de tolerancia, a pesar de parecer idéntico a una pieza de material de vidrio tipo A. El fabricante es la mejor fuente de información acerca de los usos específicos, limitaciones y especificaciones de exactitud para el material de vidrio.

El material de plástico está comenzando a reemplazar al vidrio en el laboratorio. La alta resistencia única a la corrosión y a la rotura, además de su flexibilidad, han hecho más atractivo al material de plástico. Relativamente económico, permite que casi todos los artículos sean totalmente desechables después de cada uso. Los principales tipos de resinas que se emplean con frecuencia en el laboratorio de química clínica son poliestireno, polietileno, propileno, Tygon, Teflon, policarbonato y cloruro de polivinilo. De nuevo, cada fabricante es la mejor fuente de

información en relación con el uso apropiado y las limitaciones de cualquier material de plástico.

En casi todos los laboratorios, el vidrio o plástico que está en contacto directo con material biopeligroso normalmente es desechable. Sin embargo, si surge la necesidad, la limpieza del material de plástico requiere técnicas especiales. Tal vez baste con enjuagar de inmediato el material después de usarlo, lavarlo con un detergente líquido o en polvo diseñado para la limpieza de suministros de laboratorio y enjuagar varias veces con agua destilada. Es muy recomendable remojar previamente el material de vidrio en agua jabonosa, siempre que resulte impráctica la limpieza inmediata. En muchos laboratorios se emplean lavavajillas y secadoras automáticas para la limpieza del material. Los detergentes y los niveles de temperatura deben ser compatibles con el material y las recomendaciones del fabricante. Para asegurarse de que todo el detergente se ha eliminado del material de laboratorio, se recomiendan varios enjuagues con agua tipo II. Compruebe el pH del agua de enjuague final y compárelo con el del agua de pre-enjuague. El agua contaminada con detergente tendrá un pH más alcalino cuando se compara con el pH del agua grado reactivo tipo II. La inspección visual debe revelar paredes del recipiente sin manchas. Cualquier material de laboratorio contaminado biológicamente se debe desechar de acuerdo con las precauciones que siga ese laboratorio.

Algunas determinaciones, como las que se emplean para evaluar metales pesados o ensayos relacionados con análisis molecular, requieren material de vidrio escrupulosamente limpio o, en el mejor de los casos, desechable. Algunas aplicaciones requieren plástico en lugar de vidrio, porque este último puede absorber iones metálicos. Las disoluciones de limpieza exitosas son el dicromato ácido y el ácido nítrico. Se recomienda que siempre que sea posible se utilice vidrio o plástico desechables.

Las pipetas sucias se deben colocar de inmediato en un recipiente de agua jabonosa con la punta de la pipeta hacia arriba. El recipiente debe tener la longitud suficiente para permitir que las puntas de las pipetas sean cubiertas con la disolución. Se recomienda una vasija especialmente diseñada para remojar pipetas y un aparato de lavado y secado. Para cada enjuague final, se debe proveer agua nueva tipo I o II. Si es posible, designe un recipiente de pipetas para enjuagues finales solamente. Existen cepillos de limpieza que se ajustan casi a cualquier tamaño de material de vidrio, y se recomiendan para artículos que se lavan de rutina.

Aunque la limpieza del material de plástico suele ser más fácil porque su superficie no se humedece, no es apropiado para ciertas aplicaciones en que se emplean disolventes orgánicos o se requiere utilizar un autoclave. El uso de cepillos o limpiadores abrasivos ásperos se debe evitar en material de plástico. No se requieren enjuagues o lavados ácidos. El procedimiento de limpieza inicial descrito en el apéndice O, *Limpieza de material de laboratorio*, se puede adaptar también al material de plástico. Los limpiadores ultrasónicos pueden servir para eliminar restos que cubren las superficies de material de vidrio o plástico. El material de vidrio que ha sido limpiado de manera adecuada se debe secar por completo antes de usarlo.

Recipientes de laboratorio

Los matraces, los vasos de precipitado y las probetas graduadas se usan para contener disoluciones. Los matraces volumétricos y Erlenmeyer son dos tipos de recipientes de uso general en el laboratorio clínico.

Un *matraz volumétrico* clase A se calibra para un volumen exacto de líquido (TC). El matraz tiene una porción inferior, redonda, con un fondo plano y un cuello delgado, largo, con una línea de calibración grabada. Los matraces volumétricos se emplean para llevar un determinado reactivo a su volumen final con el diluyente prescrito y deben ser de calidad clase A. Al llevar la parte baja del menisco a la marca de calibración, se debe usar una pipeta al añadir las gotas finales de diluyente para asegurar que se mantenga el control máximo y no se pierda la línea de calibración.

Los *matraces Erlenmeyer* y los *vasos de precipitados Griffin* están diseñados para contener diferentes volúmenes en vez de una cantidad exacta. Debido a que ambos se emplean a menudo en la preparación de reactivos, se deben considerar el tamaño del matraz, el carácter inerte de la sustancia química y la estabilidad térmica. El matraz Erlenmeyer tiene un fondo amplio que poco a poco se convierte en un cuello corto más pequeño. El vaso de precipitados Griffin tiene un fondo plano, lados rectos y una abertura tan amplia como la base plana, con un pequeño pico en el borde.

Las *probetas graduadas* son tubos largos, cilíndricos, que normalmente se mantienen de pie mediante una base octagonal o circular. La probeta tiene marcas de calibración a lo largo, y se usa para medir volúmenes de líquidos. Las probetas graduadas no tienen la exactitud del material de vidrio volumétrico. Los tamaños de uso rutinario son 10, 25, 50, 100, 500, 1000 y 2000 ml.

Todos los utensilios de laboratorio deben ser clase A, siempre que resulte posible, para maximizar la exactitud y la precisión y, por tanto, disminuir el tiempo de calibración. En la figura 1-8 se ilustra el material de vidrio representativo. En el cuadro 1-4 se presentan las tolerancias clase A para algunos volúmenes de uso común.

Pipetas

Las *pipetas* son utensilios de vidrio o plástico empleados para transferir líquidos; pueden ser reutilizables o desechables. Aunque pueden transferir cualquier volumen, por lo general se utilizan para volúmenes de 20 ml o menos; volúmenes más grandes se transfieren o entregan de manera normal por medio de pipetas automáticas o aparatos estilo vasija. Para reducir la confusión, en el cuadro 1-5 se presenta el esquema de clasificación descrito con más detalle aquí. Ejemplos de pipetas se encuentran en la figura 1-1.

Similares a muchos utensilios de laboratorio, las pipetas se diseñan para contener (TC) o para entregar (TD) un volumen particular de líquido. La diferencia principal es la cantidad de líquido necesario para humedecer la superficie interior del material y la cantidad de líquido residual que queda en la punta de la pipeta. Casi todos los fabricantes estampan las siglas TC o TD cerca de la parte superior de la pipeta para alertar al usuario en cuanto al tipo de pipeta. Al igual que otros materiales de laboratorio con la designación TC, una pipeta TC retiene o contiene un volumen

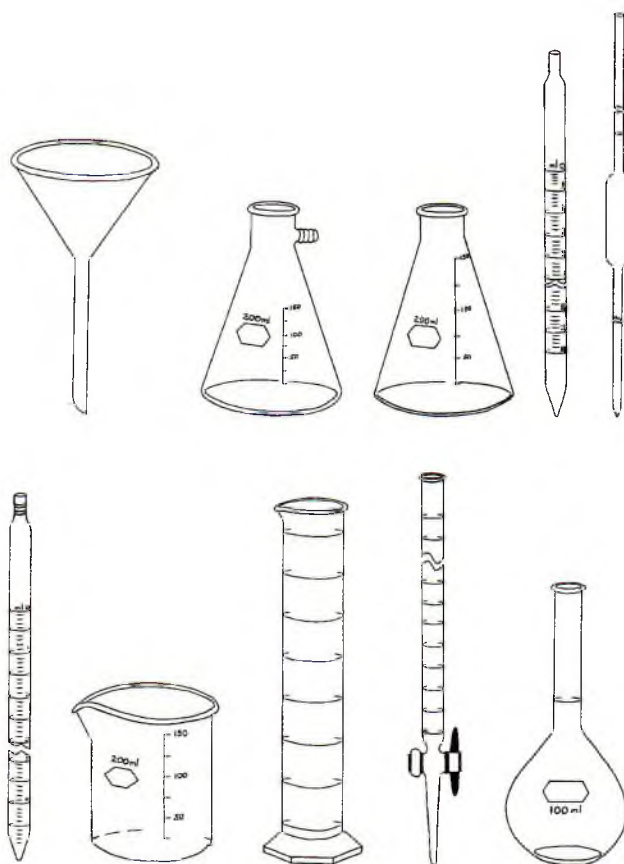
CUADRO 1-4. TOLERANCIAS CLASE A

TAMAÑO (ml)	TOLERANCIAS (ml)
Buretas	
5	± 0.01
10	± 0.02
25	± 0.03
50	± 0.05
100	± 0.10
Pipetas (transferir)	
0.5–2	± 0.006
3–5	± 0.01
10	± 0.02
15–25	± 0.03
50	± 0.05
Matraces volumétricos	
1–10	± 0.02
25	± 0.03
50	± 0.05
100	± 0.08
200	± 0.10
250	± 0.12
500	± 0.20
1000	± 0.30
2000	± 0.50

particular pero no entrega el volumen exacto, mientras que una pipeta TD entregará el volumen indicado. Al usar cualquier pipeta, se debe sumergir la punta en el líquido que será transferido, hasta un nivel que le permitirá permanecer en la disolución después que el volumen de líquido ha entrado a la pipeta, sin tocar las paredes del recipiente. La pipeta se mantiene recta, no en un ángulo (fig. 1-2). Con un bulbo para pipeta o un dispositivo similar, se aplica una ligera succión en el extremo opuesto hasta que el líquido entre en la pipeta, y el menisco se lleva arriba de la línea de graduación deseada (fig. 1-3A); entonces se detiene la succión. Mientras el nivel del menisco se mantiene en su lugar, se sube la punta de la pipeta un poco arriba de la disolución y se retira el líquido adherido con un pañuelo de papel de laboratorio. Luego se deja drenar el líquido, hasta que la parte baja del menisco toca la marca de calibración deseada (fig. 1-3B). Con la pipeta en posición vertical y la punta contra el lado del recipiente receptor, se deja que drene el contenido de la pipeta hacia el recipiente (como tubo de ensayo, cubeta, matraz). Una *pipeta de descarga* tiene un anillo grabado continuo o dos anillos continuos, cerrados, pequeños, localizados cerca de la parte superior de la pipeta. Esto significa que la última gota de líquido se debe expulsar hacia el recipiente receptor. Sin estas marcas, una pipeta es de *autodrenado*, y el usuario permite que el conte-

CUADRO 1-5. CLASIFICACIÓN DE PIPETAS

I. Diseño
A. Para contener (TC)
B. Para entregar (TD)
II. Características de drenado
A. Descarga
B. Autodrenado
III. Tipo
A. De medición o graduada
1. Serológica
2. Mohr
3. Bacteriológica
4. Ball, Kolmer o Kahn
5. Micropipeta
B. Transferencia
1. Volumétrica
2. Ostwald-Folin
3. Pipetas Pasteur
4. Macropipetas o micropipetas automáticas

**FIGURA 1-1.** Material de vidrio para laboratorio.

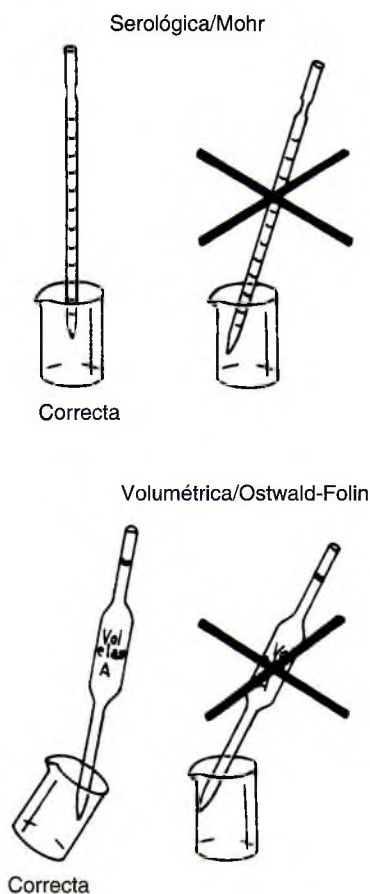


FIGURA 1-2. Posiciones correcta e incorrecta de la pipeta.

nido de la pipeta drene por gravedad. La punta de la pipeta no debe estar en contacto con el líquido que se acumula en el recipiente receptor durante el drenado. Con excepción de la pipeta Mohr, la punta debe permanecer en contacto con el lado del recipiente varios segundos después de haber drenado el líquido. Entonces se retira la pipeta. En la figura 1-4 se ilustran varios bulbos de pipeta. Está *estrictamente* prohibido pipetear con la boca, debido a la posibilidad de aspirar material peligroso.

Las pipetas de medición o graduadas son capaces de entregar distintos volúmenes. Debido a que las líneas de graduación localizadas en la pipeta pueden variar, se deben indicar en la parte superior de cada pipeta. Por ejemplo,

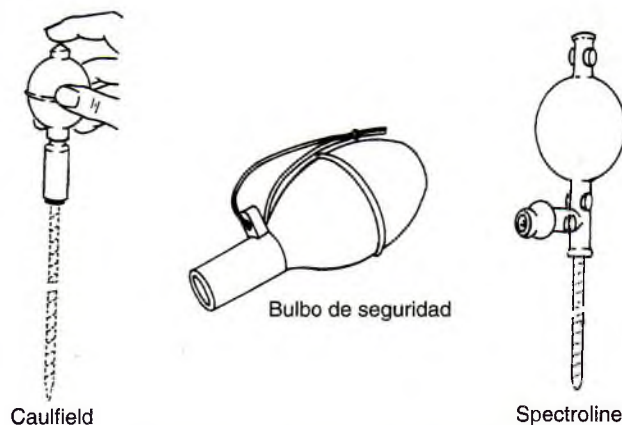


FIGURA 1-4. Tipos de bulbos de pipeta.

en una pipeta de 5 ml se pueden usar 5, 4, 3, 2 o 1 ml de líquido, con más graduaciones entre cada mililitro. A la pipeta se le designa 5 en incrementos de $\frac{1}{10}$ (fig. 1-5) y podría entregar cualquier volumen en décimas de mililitro, hasta 5 ml. Otra pipeta (p. ej., una de 1 ml), podría estar diseñada para entregar 1 ml y tener subdivisiones de centésimos de mililitro. Las marcas en la parte superior de una pipeta de medición o graduada indican el volumen para el que se diseñó.

Los subgrupos de pipetas de medición o graduadas son Mohr, serológicas y micropipetas. Una *pipeta Mohr* no tiene graduaciones hasta la punta. Es una pipeta de semidrenado, pero no se permite que la punta toque el recipiente mientras la pipeta está drenando, y se debe usar su volumen total para lograr la exactitud adecuada. Una *pipeta serológica* tiene marcas de calibración hasta la punta y suele ser una pipeta de descarga. Una *micropipeta* es una pipeta con un volumen de retención total de menos de 1 ml; se podría designar como pipeta Mohr o serológica.

La siguiente categoría importante son las *pipetas de transferencia*. Están diseñadas para entregar un volumen sin subdivisiones adicionales. *El ensanchamiento parecido a un bulbo en el tallo de la pipeta distingue a los subgrupos Ostwald-Folin y volumétrico*. Las pipetas de Ostwald-Folin se emplean con fluidos serológicos que tienen una viscosidad mayor que el agua. Son pipetas de descarga, lo que se indica mediante dos anillos continuos grabados en la parte superior. La pipeta volumétrica está diseñada para entregar o transferir disoluciones acuosas y es siempre de auto-

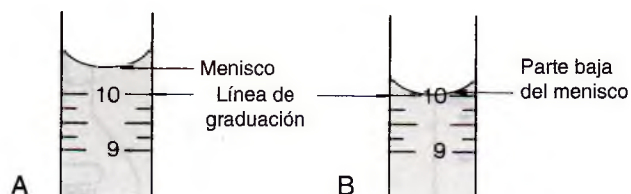


FIGURA 1-3. Técnica de pipeteo. (A) El menisco se lleva arriba de la línea de graduación deseada. (B) Se permite que salga el líquido hasta que el fondo del menisco toque la marca de calibración deseada.

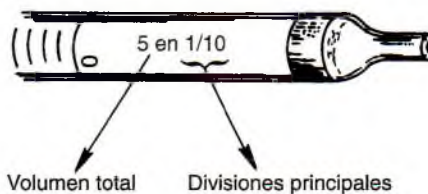


FIGURA 1-5. Indicación de volumen de una pipeta.

drenado. Este tipo de pipeta suele tener el mayor grado de exactitud y precisión, y se debe usar al diluir estándares, calibradores o material de control de calidad. Las *pipetas Pasteur* no tienen marcas de calibración y se emplean para transferir disoluciones o líquidos biológicos sin consideración de un volumen específico. Estas pipetas no se deben emplear en técnicas analíticas cuantitativas.

La *pipeta automática* es la que se emplea de manera habitual en el laboratorio químico clínico actual. Las pipetas automáticas y semiautomáticas tienen muchas ventajas; entre otras, seguridad, estabilidad, facilidad de uso, mayor precisión, ahorro de tiempo y menor necesidad de limpieza como resultado de que las porciones contaminadas de la pipeta (como las puntas) suelen ser desechables. En la figura 1-6 se ilustran muchas pipetas automáticas comunes. A una pipeta relacionada con un solo volumen se le denomina volumen *fijo*; a los modelos capaces de seleccionar volúmenes diferentes se les denomina *variables*; sin embargo, sólo se puede usar un volumen a la vez. El intervalo disponible de volúmenes es de 1 μ l a 1 000 ml. El intervalo de volumen más amplio visto en una sola pipeta es de 0 a 1 ml. A una pipeta con una capacidad de pipeteo de menos de 1 ml se le considera una *micropipeta*; una que transfiere más de 1 ml, es una *macropipeta automática*.

El término *automática*, como se emplea aquí, significa que el mecanismo que extrae y transfiere el líquido es una parte integral de la pipeta. Éste podría ser un dispositivo automatizado que opera por sí mismo, uno semiautomático o uno por completo manual. Hay tres tipos generales de pipetas automáticas: de desplazamiento de aire, de desplazamiento positivo y dosificadoras. Una *pipeta de des-*

plazamiento de aire depende de un pistón para extraer la muestra mediante succión en una punta desechable que debe ser cambiada después de cada uso; el pistón no entra en contacto con el líquido. Una *pipeta de desplazamiento positivo* opera moviendo el pistón en la punta de la pipeta o barril, de manera muy parecida a una jeringa hipodérmica; no requiere una punta diferente para cada uso; debido a los remanentes, se podría requerir enjuague y secado entre muestras. Los *dosificadores* y los *diluidores/dispensadores* son pipetas automáticas que obtienen el líquido de un recipiente común y lo distribuyen de manera repetida. Las pipetas dosificadoras pueden ser de tipo tapa de botella, motorizadas, portátiles o estar unidas a un diluidor, que combina las funciones de muestreo y transferencia. En la figura 1-7 se dan ejemplos de tipos diferentes de dispositivos de pipeteo automático. Estas pipetas se deben usar de acuerdo con las instrucciones de cada fabricante. Muchas pipetas automatizadas emplean un lavado entre muestras para eliminar problemas de residuos. Sin embargo, para reducir la contaminación por residuos con las pipetas manuales o semiautomáticas, el secado cuidadoso de la punta podría eliminar cualquier líquido adherido a la parte externa de la punta antes de transferir cualquier líquido. Se debe tener cuidado para asegurar que no se secó el orificio de la pipeta, porque se extraería muestra. Otra precaución al usar de forma manual las pipetas semiautomáticas es quitar el tapón de manera lenta y continua.

Las puntas de pipeta desechables, de un solo uso, están diseñadas para usarse con pipetas de desplazamiento de aire. El laboratorista debe asegurar que la punta de la pipeta está bien puesta en el extremo de la pipeta y que no

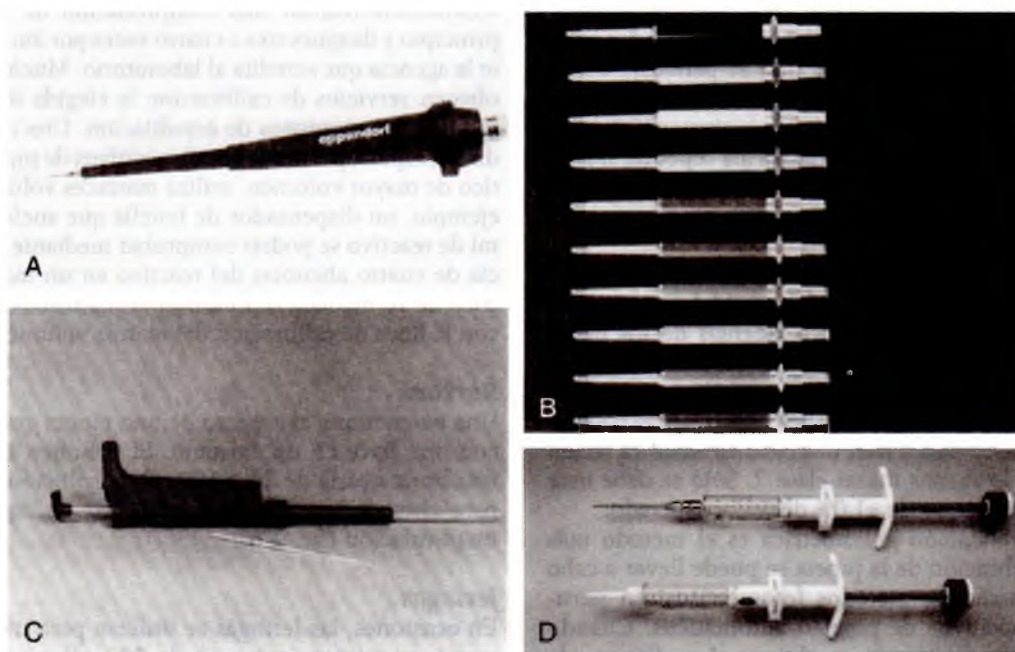


FIGURA 1-6. (A) Pipeteador de desplazamiento de aire, ultramicrodigital, volumen fijo, con eyector de punta. (B) Pipeteador de desplazamiento de aire, volumen fijo. (C) Pipeteador de desplazamiento positivo, electrónico, digital. (D) Pipeteador de jeringa.

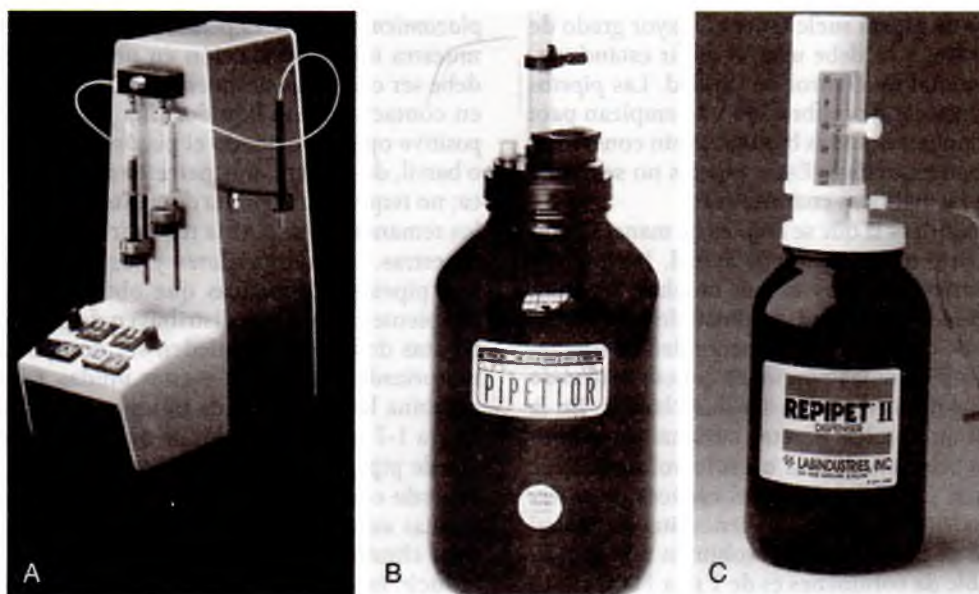


FIGURA 1-7. (A) Diluidor/dosificador digital. (B) Dosificador. (C). Dosificador.

tiene deformidad alguna. En particular, es probable que varíen las puntas de plástico utilizadas en pipetas con desplazamiento de aire. En una determinada pipeta se pueden usar diferentes marcas, pero no necesariamente funcionan de una manera idéntica. Podría haber rebabas que no siempre se detectan a simple vista. Un método en que se usa una disolución 0.1% de rojo de fenol en agua destilada sirve para comparar la capacidad de reproducción de distintas marcas de puntas para pipeta.²³ Al usar este método, la pipeta y el operador deben ser los mismos, de modo que la variación sea sólo un resultado de los cambios en las puntas de pipeta. Las puntas para pipetas de desplazamiento positivo están hechas con columnas rectas de vidrio o plástico. Estas puntas deben ajustar bien para evitar residuos, y se puedan usar de forma repetida sin ser cambiadas después de cada uso. Como se mencionó, estos dispositivos deben enjuagarse y secarse entre muestras para reducir los residuos.

Las pipetas clase A, al igual que todo el material de vidrio clase A, no necesitan ser recalibradas en el laboratorio. Los dispositivos de pipeteo automático, además de los materiales que no son clase A, requieren calibración. Un método gravimétrico (pág. 15) puede llevar a cabo esta tarea al entregar y pesar una disolución de densidad relativa conocida, como el agua. Se deben usar una balanza analítica recién calibrada y por lo menos masas clase 2. Sólo se debe usar una pipeta si está dentro de $\pm 1.0\%$ del valor esperado.

Aunque la validación gravimétrica es el método más deseable, la calibración de la pipeta se puede llevar a cabo también por medio de métodos fotométricos, en particular para dispositivos de pipeteo automáticos. Cuando se usa un espectrofotómetro, se obtiene el coeficiente de extinción molar de un compuesto, como el dicromato de potasio. Después de tomar con la pipeta una alícuota del diluyente, el cambio de concentración reflejará el

volumen de la pipeta. En otra técnica fotométrica utilizada para evaluar la exactitud de la pipeta se comparan las absorbancias de diluciones de dicromato de potasio, u otro líquido coloreado con los espectros de absorbancia apropiados, por medio de material de vidrio volumétrico clase A contra las diluciones equivalentes hechas con el dispositivo de pipeteo.

Estas técnicas de calibración consumen tiempo y, por tanto, son imprácticas para comprobaciones diarias. Se recomienda realizar una comprobación de las pipetas al principio y después tres a cuatro veces por año, o según dicte la agencia que acredita al laboratorio. Muchas compañías ofrecen servicios de calibración; la elegida debe satisfacer también los requisitos de acreditación. Una comprobación diaria, rápida, para muchos dispositivos de pipeteo automático de mayor volumen, utiliza matraces volumétricos. Por ejemplo, un dispensador de botella que suele entregar 2.5 ml de reactivo se podría comprobar mediante la transferencia de cuatro alícuotas del reactivo en un matraz volumétrico de 10 ml clase A. El fondo del menisco debe coincidir con la línea de calibración del matraz volumétrico.

Buretas

Una bureta tiene el aspecto de una pipeta graduada, larga, con una llave en un extremo. El volumen total usual de una bureta varía de 25 a 100 ml de solución, y se emplea para entregar un volumen particular de líquido durante una titulación (fig. 1-8).

Jeringas

En ocasiones, las jeringas se utilizan para transferir volúmenes pequeños (menores de 500 μl) en el análisis de gases sanguíneos o en técnicas de separación como cromatografía o electroforesis. Las jeringas son de vidrio y tienen barriles finos. El émbolo está hecho por lo general

CALIBRACIÓN DE PIPETA GRAVIMÉTRICA^{21,24}**Materiales**

Pipeta.

10 a 20 puntas para pipeta, si son necesarias.

Balanza capaz de lograr una exactitud y resolución de $\pm 0.1\%$ de peso volumétrico transferido.

Recipiente de pesaje grande como para contener el volumen de líquido.

Agua tipo I.

Termómetro y barómetro.

Procedimiento

1. Registre el peso del recipiente. Registre la temperatura del agua. Se recomienda que todos los materiales estén a temperatura ambiente. Obtenga la presión barométrica.
2. Coloque un pequeño volumen de agua (0.5 ml) en el recipiente. Para evitar efectos de evaporación, se recomienda cubrir cada recipiente con una sustancia como el Parafilm. Evite manipular los recipientes.
3. Pese cada recipiente más el agua hasta el 0.1 mg más próximo, o bien, ajuste la balanza a cero.
4. Con la pipeta de prueba, extraiga la cantidad especificada. Moje con cuidado el exterior de la punta. Se debe tener cuidado de no tocar el extremo de la punta, ya que esto ocasionaría que se saliera el líquido de la punta y se introduciría una imprecisión como resultado de la técnica.
5. Transfiera el agua al recipiente pesado. Toque la pared del recipiente con la punta de la pipeta.
6. Registre el peso del recipiente.
7. Reste el peso obtenido en el paso 3 del que se obtiene en el paso 6. Registre el resultado.
8. Si se emplean puntas de plástico, cambie cada punta entre cada transferencia. Repita del paso 1 al 6 un mínimo de nueve veces adicionales.
9. Obtenga el promedio o la media del peso del agua. Multiplique el peso medio por la densidad correspondiente del agua a la temperatura y presión específicas. Esto se podría obtener del cuadro 1-3⁶ para una referencia rápida.
10. Determine la exactitud de la capacidad de la pipeta para transferir el volumen esperado (seleccionado o expresado) de acuerdo con la fórmula:

$$\frac{\text{Volumen medio}}{\text{Volumen esperado}} \times 100\% \quad (\text{Ec. 1-9})$$

Por lo general, el fabricante da límites aceptables para una determinada pipeta, pero no se deben usar si el valor difiere por más de 1.0% del valor esperado.

La precisión se puede indicar como el coeficiente de variación en por ciento (%CV) o desviación estándar (DE) para una serie de pasos de pipeteo repetitivos. En el capítulo 3, *Control de calidad y estadística*, se puede encontrar una descripción acerca del %CV y la DE. Las ecuaciones para calcular la DE y el %CV son las siguientes:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

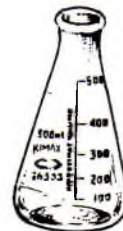
$$\%CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \quad (\text{Ec. 1-10})$$

La imprecisión requerida suele ser ± 1 DE. El %CV variará con el volumen esperado de la pipeta, pero cuanto menor sea el valor de %CV, mayor será la precisión. Cuando n es grande, los datos tienen más validez estadística.

Matraz volumétrico



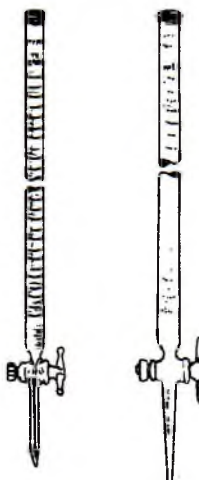
Matraz Erlenmeyer



Vaso de precipitados Griffin



Buretas



Probeta graduada



Matraz de filtración

**FIGURA 1-8.** Ejemplos de material de vidrio para laboratorio.

de una pieza fina de alambre. Las puntas no se emplean cuando las jeringas se usan para inyección de muestra en un sistema cromatográfico de gases. Sin embargo, en trabajo de electroforesis se podrían emplear puntas de teflón desechables. Las inexactitudes esperadas de volúmenes menores que 5 μ l son de 2%, mientras que para volúmenes mayores, la inexactitud es de alrededor de 1%.

DESECADORES Y DESECANTES

Muchos compuestos se combinan con moléculas de agua para formar cristales químicos sueltos. Al compuesto y al agua relacionada se le denomina *hidrato*. Cuando se elimina el agua de cristalización, se dice que el compuesto es *anhidro*. Las sustancias que captan agua al ser expuestas a las condiciones atmosféricas son *higroscópicas*. Los materiales muy higroscópicos pueden retirar humedad del aire y otros materiales. Se trata de excelentes sustancias de desecado y a veces se usan como *deseccantes* (agentes desecadores) para mantener a otras sustancias libres de hidratación. Los desecantes más comunes se presentan en el cuadro 1-6, comenzando con los más higroscópicos y por último el desecante menos eficaz. Si estos compuestos

CUADRO 1-6. DESECANTES COMUNES

AGENTE	FÓRMULA
Perclorato de magnesio	$\text{Mg}(\text{ClO}_4)$
Óxido de bario	BaO
Alúmina	Al_2O_3
Pentóxido de fósforo	P_4O_{10}
Perclorato de litio	LiClO_4
Cloruro de calcio	CaCl_2
Sulfato de calcio	CaSO_4
Gel de sílice	SiO_2
Ascarita	NaOH en asbestos

absorben suficiente agua de la atmósfera para causar disolución, son *sustancias deliquescentes*.

Los desecantes son más eficaces cuando se colocan en una cámara cerrada a prueba de aire, conocida como *deseCADOR* (fig. 1-9). El desecante se coloca debajo de la plataforma perforada dentro del desecador. Una fina película de lubricante colocada en el borde de la tapa sella un desecador de vidrio o plástico; se abre o sella de manera correcta al deslizar de manera lenta la tapa de modo horizontal. El sello lubricado evita que el desecador sea abierto si se jala hacia arriba. El desecador debe abrirse de forma lenta y con precaución porque la presión de aire en su interior podría ser menor que la presión atmosférica. Algunos desecantes en particular útiles llevan un indicador, que señala que el desecante se agotó y puede ser regenerado por medio de calor o secado en un horno de microondas. Se deben evitar los desecantes que producen polvo. En el laboratorio, los desecantes se emplean sobre todo para evitar que las sus-

tancias químicas, gases y componentes de instrumentos absorban humedad.

Balanzas

Una balanza que funcione de manera adecuada es esencial para producir reactivos y estándares de alta calidad. Sin embargo, debido a que muchos laboratorios descontinuaron la preparación interna de reactivos, es posible que se haya reducido el uso de las balanzas. Las balanzas se clasifican de acuerdo con su diseño, número de platos (sencillo o doble), y si son mecánicas o electrónicas; también se clasifican mediante intervalos de operación, como en las balanzas de precisión (legibilidad $\sim 2 \mu\text{g}$), balanzas analíticas (legibilidad $\sim 0.001 \text{ g}$) o microbalanzas (legibilidad $\sim 0.1 \mu\text{g}$; fig. 1-10).

En la actualidad, las balanzas analíticas y electrónicas son las más populares en el laboratorio clínico. Las balanzas analíticas se requieren para la preparación de estándares primarios. A la balanza analítica mecánica se le conoce también como *balanza de sustitución*. Ésta tiene un solo plato encerrado por puertas transparentes corredizas, que reducen los efectos del ambiente en el movimiento del plato. Éste está unido a una serie de pesos calibrados que se contrabalancean mediante un peso en el extremo opuesto de un fulcro de borde afilado. El operador ajusta la balanza al peso deseado y coloca el material contenido dentro de un recipiente de pesaje tarado, sobre el plato de muestra. Una escala óptica permite al operador ver la masa de la sustancia. El intervalo de peso para ciertas balanzas analíticas es de 0.01 mg a 160 g.

Las balanzas electrónicas son de un solo plato, emplean la fuerza electromagnética para contrabalancear la masa de la muestra pesada. Sus mediciones igualan la exactitud y precisión de cualquier balanza mecánica disponible, con la ventaja de un tiempo de respuesta rápido (menos de 10 segundos).

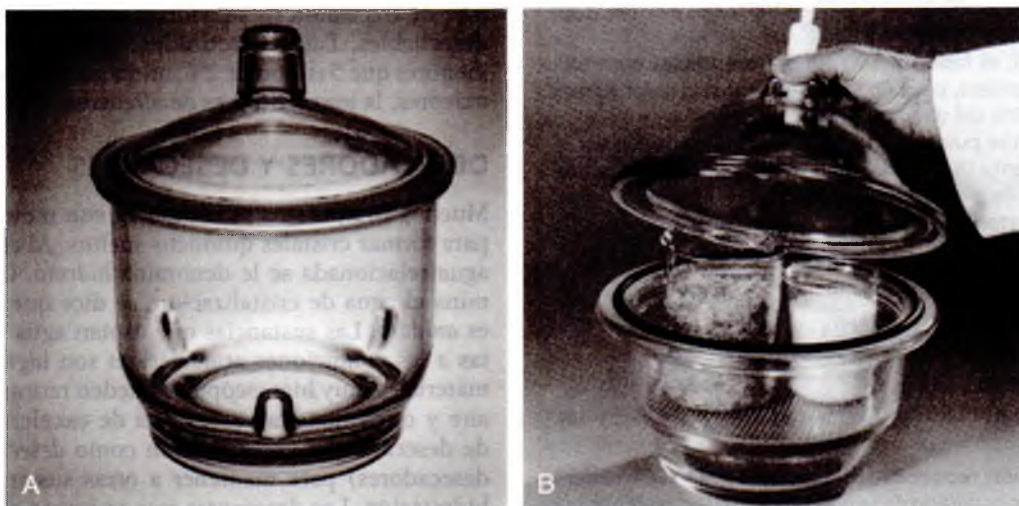


FIGURA 1-9. (A) DeseCADOR de vidrio. (B) DeseCADOR de vidrio con anillo de sellado seco (no se necesita grasa para sellar la tapa).

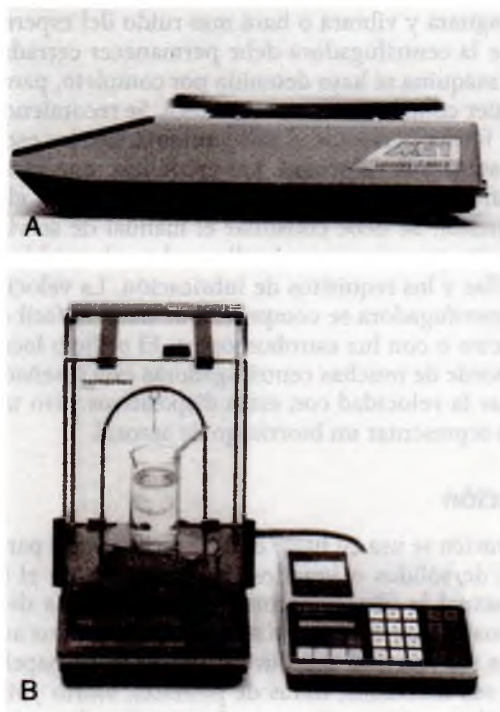


FIGURA 1-10. (A) Balanza electrónica de carga superior. (B) Balanza analítica electrónica con impresora.

Las masas de prueba utilizadas para calibrar las balanzas deben ser seleccionadas de las clases apropiadas ANSI/ASTM 1 a 4.²⁵ Este sistema ha reemplazado los estándares clase S del NIST usados antes de 1993. Las masas clase 1 proporcionan la mayor precisión y se deben usar para calibrar balanzas analíticas de alta precisión en el intervalo de peso de 0.01 a 0.1 mg. Las masas estándar NBS S antiguas son equivalentes a la clase 2 ASTM (0.001 a 0.01 g), y S-1 es equivalente a la clase 3 ASTM (0.01 a 0.1 g). La frecuencia de calibración se determina mediante las normas de acreditación y licencia para un laboratorio específico. Las balanzas se deben mantener escrupulosamente limpias y estar ubicadas en un área alejada y aislada del paso de personas, piezas grandes de equipo eléctrico y ventanas abiertas. Una placa de mármol separada de su superficie de apoyo mediante un material flexible suele colocarse debajo de una balanza para reducir cualquier vibración de interferencia que pudiera ocurrir. Siempre se debe corregir el punto de comprobación de nivel antes de pesar.

TÉCNICAS BÁSICAS DE SEPARACIÓN

Las modificaciones contemporáneas de filtración y diálisis emplean material fibroso con una matriz base que proporciona un mecanismo de separación en muchos inmunoensayos homogéneos. Estos materiales pueden ser revestidos con ligando de anticuerpo específico para promover la selección de materiales (o especies) específicos. Ciertas etiquetas emplean partículas magnéticas junto con imanes

fuerzas para llevar a cabo la separación. En el capítulo 6, *Inmunoensayos y técnicas con sonda de ácido nucleico*, se describen con más detalle los mecanismos de separación utilizados en inmunoensayos. Los mecanismos de separación básicos de uso común fuera de los incorporados en inmunoensayos, son centrifugación, filtración y diálisis.

Centrifugación

La *centrifugación* es un proceso en que la fuerza centrífuga se usa para separar materia sólida de una suspensión líquida. La *centrifugadora* lleva a cabo esta acción. Ésta consta de una cabeza o rotor, portadores o campos (fig. 1-11) que van unidos a una flecha vertical de un motor, y están encerrados en una cubierta metálica. La centrifugadora tiene siempre una tapa y un interruptor de encendido y apagado; sin embargo, muchos modelos incluyen un freno o un tacómetro que indica la velocidad, y algunas centrifugadoras están refrigeradas. La fuerza centrífuga depende de tres

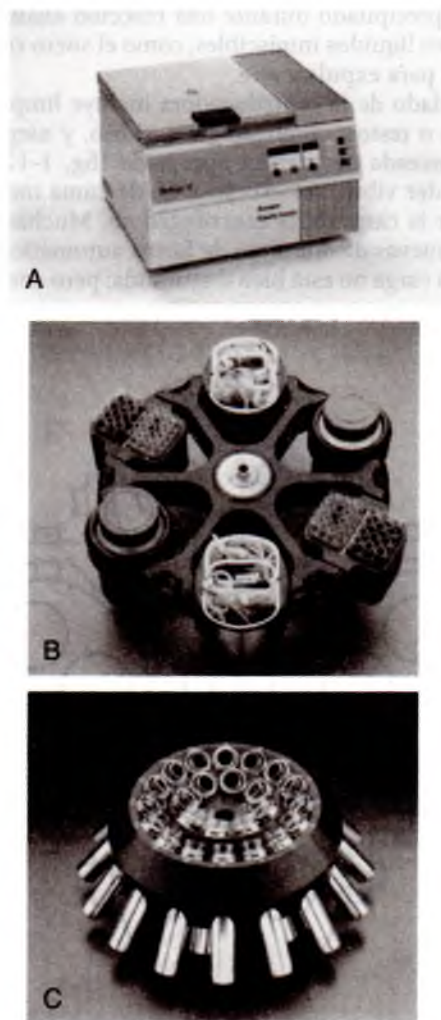


FIGURA 1-11. (A) Centrifugadora de banco. (B) Rotor de cubeta oscilante. (C) Rotor de cabeza fija.

variables: masa, velocidad y radio. La velocidad se expresa en revoluciones por minuto (rpm), y la fuerza centrífuga generada se expresa en términos de la fuerza centrífuga relativa (FCR) o gravedades (g). La velocidad de la centrifugadora se relaciona con la FCR mediante la siguiente ecuación:

$$FCR = 1.118 \times 10^{-5} \times r \times (\text{rpm})^2 \quad (\text{Ec. 1-11})$$

donde 1.118×10^{-5} es una constante, determinada a partir de la velocidad angular, y r es el radio en centímetros, medido desde el centro del eje de la centrifugadora hasta el fondo de la protección del tubo de ensayo. El valor de FCR también se puede obtener de un nomograma similar al que se localiza en el apéndice H, *Nomograma de fuerza relativa centrífuga*. La clasificación de centrifugas se basa en varios criterios, incluso el modelo de banco o piso, refrigeración, cabeza de rotor (fija, hematócrito, cubeta giratoria o angulada; fig. 1-11), o velocidad máxima (es decir, ultracentrifugadora). Las centrifugadoras suelen usarse para separar suero de un coágulo de sangre cuando se está procesando la sangre; para separar el sobrenadante de un precipitado durante una reacción analítica; para separar dos líquidos inmiscibles, como el suero cargado de lípidos; o para expulsar aire.

El cuidado de la centrifugadora incluye limpiar diario derrames o restos, como sangre o vidrio, y asegurar que esté balanceada de manera apropiada (fig. 1-12) y libre de cualquier vibración excesiva. Es de suma importancia equilibrar la carga de la centrifugadora. Muchas de éstas que son nuevas disminuirán de forma automática su velocidad si la carga no está bien distribuida; pero con frecuen-

cia se agitará y vibrará o hará más ruido del esperado. La tapa de la centrifugadora debe permanecer cerrada hasta que la máquina se haya detenido por completo, para evitar cualquier contaminación con aerosol. Se recomienda revisar de forma periódica el reloj automático, las escobillas (si existen) y la velocidad. Las escobillas, que son barras de grafito fijas a un resorte, crean un contacto eléctrico en el motor. Se debe consultar el manual de servicio del fabricante para conocer detalles sobre el cambio de las escobillas y los requisitos de lubricación. La velocidad de una centrifugadora se comprueba de manera fácil con un tacómetro o con luz estroboscópica. El orificio localizado en el borde de muchas centrifugadoras está diseñado para verificar la velocidad con estos dispositivos pero también podría representar un biorriesgo de aerosol.

Filtración

La filtración se usa en lugar de la centrifugación para separación de sólidos o líquidos. Sin embargo, en el laboratorio actual la filtración con papel sólo se usa de forma ocasional y, por tanto, aquí sólo se describen los aspectos básicos. El material del filtro está hecho de papel, celulosa y sus derivados, fibras de poliéster, vidrio y diversos materiales resinosos como columna. Por lo general, el papel filtro se dobla de manera que permita ajustarse a un embudo. En el método A, el papel filtro redondo se dobla como un abanico (fig. 1-13A); en el método B, se dobla en cuartos (fig. 1-13B).

El papel filtro difiere en tamaño de poro y se debe seleccionar de acuerdo con las necesidades de separación y la tasa de flujo relacionada para determinados líquidos. El papel filtro no se debe usar al emplear ácidos o bases fuertes. Cuando se coloca en el embudo, la solución se drena de manera lenta por el papel dentro del embudo y hacia un recipiente receptor. Al líquido que pasa por el papel filtro se le llama *filtrado*.

Dialisis

La *dialisis* es otro método para separar macromoléculas de un disolvente o sustancia más pequeñas. Se volvió popular cuando se utilizó junto con el sistema Technicon

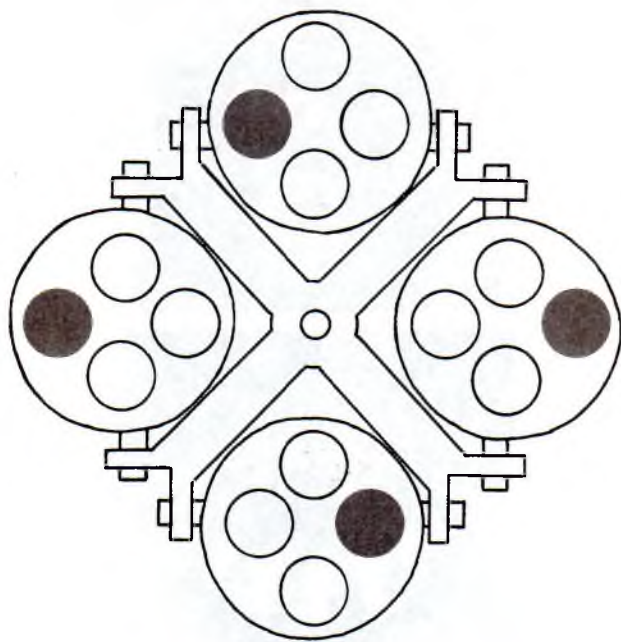


FIGURA 1-12. Centrifugadora equilibrada de manera adecuada. Los círculos oscuros representan posiciones contrabalanceadas para los tubos de muestra.

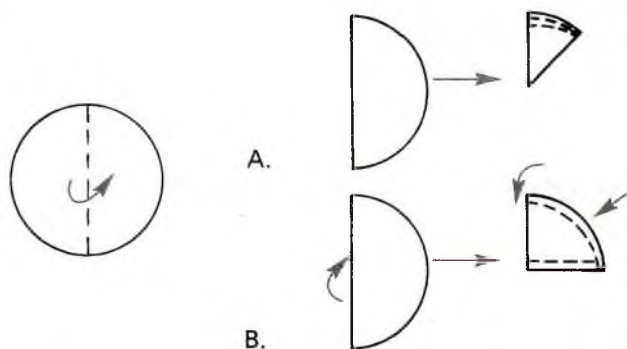


FIGURA 1-13. Métodos para doblar un papel filtro. (A) En forma de abanico. (B) En cuartos.

Autoanalyzer en la década de 1970. En esencia, se coloca una disolución en una bolsa o está contenida en un lado de una membrana semipermeable. Las moléculas más grandes son retenidas dentro del saco o en un lado de la membrana, mientras que las más pequeñas y disolventes se difunden. Este proceso es muy lento. El uso de columnas que contienen un gel ha reemplazado la separación manual por diálisis en la mayor parte de los procedimientos analíticos.

MATEMÁTICAS Y CÁLCULOS DE LABORATORIO

Cifras significativas

Las *cifras significativas* son el número mínimo de dígitos necesarios para expresar un valor particular en notación científica sin pérdida de exactitud. El número 814.2 tiene cuatro cifras significativas porque en notación científica se escribe como 8.142×10^2 . El número 0.000641 tiene tres cifras significativas, y la expresión en notación científica para este valor es 6.41×10^{-4} . Los ceros sólo representan lugares decimales y no son necesarios para expresar el número en notación científica.

Logaritmos

El *logaritmo* (log) base 10 de un número positivo N mayor que cero es igual al exponente al que se debe elevar la base 10 para producir N . Por tanto, se puede decir que N es igual a 10^x , y el log de N es igual a x . El número N es el antilogaritmo (antilog) de x .

El logaritmo de un número, que se escribe en formato *decimal*, incluye dos partes: el carácter o característica y la mantisa. El *carácter* es el número que se encuentra a la izquierda del punto decimal en el log y se deriva del exponente, y la *mantisa* es la parte del logaritmo a la derecha del punto decimal y se deriva del número. Aunque se pueden tomar varios enfoques para determinar el log, un método consiste en escribir el número en notación científica. El número 1424 expresado en notación científica es 1.424×10^3 , con lo cual el carácter es 3. El carácter se puede determinar también al sumar el número de cifras significativas y luego restar 1 de la suma. La mantisa se obtiene de una tabla de logaritmos o con una calculadora que tenga una función log para el resto del número. En el caso de 1.424, una calculadora daría una mantisa de 0.1535, y una tabla de log revelaría lo que se muestra en el cuadro 1-7. Ciertas calculadoras con función log no requieren la conversión a notación científica.

Cuando se usa una tabla de logaritmos, el paso inicial es determinar N , a partir de los dos primeros dígitos del número. En este ejemplo, N es 14. Localice el número 14 bajo la columna N en las tablas de logaritmos (cuadro 1-7). El siguiente dígito en este ejemplo, 1.424, es 2. Continúe a lo largo del renglón y lea los números debajo de 142, que, en este caso, son 1523. La última parte de la mantisa se obtiene de la sección de partes proporcionales del cuadro de logaritmos y se agrega a 1523. En este caso (1.424), el dígito restante es 4. El valor debajo de 4 en el cuadro es 12. La mantisa se convierte en $1523 + 12 = 1535$. El logaritmo de 1.425×10^3 es igual a 3.1535. El carácter es 3, y la mantisa 1535. Debido a que sólo hay cuatro cifras significativas en el número original, en el logaritmo sólo se deben escribir cuatro cifras significativas. El log entonces es 3.154. Para números menores que 1, el carácter tiene por lo común una barra en la parte superior. El número 2.12×10^{-2} tiene un log de $\bar{2}.3263$ o $\bar{2}.33$ para satisfacer el número de cifras significativas.

Para determinar el número original de un valor logarítmico, el proceso se hace a la inversa. Este proceso se denomina *antilogaritmo*. Con el ejemplo previo, determine el antilogaritmo de $\bar{2}.33$. La característica $\bar{2}$, que tiene una barra encima, indica 10^{-2} . La mantisa, 0.3263, o 0.33, puede dar el número de dos maneras. Se puede localizar la mantisa en una tabla de logaritmos y determinar N . Un segundo método es usar una tabla de antilogaritmos. En el cuadro 1-8 se ilustran ambos métodos. El redondeo de los números no afecta al antilogaritmo. Casi todas las calculadoras tienen funciones de logaritmo y antilogaritmo. Consulte las instrucciones del fabricante para familiarizarse con el uso propio de estas funciones.

Logaritmos negativos o inversos

La característica de un log puede ser positiva o negativa, pero la mantisa es siempre positiva. En ciertas circunstancias, el laboratorista debe tratar con logaritmos inversos o negativos. Tal es el caso del pH o el pK_a . Como se mencionó antes, el pH de una solución se define como menos el logaritmo de la concentración de iones hidrógeno. La siguiente fórmula es conveniente para determinar el logaritmo negativo al trabajar con pH o pK_a :

$$\text{pH}/\text{p}K_a = x - \log N \quad (\text{Ec. 1-12})$$

donde x = exponente negativo base diez expresado sin el signo menos y N = porción decimal de la expresión en notación científica.

CUADRO 1-7. PORCIÓN DE UNA TABLA DE LOGARITMOS

Partes proporcionales

N	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9
14	1461	1492	1523	1553	1584	1614	1644	1673	1703	1732	3	6	9	12	15	18	21	24	27

CUADRO 1-8. DETERMINACIÓN DE ANTILOGARITMOS**A. Tabla de log**

N	0	1	2	3
21	3222	3243	3263	3284

El número, según se determina de la mantisa 3263, es 212.

B. Tabla de antilog

											Partes proporcionales
N	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
32	2089	2094	2099	2104	2109	2113	2118	2123	2128	2133	123456789
33	2138	2143									011223344

.3263 = 2118 + 1 = 2119 = 2.12.

.33 = 2138 = 2.14.

Por ejemplo, si la concentración de iones hidrógeno de una disolución es 5.4×10^{-6} , entonces $x = 6$ y $N = 5.4$. Al sustituir esta información en la ecuación 1-12, ésta se convierte en:

$$\text{pH} = 6 - \log 5.4 \quad (\text{Ec. 1-13})$$

El logaritmo de N (5.4) es igual a 0.7324, o 0.73. El pH se convierte en

$$\text{pH} = 6 - 0.73 = 5.27 \quad (\text{Ec. 1-14})$$

La misma fórmula se aplica para obtener la concentración de iones hidrógeno de una solución cuando sólo se tiene el pH. Con un pH de 5.27, la ecuación se convierte en

$$5.27 = x - \log N \quad (\text{Ec. 1-15})$$

En este caso, el término x siempre es el número entero más grande siguiente. En este ejemplo, es 6. Al sustituir x , la ecuación se vuelve

$$5.27 = 6 - \log N \quad (\text{Ec. 1-16})$$

Multiplique las variables por -1 :

$$\begin{aligned} (-1)(5.27) &= (-1)(6) - (-1)(\log N) \\ -5.27 &= -6 + \log N \end{aligned} \quad (\text{Ec. 1-17})$$

De esta última ecuación se despeja la cantidad desconocida sumando un 6 a ambos lados del signo igual, y la ecuación se convierte en:

$$\begin{aligned} 6 - 5.27 &= \log N \\ 0.73 &= \log N \end{aligned} \quad (\text{Ec. 1-18})$$

El resultado es 0.73, que es el antilogaritmo de N , que es 5.37 o 5.4.

$$\text{Antilog } 0.73 = N; N = 5.73 = 5.4 \quad (\text{Ec. 1-19})$$

La concentración de ion hidrógeno para una disolución con pH de 5.27 es 5.4×10^{-6} . Muchas calculadoras científicas tienen una función inversa que permite el cálculo más directo de logaritmos inversos o negativos. Sin embargo, es importante entender por completo el uso adecuado

de muchas calculadoras científicas disponibles, sin olvidar que los pasos específicos varían entre fabricantes.

Concentración

Al comienzo de este capítulo se encuentra una descripción detallada de cada término de concentración (p. ej., molaridad, normalidad). El siguiente análisis se centra en las expresiones matemáticas necesarias para preparar reactivos de una concentración definida.

Disolución en por ciento

Una disolución en por ciento se determina de la misma manera, sin importar si se usan unidades peso/peso, volumen/volumen o peso/volumen. *Por ciento* significa "partes por 100", que se representa como porcentaje (%) y es independiente del peso molecular de una sustancia.

Ejemplo 1-1: peso/peso (p/p)

Para preparar 100 g de una disolución acuosa a 5% de ácido clorhídrico (con HCl 12 M), multiplique la cantidad total por el por ciento expresado en forma decimal. El cálculo es

$$5\% = \frac{5}{100} = 0.050 \quad (\text{Ec. 1-20})$$

Por tanto,

$$0.050 \times 100 = (5 \text{ g de HCl}) \quad (\text{Ec. 1-21})$$

Otra forma de llegar a la respuesta es plantear una relación de tal manera que

$$\begin{aligned} \frac{5}{100} &= \frac{x}{100} \\ x &= 5 \end{aligned} \quad (\text{Ec. 1-22})$$

Ejemplo 1-2: peso/volumen (p/v)

El término que se emplea con más frecuencia para una disolución en por ciento es peso por volumen, que suele expresarse en gramos por 100 ml de diluyente. Para preparar 1 000 ml de una disolución a 10% (p/v) de NaOH, use el método anterior. Los cálculos son

$$\begin{aligned} 0.10 &\times 1000 = 100 \text{ g} \\ (\% \text{ expresado como un decimal}) &\quad (\text{cantidad total}) \end{aligned}$$

o bien,

$$\frac{10}{100} = \frac{x}{1000}$$

$$x = 100$$

(Ec. 1-23)

Por tanto, agregue 100 g de NaOH a un matraz volumétrico clase A de 1000 ml y diluya hasta la marca de calibración con agua tipo II.

Ejemplo 1-3: volumen/volumen (v/v)

Prepare 50 ml de una disolución de ácido clorhídrico concentrado a 2% (v/v).

$$0.02 \times 50 = 1 \text{ ml}$$

o bien,

$$\frac{2}{100} = \frac{x}{50}$$

$$x = 1$$

(Ec. 1-24)

Por tanto, añada 40 ml de agua a un matraz volumétrico clase A de 50 ml, agregue 1 ml de HCl, mezcle y diluya hasta la marca de calibración con agua tipo II. Recuerde, ¡agregue siempre el ácido al agua!

Molaridad

La molaridad (M) suele expresarse en unidades de moles por litro (mol/L) o a veces milimoles por mililitro (mmol/ml). Recuerde que 1 mol de sustancia es igual al peso molecular en gramos (pmg) de esa sustancia. Al tratar de determinar la cantidad de sustancia necesaria para obtener una concentración particular, decida al inicio qué *unidades* de concentración final son necesarias. Para molaridad, las unidades finales serán moles por litro (mol/L) o milimoles por mililitro (mmol/ml). El segundo paso es considerar las unidades existentes y la relación que tienen con las unidades finales deseadas. En esencia, intente poner todas las unidades posibles en términos “semejantes”, y ordénelas de modo que se cancelen entre sí las unidades iguales, dejando sólo las que se desean en la respuesta final. Para llevar a cabo lo anterior, es importante recordar qué unidades se emplean para definir cada término de concentración. Es importante entender la relación entre molaridad (moles/litro), moles y peso molecular en gramos.

Ejemplo 1-4

¿Cuántos *gramos* son necesarios para preparar 1 L de una disolución 2 M de HCl?

Paso 1: ¿qué unidades se requieren en la respuesta final? *Respuesta:* gramos por litro (g/L).

Paso 2: evalúe otros términos de masa/volumen utilizados en el problema. En este caso, se necesitan moles en el cálculo: ¿cuántos gramos equivalen a 1 mol? El pmg del HCl, que se determina a partir de la tabla periódica, será igual a 1 mol. Para el HCl, el pmg es 36.5, así que la ecuación se puede escribir como

$$\frac{36.5 \text{ g HCl}}{\text{mol}} \times \frac{2 \text{ mol}}{\text{L}} = \frac{73 \text{ g HCl}}{\text{L}} \quad (\text{Ec. 1-25})$$

Cancele las unidades iguales, y las unidades finales deben ser gramos por litro. En este ejemplo, 73 g HCl por litro son necesarios para preparar una disolución 2 M de HCl.

Ejemplo 1-5

Una solución de NaOH está contenida en un matraz volumétrico clase A de 1 L lleno hasta la marca de calibración. La etiqueta de contenido indica 24 g de NaOH. Determine la molaridad.

Paso 1: ¿qué *unidades* son necesarias en última instancia? *Respuesta:* moles por litro (mol/L).

Paso 2: las unidades que existen son gramos y 1 L. El NaOH se podría expresar como moles y gramos. El pmg del NaOH se calcula igual a 40 g/mol. Se reordena la ecuación de modo que los gramos se puedan cancelar y las unidades restantes reflejen las que son necesarias en la respuesta.

Paso 3: la ecuación se convierte en

$$\frac{24 \text{ g NaOH}}{\text{L}} \times \frac{1 \text{ mol}}{40 \text{ g NaOH}} = 0.6 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \quad (\text{Ec. 1-26})$$

Al cancelar las unidades semejantes y efectuar los cálculos apropiados, se obtiene la respuesta final de 0.6 M o 0.6 mol/L.

Ejemplo 1-6

Prepare 250 ml de una disolución de 4.8 M de HCl.

Paso 1: ¿qué unidades son necesarias? *Respuesta:* gramos (g).

Paso 2: determine el pmg del HCl (36.5 g), que se requiere para calcular la molaridad.

Paso 3: prepare la ecuación, cancele términos semejantes y realice los cálculos apropiados:

$$\frac{36.5 \text{ g HCl}}{\text{mol}} \times \frac{4.8 \text{ mol HCl}}{\text{L}} \times \frac{250 \text{ ml} \times 1 \text{ L}}{1000 \text{ ml}} = 43.8 \text{ g HCl} \quad (\text{Ec. 1-27})$$

En un matraz volumétrico de 250 ml, agregue 200 ml de agua tipo II. Añada 43.8 g de HCl y mezcle. Diluya hasta la marca de calibración con agua tipo II.

Aunque hay varios métodos para calcular problemas matemáticos de laboratorio, esta técnica de cancelar unidades semejantes se puede usar en la mayor parte de las situaciones de química clínica, sin importar si el problema requiere molaridad, normalidad o intercambiar un término de concentración por otro. Sin embargo, es necesario recordar la relación entre las unidades de la expresión.

Normalidad

La normalidad (N) se expresa como el número de pesos equivalentes por litro (eq/L) o miliequivalentes por mililitro (meq/ml). El peso equivalente es igual al pmg dividido entre la valencia (V). La normalidad se emplea en cálculos acidobase porque un peso equivalente de una sustancia es también igual a su peso de combinación. Otra ventaja de usar el peso equivalente es que un peso equivalente de una sustancia es igual al peso equivalente de cualquier otra sustancia química.

Ejemplo 1-7

Dé el peso equivalente, en gramos, para cada sustancia presentada a continuación.

1. NaCl (pmg = 58 g, valencia = 1)

$$58/1 = 58 \text{ g por peso equivalente} \quad (\text{Ec. 1-28})$$

2. HCl (pmg = 36, valencia = 1)

$$36/1 = 36 \text{ g por peso equivalente} \quad (\text{Ec. 1-29})$$

3. H_2SO_4 (pmg = 98, valencia = 2)

$$98/2 = 49 \text{ g por peso equivalente} \quad (\text{Ec. 1-30})$$

- A. ¿Cuál es la normalidad de una disolución de 500 ml que contiene 7 g de H_2SO_4 ? El método empleado para calcular la molaridad se usa también para resolver este problema.

Paso 1: ¿qué unidades son necesarias? *Respuesta:* normalidad expresada como equivalentes por litro (eq/L).

Paso 2: ¿qué unidades tiene? *Respuesta:* mililitros y gramos. Ahora determine cómo están relacionadas con los equivalentes por litro. (Sugerencia: hay 49 g por equivalente, véase la ecuación 1-30.)

Paso 3: se reordena la ecuación para que se cancelen términos semejantes y quede eq/L. Esta ecuación es

$$\frac{7 \text{ g H}_2\text{SO}_4}{500 \text{ ml}} \times \frac{1 \text{ Eq}}{49 \text{ g H}_2\text{SO}_4} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} = 0.285 \text{ Eq/L} = 0.285 \text{ N} \quad (\text{Ec. 1-31})$$

Debido a que 500 ml es igual a 0.5 L, la ecuación final se escribe al sustituir 0.5 L por 500 ml, lo que elimina la necesidad de incluir el factor de corrección 1000 ml/L en la ecuación.

- B. ¿Cuál es la normalidad de una disolución 0.5 M de H_2SO_4 ? Continuando con el método anterior, la ecuación final es

$$\frac{0.5 \text{ mol H}_2\text{SO}_4}{1 \text{ L}} \times \frac{98 \text{ g H}_2\text{SO}_4}{\text{mol H}_2\text{SO}_4} \times \frac{1 \text{ Eq H}_2\text{SO}_4}{49 \text{ g H}_2\text{SO}_4} = 1 \text{ Eq/L} = 1 \text{ N} \quad (\text{Ec. 1-32})$$

Al cambiar molaridad por normalidad o viceversa, se puede aplicar la siguiente fórmula de conversión:

$$M \times V = N \quad (\text{Ec. 1-33})$$

donde V es la valencia del compuesto. Al usar esta fórmula, el ejemplo 1-7.3 se convierte en

$$0.5 \text{ M} \times 2 = 1 \text{ N} \quad (\text{Ec. 1-34})$$

Ejemplo 1-8

¿Cuál es la molaridad de una solución 2.5 N de HCl? Este problema se resuelve de dos maneras. Una consiste en usar el método por pasos en que las unidades existentes se intercambian por las unidades necesarias. La ecuación es

$$\frac{2.5 \text{ Eq HCl}}{1 \text{ L}} \times \frac{36 \text{ g HCl}}{1 \text{ Eq}} \times \frac{1 \text{ mol HCl}}{36 \text{ g HCl}} = 2.5 \text{ mol/L HCl} \quad (\text{Ec. 1-35})$$

El segundo método es usar la fórmula de conversión de normalidad a molaridad. La ecuación ahora se convierte en

$$\begin{aligned} M \times V &= 2.5 \text{ N} \\ V &= 1 \\ M &= \frac{2.5 \text{ N}}{1} = 2.5 \text{ N} \end{aligned} \quad (\text{Ec. 1-36})$$

Cuando la valencia de una sustancia es 1, la molaridad es igual a la normalidad. Como se mencionó antes, la normalidad es igual o mayor que la molaridad.

Densidad relativa

La densidad se expresa como masa por unidad de volumen. La densidad relativa es la relación de la densidad de un material cuando se compara con la densidad del agua a una temperatura dada. Las unidades para la densidad relativa son gramos por mililitro. La densidad relativa suele usarse con materiales muy concentrados, como los ácidos comerciales (p. ej., los ácidos sulfúrico y clorhídrico).

La densidad de un ácido concentrado se expresa también en términos de un ensayo o pureza en por ciento. La concentración real es igual a la densidad relativa multiplicada por el valor del ensayo o de la pureza en por ciento (expresado como decimal) en la etiqueta del recipiente.

Ejemplo 1-9

- A. ¿Cuál es el peso real de un suministro de HCl concentrado en cuya etiqueta se lee densidad relativa 1.19 con un valor de ensayo de 37%?

$$1.19 \text{ g/ml} \times 0.37 = 0.44 \text{ g/ml de HCl} \quad (\text{Ec. 1-37})$$

- B. ¿Cuál es la molaridad de esta solución stock? Las unidades finales deseadas son moles por litro (mol/L). La molaridad de una disolución es

$$\frac{0.44 \text{ g HCl}}{\text{ml}} \times \frac{1 \text{ mol HCl}}{3.5 \text{ g HCl}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} = 12.05 \text{ mol/L o } 12 \text{ M} \quad (\text{Ec. 1-38})$$

Conversiones

Para convertir una unidad en otra, se aplica el mismo método de eliminar términos semejantes. En algunos casos, un laboratorio de química puede presentar el informe de un determinado analito con dos unidades de concentración distintas (como calcio). La unidad SI recomendada para el calcio es milimoles por litro. Las unidades más tradicionales y mejor conocidas son miligramos por decilitro (mg/dl). De nuevo, es importante entender la relación entre las unidades dadas y las necesarias en la respuesta final.

Ejemplo 1-10

Convierta 8.2 mg/dl de calcio en milimoles por litro (mmol/L). El pmg del calcio es 40 g. Así, si hay 40 g por mol, entonces se deduce que hay 40 mg por mmol. Las unidades deseadas son mmol/L. La ecuación se transforma en

$$\frac{8.2 \text{ mg}}{\text{dl}} \times \frac{1 \text{ dl}}{100 \text{ ml}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} \times \frac{1 \text{ mmol}}{40 \text{ mg}} = \frac{2.05 \text{ mmol}}{\text{L}} \quad (\text{Ec. 1-39})$$

Una vez más, es posible emplear el método sistemático por pasos para eliminar unidades similares en este problema de conversión.

Un problema de conversión, o con más precisión, un problema de dilución encontrado con frecuencia se presenta cuando se requiere una concentración menor o un volumen diferente que la sustancia stock disponible, pero los términos de concentración son los mismos. Se emplea la fórmula siguiente:

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \quad (\text{Ec. 1-40})$$

Esta fórmula sólo es útil si las unidades de concentración y volumen entre las sustancias son las *mismas* y si se conocen tres de las cuatro variables.

Ejemplo 1-11

¿Qué volumen se requiere para preparar 500 ml de una solución 0.1 M de una disolución amortiguadora de tris a partir de una disolución de disolución amortiguadora de tris 2 M?

$$V_1 \times 2 \text{ M} = 0.1 \text{ M} \times 500 \text{ ml}$$

$$(V_1)(2 \text{ M}) = (0.1)(500) = (V_1)(2) = 50 = V_1 = 50/2 = 25$$

(Ec. 1-41)

Se requieren 25 ml de la solución 2 M para preparar 500 ml de una disolución 0.1 M. Este problema difiere de las otras conversiones en que es en realidad una dilución de una disolución *stock*. A continuación se presenta una explicación más detallada de las diluciones.

Diluciones

Una *dilución* representa la relación entre el material concentrado o *stock* y el volumen final total de una disolución, y es el volumen o peso del concentrado más el volumen del diluyente, mientras las unidades de concentración se mantienen sin cambio. Esta relación entre la disolución concentrada o *stock* y el volumen total de la disolución es igual al *factor de dilución*. Debido a que una dilución se hace al añadir una sustancia más concentrada a un diluyente, la dilución es siempre menos concentrada que la sustancia original. La relación del factor de dilución a la concentración es inversa; así, el factor de dilución crece a medida que disminuye la concentración. Para determinar el factor de dilución requerido, tome simplemente la cantidad necesaria y divida entre la concentración del *stock*, de modo que quede en una forma de fracción reducida.

Ejemplo 1-12

¿Cuál es el factor de dilución para preparar una disolución de sodio de 100 meq/L a partir de la disolución *stock* de 3000 meq/ml? El factor de dilución es

$$\frac{100}{3000} = \frac{1}{30} \quad (\text{Ec. 1-42})$$

El factor de dilución indica que la relación del material *stock* es 1 parte de *stock* llevada a un *volumen total* de 30. Para preparar en realidad esta dilución, se añade 1 ml de *stock* a 29 ml de diluyente. Note que el factor de dilución indica las partes por cantidad total; sin embargo, al hacer la dilución, la suma de la cantidad del material *stock* más la cantidad del diluyente debe ser igual al volumen total o denominador de la fracción de dilución. El factor de dilución se puede escribir como una fracción ($\frac{1}{30}$) o usando dos puntos (1:30). Cualquier formato es correcto. Para evitar confusión, es necesario hacer una distinción entre las expresiones que se relacionan con el factor de dilución/dilución y las que se refieren a los términos usados para hacer las diluciones o la *relación* de partes contra la *dilución*. Una convención²⁶ sugerida al indicar la preparación de una dilución es que una diagonal (/) utilizada en una fracción se refiere a una parte “en” el volumen total y representa la dilución. Los dos puntos (:) representan la relación de partes de la dilución, o bien, el término *a*.

Por ejemplo, una dilución 1:2 o $\frac{1}{2}$ de suero tiene una relación de una parte de suero a una parte de diluyente. Sin embargo, diluir una muestra 1:2 representaría una parte de muestra a dos partes de diluyente y un factor de dilución de 1:3 o $\frac{1}{3}$. En los procedimientos, es importante entender por completo el significado de estas expresiones. Las diluciones de muestra se deben hacer con agua tipo I o II, disolución salina o diluyente específico del método con material de vidrio clase A. La muestra y el diluyente se deben mezclar por completo antes de usar la mezcla. No se recomienda que las diluciones de muestra se hagan en tazas o contenedores de muestra de volumen pequeño. Se puede usar cualquier volumen total siempre que la fracción se reduzca para dar el factor de dilución.

Ejemplo 1-13

Si en el ejemplo anterior se requirieran 150 ml de la disolución de sodio 100 meq/L, se debe mantener la relación de dilución de *stock* a volumen total. Establezca una relación entre el volumen total deseado y el factor de dilución para determinar la cantidad de *stock* necesaria. La ecuación se convierte en

$$\frac{1}{30} = \frac{x}{150} \quad (\text{Ec. 1-43})$$

$$x = 5$$

Tome nota de que $\frac{1}{150}$ se reduce al factor de dilución de $\frac{1}{30}$. Para preparar esta disolución, se añaden 5 ml del *stock* a 145 ml del diluyente apropiado, así que la relación de *volumen de stock* a *volumen de diluyente* es igual a $\frac{5}{145}$. Recuerde que el factor de dilución incluye el volumen total de *stock* más diluyente.

Diluciones simples

Al hacer una *dilución simple*, el laboratorista debe decidir el volumen total deseado y la cantidad de *stock* que se usará.

Ejemplo 1-14

Una dilución 1:10 ($\frac{1}{10}$) de suero se logra al usar cualquiera de los siguientes métodos. Una relación de 1:9, una parte de suero y nueve partes de diluyente (disolución salina):

- A. 100 µl de suero añadidos a 900 µl de disolución salina.
- B. 20 µl de suero agregados a 180 µl de disolución salina.
- C. 1 ml de suero sumado a 9 ml de disolución salina.
- D. 2 ml de suero añadidos a 18 ml de disolución salina.

Note que la relación de suero a diluyente (1:9) necesaria para preparar cada dilución satisface el factor de dilución ($\frac{1}{10}$ o $\frac{1}{10}$) de material *stock* a volumen total.

El factor de dilución se emplea también para determinar la concentración final de una dilución multiplicando la concentración original por el inverso del factor de dilución o el denominador del factor de dilución cuando se expresa como una fracción.

Ejemplo 1-15

Determine la concentración de un estándar de gonadotropina coriónica humana (hCG) de 200 µmol/ml que se diluyó $\frac{1}{50}$. Este valor se obtiene al multiplicar la concentración original, 200 µmol/ml de hCG, por el factor de dilución, $\frac{1}{50}$. El resultado es 4 µmol/ml de hCG. Con gran frecuencia se requiere la concentración del material original.

Ejemplo 1-16

Una dilución 1:2 de suero con disolución salina tuvo un resultado de creatinina de 8.6 mg/dl. Calcule la concentración real de creatinina sérica.

Factor de dilución: $\frac{1}{2}$

Resultado de la dilución = 8.6 mg/dl

Debido a que este resultado representa $\frac{1}{2}$ de la concentración, el valor real de creatinina sérica es

$$2 \times 8.6 = 17.2 \text{ mg/dl} \quad (\text{Ec. 1-44})$$

Nota: al determinar la concentración del *stock* original o sin diluir a partir de la dilución, divida entre el denominador del factor de dilución.

Diluciones en serie

Una *dilución en serie* se define como varias diluciones progresivas que van de soluciones más concentradas a menos concentradas. Son extremadamente útiles cuando el volumen de concentrado o diluyente es escaso y se necesita reducirlo al mínimo o se requieren varias diluciones, como en la determinación de un título. Si el volumen de suero de un paciente disponible para el laboratorio es pequeño (como en las muestras pediátricas), se necesitará la dilución en serie para asegurar que se dispone de una cantidad suficiente de muestra. Al principio, la dilución en serie se hace igual que una dilución simple. Las diluciones posteriores se harán de cada dilución precedente. Cuando se realiza una dilución en serie, deben satisfacerse ciertos criterios. Éstos varían con cada situación, pero por lo general incluyen consideraciones como el volumen total deseado, la cantidad de diluyente o concentrado disponible, el factor de dilución, la concentración final necesaria y los materiales de apoyo requeridos.

Ejemplo 1-17

Una muestra de suero se diluirá 1:2, 1:4 y, por último, 1:8. Se decidió de manera arbitraria que el volumen total de cada dilución sea 1 ml. Tome en cuenta que el mínimo común denominador para estos factores de dilución es 2. Una vez que se hace la primera dilución ($\frac{1}{2}$), una dilución 1:2 (mínimo común denominador entre 2 y 4), producirá

$$\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$$

(factor de dilución inicial) (factor de dilución siguiente)

$$= (\text{factor de dilución final}) \quad (\text{Ec. 1-45})$$

Al hacer una dilución 1:2 de la primera, se satisface el segundo factor de dilución de 1:4. Hacer una 1:2 de la dilución 1:4 producirá la siguiente dilución (1:8). Para satisfacer el factor necesario para diluciones posteriores, es útil resolver la siguiente ecuación para (x):

Stock/concentración precedente \times (x)

$$= \text{factor de dilución final necesario} \quad (\text{Ec. 1-46})$$

Para hacer estas diluciones, se etiquetan tres tubos de ensayo 1:2, 1:4 y 1:8, respectivamente. Se añade 1 ml de diluyente a cada tubo de ensayo. Para hacer la dilución primaria de 1:2, se añade

1 ml de suero al tubo de ensayo número 1. Se mezcla la disolución y se retira 1 ml de la dilución primaria y se agrega al tubo de ensayo número 2. Después de mezclar, esta disolución contiene una dilución 1:4. Entonces 1 ml de la disolución 1:4 del tubo de ensayo número 2 se agrega al tubo número 3. Se mezcla y la dilución resultante en este tubo es 1:8, de modo que se satisfacen todos los criterios establecidos de antemano. En la figura 1-14 se presenta una ilustración de esta dilución en serie.

Ejemplo 1-18

Otro tipo de dilución en serie combina varios factores de dilución que no son múltiplos entre sí. En el ejemplo anterior, las diluciones 1:2, 1:4 y 1:8 se relacionan mediante un factor de 2. Considere la situación cuando se requieren factores de dilución 1:10, 1:20, 1:100 y 1:200. Existen varias formas de resolver este tipo de problema de dilución. Un método es tratar las diluciones 1:10 y 1:20 como un problema de dilución en serie, las diluciones 1:20 y 1:100 como una segunda dilución en serie y las diluciones 1:100 y 1:200 como la última dilución en serie. Otro método consiste en considerar el factor de dilución del concentrado que se requiere para producir la dilución final. En este ejemplo, la dilución inicial es 1:10, con diluciones posteriores de 1:20, 1:100 y 1:200. La primera dilución se podría llevar a cabo añadiendo 1 ml de *stock* a 9 ml de diluyente. El volumen total de disolución es 10 ml. Así, se satisface el factor de dilución inicial. Al hacer las diluciones restantes, se añaden 2 ml de diluyente a cada tubo de ensayo.

Dilución inicial/anterior \times (x) = dilución necesaria

Se despeja (x).

Al usar los anteriores factores de dilución y despejar (x), la ecuación de transforma en

$$1:10 \times (x) = 1:20,$$

donde (x) = 2 (o 1 parte de *stock* a 1 parte de diluyente)

$$1:20 \times (x) = 1:100,$$

donde (x) = 5 (o 1 parte de *stock* a 4 partes de diluyente)

$$1:100 \times (x) = 1:200,$$

donde (x) = 2 (o 1 parte de *stock* a 1 parte de diluyente)

(Ec. 1-47)

En la práctica, la dilución 1:10 debe ser diluida por un factor de 2 para obtener una dilución posterior 1:20. Debido a que el segundo tubo ya contiene 2 ml de diluyente, se deben agregar 2 ml de la dilución 1:10 (1 parte de *stock* a 1 parte de diluyente). Para preparar de ésta la dilución 1:100, se requiere un factor de dilución 1:5 de la mezcla 1:20 (1 parte de *stock* a 4 partes de diluyente). Como este tubo ya contiene 2 ml, el volumen de diluyen-

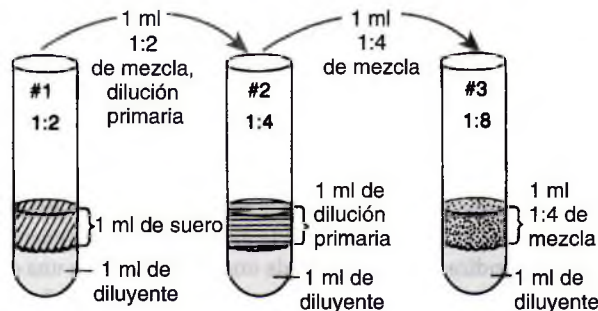


FIGURA 1-14. Dilución en serie.

te se divide entre sus partes, que es 4; por tanto, se deben agregar 500 µl, o 0.500 ml, de *stock*. La dilución 1:200 se prepara de la misma manera con un factor de dilución 1:2 (1 parte de *stock* a 1 parte de diluyente) y agregando 2 ml de la dilución 1:100 a los 2 ml del diluyente que ya está en el tubo.

Agua de hidratación

Algunos compuestos están disponibles en forma hidratada. Para obtener el peso correcto de estas sustancias, se deben incluir las moléculas de agua adheridas.

Ejemplo 1-19

¿Cuánto $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ se debe pesar para preparar 1 L de 0.5 M CuSO_4 ? Al calcular el pmg de esta sustancia, se debe considerar el peso de agua de modo que el pmg sea 250 g de agua en vez del pmg del CuSO_4 solamente (160 g). Por tanto,

$$\frac{250(\text{g}) \text{ CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}}{\text{mol}} \times \frac{0.5 \text{ mol}}{1(\text{L})} = 125 \text{ g/L} \quad (\text{Ec. 1-48})$$

Se cancelan los términos similares para obtener el resultado de 125 g/L. Un protocolo de reactivo suele designar el uso de una forma anhidra de una sustancia química; sin embargo, con frecuencia sólo se dispone de una forma hidratada.

Ejemplo 1-20

Un procedimiento requiere 0.9 g de CuSO_4 . Todo lo que se tiene es $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. ¿Qué peso de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ se requerirá?

Calcule el porcentaje de CuSO_4 presente en $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. El porcentaje es

$$\frac{160}{250} = 0.64, \text{ o } 64\% \quad (\text{Ec. 1-49})$$

Por tanto, 1 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ contiene 0.64 g de CuSO_4 ; así que la ecuación se transforma en:

$$\begin{aligned} & \frac{0.9 \text{ g CuSO}_4 \text{ necesarios}}{0.64 \text{ CuSO}_4 \text{ en CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}} \\ & = 1.41 \text{ g de CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O requeridos} \quad (\text{Ec. 1-50}) \end{aligned}$$

Cómo elaborar una gráfica de la ley de Beer

La *ley de Beer-Lambert* (ley de Beer) establece la relación entre la concentración y la absorbancia en muchas determinaciones fotométricas. Se expresa como

$$A = abc \quad (\text{Ec. 1-51})$$

donde A = absorbancia; a = constante de capacidad de absorbancia para un compuesto particular a una determinada longitud de onda en condiciones específicas de temperatura, pH, etcétera; b = longitud de la trayectoria de luz y c = concentración.

Si un método sigue la ley de Beer, entonces la absorbancia es proporcional a la concentración, siempre que la longitud de la trayectoria de luz y la capacidad de absorbancia de las especies absorbentes permanezcan sin cambio durante el análisis. Sin embargo, en la práctica hay límites para la posibilidad de predecir una respuesta lineal. Aun en sistemas automatizados, la observancia de la ley de Beer se determina a menudo comprobando la linealidad del método de prueba en un intervalo de concentración amplio. Los

límites de linealidad suelen representar el intervalo declarable de un ensayo. Este término no se debe confundir con los intervalos de referencia relacionados con la importancia clínica de una prueba. En los ensayos en que se mide la absorbancia, por lo general se obtienen resultados de concentración mediante la gráfica de la ley de Beer, conocida como una gráfica o curva estándar. Esta gráfica se construye al graficar la absorbancia en función de la concentración de estándares conocidos (fig. 1-15). Debido a que en la mayor parte de los ensayos fotométricos la absorbancia inicial se fija en cero (0) con un reactivo blanco, los puntos iniciales son 0,0. Es necesario identificar de manera apropiada las gráficas y especificar las unidades de concentración. Al eje horizontal se le conoce como x , mientras que el vertical es el y . Resulta irrelevante saber cuál eje se asigna a cada variable (absorbancia o concentración), pero es importante que los valores asignados estén distribuidos de manera uniforme a lo largo del eje. Por convención, en el laboratorio clínico la concentración se grafica normalmente en el eje x . En una gráfica normal, sólo se grafican el estándar y las absorbancias relacionadas.

Una vez establecida la gráfica normal, sólo se permite ejecutar un estándar, o calibrador, siempre que el sistema sea el mismo. El *cálculo de un punto o calibración* se refiere al cálculo de la comparación de la concentración conocida del estándar o calibrador y su absorbancia correspondiente con la absorbancia del valor desconocido, de acuerdo con la siguiente relación:

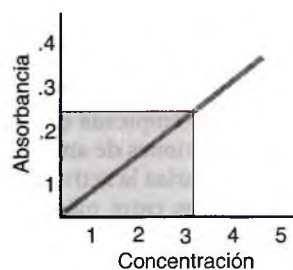
$$\begin{aligned} & \frac{\text{Concentración del estándar (Cs)}}{\text{Absorbancia del estándar (As)}} \\ & = \frac{\text{Concentración de la muestra desconocida (Cu)}}{\text{Absorbancia de la muestra desconocida (Au)}} \quad (\text{Ec. 1-52}) \end{aligned}$$

Al despejar la concentración de muestra desconocida, la ecuación se transforma en:

$$C_u = \frac{(A_u)(C_s)}{A_s} \quad (\text{Ec. 1-53})$$

Ejemplo 1-21

El ensayo de la proteína biuret es muy estable y sigue la ley de Beer. En vez de construir una nueva gráfica normal, se lleva a cabo el ensayo de un estándar (6 g/dl). La absorbancia del estándar



Absorbancia desconocida = 0.250
Concentración a partir de la gráfica = 3.2

FIGURA 1-15. Curva normal.

dar fue 0.400, y la absorbancia de la muestra desconocida fue 0.350. Determine el valor de la muestra desconocida en g/dl.

$$C_u = \frac{(0.350)(6 \text{ g/dl})}{(0.400)} = 5.25 \text{ g/dl} \quad (\text{Ec. 1-54})$$

Este método de cálculo es aceptable, siempre que todo en el sistema, incluidos el instrumento y los reactivos, permanezcan sin cambio. Si cambia cualquier cosa en el sistema, se debe construir una nueva gráfica estándar. La comprobación de linealidad, la calibración, o ambas, se requiere si un sistema cambia o se vuelve inestable. Las agencias reguladoras suelen prescribir la condición de verificación.

Cálculos de enzimas

Otra aplicación de la ley de Beer es el cálculo de resultados de ensayos con enzimas. Cuando se calculan resultados de enzimas, la *tasa de cambio de absorbancia* se monitorea de forma continua durante la reacción, para dar la diferencia de absorbancia, conocida como *absorbancia delta*, o ΔA . En vez de usar una gráfica estándar en un cálculo de un punto, se emplea la capacidad de absorbancia molar del producto. Si se tiene la constante de capacidad de absorbancia y la absorbancia, en este caso ΔA , la ley de Beer se usa para calcular la concentración de la enzima de manera directa, sin la necesidad inicial de una gráfica normal, como sigue:

$$\begin{aligned} A &= abc \\ C &= \frac{A}{ab} \end{aligned} \quad (\text{Ec. 1-55})$$

Cuando la constante de capacidad de absorbancia (a) se expresa en unidades de gramos por litro (moles) por una trayectoria de luz de 1 centímetro (cm), se emplea el término *capacidad de absorbancia molar* (ϵ). La sustitución de ϵ por a y ΔA por A produce la siguiente fórmula de la ley de Beer:

$$C = \frac{\Delta A}{\epsilon} \quad (\text{Ec. 1-56})$$

Las unidades que de manera tradicional se han empleado para reportar actividad enzimática incluyen peso, tiempo y volumen. En los primeros días de la enzimología, las unidades de métodos específicos (p. ej., King-Armstrong, Caraway) eran diferentes y confusas. En 1961, la *Enzyme Commission of the International Union of Biochemistry* recomendó usar una unidad, la unidad internacional (UI), para presentar informes de actividad enzimática. La UI se define como la cantidad de enzima que catalizará 1 Mmol de sustrato/minuto/litro. Estas unidades solían expresarse como unidades por litro (U/L). Muchos laboratorios clínicos adoptaron las designaciones UI, U o UI/L para representar la UI. Aunque la unidad empleada en informes es la misma, a menos que las condiciones de análisis sean idénticas, el uso de la UI no estandariza la actividad enzimática real y, por tanto, los resultados entre métodos diferentes de la misma enzima no producen actividad equivalente de ésta. Por ejemplo, una ALP (fostatasa alcalina) que se utiliza a 37°C catalizará más sustrato que cuando la temperatura es menor, por ejemplo, 25°C, aunque la unidad de expresión, U/L, sea la misma. La unidad SI recomendada es el *katal*, que se expresa como mol/L/segundo. Cualquiera

que sea la unidad, el cálculo de la actividad por medio de la ley de Beer requiere la inclusión de la dilución y, en función de la unidad para el informe, la posible conversión al término apropiado (p. ej., μmol a mol , ml a L , min a s y factores de temperatura). Entonces, la ley de Beer para la UI se transforma en:

$$C = \frac{(\Delta A)10^{-6}(TV)}{(\epsilon)(b)(SV)} \quad (\text{Ec. 1-57})$$

donde TV = volumen total de la muestra más reactivos en ml y SV = volumen de muestra en ml . El factor 10^{-6} convierte los moles en nmoles para la UI. Si se empleara otra unidad de actividad, como el katal, se requeriría la conversión en litros y segundos, pero se excluye la conversión a y desde micromoles.

Ejemplo 1-22

La ΔA por minuto para una reacción enzimática es 0.250. El producto medido tiene una capacidad de absorbancia molar de 12.2×10^3 a 425 nm a 30°C. La incubación y la temperatura de reacción se mantienen también a 30°C. El ensayo requiere 1 ml de reactivo y 0.050 ml de muestra. Dé los resultados de actividad enzimática en unidades internacionales. Al aplicar la ley de Beer y la información de conversión necesaria, la ecuación se convierte en:

$$c = \frac{(0.250)(10^{-6})(1.050 \text{ ml})}{(12.2 \times 10^3)(1)(0.050 \text{ ml})} = 430 \text{ U} \quad (\text{Ec. 1-58})$$

Nota: b suele ser 1 cm; como es una constante, puede dejarse a un lado en el cálculo.

CONSIDERACIONES ACERCA DE LA MUESTRA

La recolección, el manejo y el procesamiento de la muestra representan las áreas *primarias* de error analítico. Es necesario poner mucha atención en cada fase para asegurar el examen posterior adecuado y presentar un informe de resultados significativos. Las agencias de acreditación requieren laboratorios para definir y delinear con claridad los procedimientos utilizados para la recolección, el transporte y el procesamiento adecuados de muestras de pacientes, y los pasos utilizados para reducir y detectar cualquier error, junto con la documentación de la resolución de cualquier clase de error. La ley de enmiendas de mejoramiento del laboratorio clínico de 1988 (CLIA 88)²⁷ especifica que se documenten los procedimientos para envío y manejo apropiado de muestras, incluida la disposición de cualquier muestra que no cumpla con los criterios de aceptación del laboratorio.

Tipos de muestras

La *flebotomía*, o *venipunción*, es el acto de obtener una muestra de sangre de una vena por medio de una aguja unida a una jeringa o un *tubo al vacío* tapado. Estos tubos vienen en diferentes volúmenes; de tamaños pediátricos ($\sim 150 \mu\text{l}$) a tubos más grandes, de 7 ml. El sitio más frecuente de venipunción es el antecubital del brazo. Se aplica un torniquete hecho de tubo de hule flexible o una tira con Velcro en el extremo alrededor del brazo, de modo

que cese el flujo de sangre y se produzca la dilatación de las venas, lo que facilita su detección. El calibre de la aguja está inversamente relacionado con el tamaño de la aguja; cuanto mayor sea el número, más pequeño será el orificio de la aguja y menor la longitud. Un equipo de infusión IV, a veces denominado mariposa por el aspecto del montaje, se usa siempre que las venas son frágiles, pequeñas o difíciles de alcanzar o hallar. La mariposa está unida a una pieza de tubería, que luego se une a un cubo o tubo. Se deben evitar los sitios adyacentes a la terapia IV; sin embargo, si ya se han empleado ambos brazos en la terapia y ésta no se puede discontinuar por corto tiempo, se debe buscar un sitio *abajo* del sitio IV. La muestra inicial extraída (5 ml) se debe desechar porque tiene más probabilidades de estar contaminada con líquido IV, y sólo se deben usar las muestras posteriores para propósitos analíticos.

Además de la venipunción, las muestras de sangre se pueden colectar por medio de una técnica de punción cutánea relacionada por lo general con el área externa del fondo del pie (punción del talón), la parte carnosa de la mitad de la última falange del tercer o cuarto dedo (anular) (punción digital), o posiblemente la porción carnosa del lóbulo de la oreja. Se emplea una lanceta ahusada para perforar la piel y un tubo capilar (es decir, un tubo de vidrio estrecho y corto) para recolectar la muestra.

Se dispone de información adicional relacionada con la flebotomía y la punción cutánea;^{28,29} además, muchos programas de capacitación acreditados en flebotomía y ciencia del laboratorio incluyen guías y procedimientos formales para la recolección adecuada de muestras de sangre. Por desgracia, es probable que otro personal del hospital que pudiera recolectar muestras (como enfermeras o médicos) no tenga el beneficio de tal capacitación. Esta falta de entrenamiento podría dar como resultado la recolección inadecuada y un incremento en los errores.

El examen analítico de sangre conlleva el uso de sangre total, suero o plasma. La *sangre total*, como lo indica su nombre, utiliza tanto la porción líquida de la sangre llamada *plasma* como los componentes celulares (eritrocitos, leucocitos y plaquetas). Esto requiere recolectar la sangre en un recipiente que contiene un anticoagulante. Es necesario mezclar por completo la sangre después de la venipunción para asegurar que el anticoagulante inhiba de manera adecuada los factores de coagulación de la sangre. A medida que se asienta ésta, las células caen hacia el fondo y dejan un sobrenadante amarillo claro en la parte superior, denominado *plasma*. Si un tubo no contiene un anticoagulante, los factores de coagulación de la sangre están activos para formar un coágulo. El fibrinógeno encapsula el coágulo. Al líquido restante se le llama *suero* y no plasma. Casi todos los análisis en el laboratorio químico clínico se llevan a cabo en el suero. La diferencia principal entre el plasma y el suero es que este último no contiene fibrinógeno (es decir, hay menos proteína en el suero que en el plasma) y se libera algo de potasio de las plaquetas (el potasio sérico resulta ligeramente mayor en el suero que en el plasma). Es importante permitir que se coagulen por completo las muestras de suero (cerca de 20 min) antes de ser centrifugadas.

La centrifugación de la muestra acelera el proceso de separación del plasma y las células. Las muestras se deben centrifugar durante unos 10 min a una FCR de 1000 a 2000 g, pero se debe evitar la destrucción mecánica de glóbulos rojos, que podría liberar hemoglobina (proceso denominado *hemólisis*).

Las muestras de *sangre arterial* miden los gases sanguíneos (presiones parciales de oxígeno y dióxido de carbono) y el pH. Se emplean jeringas en lugar de tubos al vacío como resultado de la presión en un vaso sanguíneo arterial. Las arterias radial, branquial y femoral son los principales sitios arteriales. Las punciones arteriales son las más difíciles de llevar a cabo, debido a la presión arterial inherente, la dificultad para detener la hemorragia posterior y la formación indeseable de un hematoma, que impide el suministro de sangre a los tejidos circundantes. Para más información acerca de la punción arterial, véase *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens* (NCCLS, 1999).²⁹

El metabolismo continuo podría ocurrir si el suero o el plasma permanece en contacto con las células por cierto período. Los tubos al vacío podrían incorporar material plástico parecido al gel que sirve como una barrera entre las células y el plasma o el suero, y sellar estos compartimientos durante la centrifugación. Algunos geles interfieren con ciertos analitos, de manera notable los oligometales, y fármacos como los antidepresivos tricíclicos.

También es posible incorporar cualquier conservador requerido para examen analítico en los tubos de recolección. Por lo general, ya sea el tubo de recolección (es decir, los tubos capilares) o el tapón se codifica con un color para facilitar la identificación de la presencia de un anticoagulante o conservador (cuadro 1-9). Como no todas las pruebas tienen los mismos requisitos, el laboratorista debe constatar los requisitos de recolección específicos para cada prueba antes de la recolección de la muestra. Para evitar contaminación, se comienza con los tubos de cultivo de sangre (tapones amarillos o negros); seguidos de los tubos sin anticoagulantes o conservadores (tapón rojo); luego, los tubos para estudio de coagulación que contienen citrato de sodio (tapón azul cielo); después, los que contienen conservadores heparínicos (verdes); y, por último, los que contienen *ácido etilendiaminotetraacético* (EDTA) (lavanda) y fluoruro u oxalato de sodio (color gris).

La identificación adecuada del paciente es el primer paso en la recolección de muestras. No se puede dejar de recalcar la importancia de usar el tubo de recolección apropiado, evitar la aplicación prolongada del torniquete, practicar la extracción en el orden apropiado y rotular de modo adecuado los tubos. La aplicación prolongada del torniquete causa estasis del flujo de sangre y un incremento en la hemoconcentración y que cualquier cosa se una a las proteínas o células. Pedir a los pacientes que abran y cierren su puño durante la flebotomía no sirve de nada, y puede causar un aumento en la concentración de potasio y, por tanto, se debe evitar. Se debe tomar en cuenta la contaminación intravenosa si ocurre un gran aumento en las sustancias que están siendo infundidas, como glucosa, potasio, sodio y cloruro, con una disminución de otros

CUADRO 1-9. TUBOS AL VACÍO DE USO COMÚN

COLOR DEL TAPÓN	ADITIVO	ACCIÓN	USO
Rojo	Ninguno	Permite la coagulación de sangre y produce suero	Sobre todo en ensayos de química, banco de sangre e inmunología
Rojo/gris, rojo/negro	Contiene material separador	Permite la coagulación de sangre y produce suero; el material sirve como una barrera entre el suero y las células	Principalmente en pruebas de química
Lavanda	EDTA (Na ₂ o K ₂)	Anticoagulante; se une con Ca ⁺⁺ y da como resultado sangre total o plasma	CEA, plomo, biometría hemática con diferencial, plaquetas y cuentas de reticulocitos
Naranja	Trombina	Acelera la formación de coágulos resultantes en el suero	Pruebas séricas STAT (menos tiempo necesario para la formación del coágulo)
Azul	Citrato de Na	Anticoagulante; se une con Ca ⁺⁺ y da como resultado sangre total o plasma	Prueba de coagulación; ensayos de factor, fibrinógeno, TP, TTP, tiempo de trombina
Gris	a) Flurouro de Na/oxalato de K	Inhibe la enzima glucolítica enolasa y actúa como anticoagulante, lo que produce sangre total o plasma. Interfiere con determinaciones de Na, K y principalmente con BUN (ureasa).	Glucosa (OGTT)/lactato
	b) Yodoacetato	Inhibe la enzima glucolítica gliceraldehído-3-fosfato; produce suero; no interfiere con ensayos de Na, K o NUS (ureasa)	
Verde	Heparina (Na, Li o NH ₄); interfiere con muchos iones	Inhibe la activación de trombina, así que origina sangre total o plasma	Amoniaco, carboxi/metahemoglobina, plomo

analitos como urea y creatinina. Además, se debe emplear el antiséptico apropiado. Por ejemplo, las torundas de alcohol isopropílico se usan para limpiar y desinfectar el sitio de recolección; sin embargo, no es el antiséptico apropiado para desinfectar el sitio cuando se extraen concentraciones de alcohol sanguíneo.

La sangre no es la única muestra analizada en el laboratorio de química clínica. La orina es el siguiente líquido más común para determinación. Casi todos los análisis cuantitativos de orina requieren una muestra programada (por lo común 24 h); tal vez sea difícil obtener una muestra completa (toda la orina se debe recolectar en el tiempo especificado) porque muchas muestras programadas son colectadas por el paciente en una situación ambulatoria. El análisis de creatinina se emplea para evaluar la integridad de la orina de 24 h porque la producción de creatinina está relativamente libre de interferencia y es estable, con poco cambio en la producción entre individuos. Un adulto excreta en promedio 1 a 2 g de creatinina por 24 h. El volumen de orina difiere ampliamente entre individuos; sin embargo, un recipiente de 4 L es adecuado (la producción promedio es de alrededor de 2 L). Se debe observar que este análisis difiere de la prueba de aclaramiento de creatinina empleado para evaluar la tasa de filtración glo-

merular, que compara la producción de creatinina en la orina con la del suero en un intervalo y un volumen de orina especificados (por lo general con corrección de área superficial). La fórmula general es:

UV/P

(Ec. 1-59)

donde U representa el valor de creatinina de orina en mg/dl; V, el volumen de orina por unidad de tiempo expresado en ml/min, y P el valor de creatinina en plasma o suero en mg/dl. Con esta fórmula, el valor de aclaramiento de creatinina se expresa en ml/min. (Véase capítulo 24, *Función renal*.)

Otros líquidos corporales analizados en el laboratorio de química clínica son el líquido cefalorraquídeo (LCR), los líquidos para paracentesis (pleural, pericárdico y peritoneal) y los amnióticos. En estas muestras, se deben observar el color y las características del líquido antes de la centrifugación. En ese momento, un laboratorista debe comprobar también que la muestra está designada sólo para análisis químico clínico, porque varios departamentos (es decir, hematología o microbiología) podrían compartir una sola muestra de líquido y la centrifugación podría invalidar ciertas pruebas en esas áreas.

El líquido cefalorraquídeo es un ultrafiltrado del plasma y suele reflejar los valores vistos en el plasma. Para el

análisis de glucosa y proteína (proteínas totales y específicas), se recomienda que una muestra de sangre sea analizada al mismo tiempo que esos analitos en el LCR. Esto ayudará a determinar la utilidad clínica de los valores obtenidos en la muestra de LCR. Esto también es cierto para los ensayos con deshidrogenasa de lactato y proteína requeridos en líquidos de paracentesis. Todas las muestras de líquido se deben manejar de inmediato sin retraso entre adquisición de la muestra, transporte y análisis.

El líquido amniótico se emplea para evaluar madurez pulmonar del feto (relación L/S), enfermedades congénitas, enfermedades hemolíticas, defectos genéticos y edad gestacional. Los laboratoristas deben comprobar el manejo específico de este líquido con el responsable del procedimiento de prueba.

Procesamiento de la prueba

Cuando las muestras llegan al laboratorio, deben procesarse. En el laboratorio químico clínico, esto significa hacer corresponder de manera correcta el tubo de recolección de sangre con la demanda apropiada de analito y las etiquetas de identificación del paciente. Se trata de un área en particular sensible al error preanalítico. Las etiquetas de código de barras en tubos de muestra primarios son un medio popular para detectar errores y reducir al mínimo los que resulten críticos en este punto del procesamiento. En algunas instalaciones, las muestras se numeran o introducen en listas de trabajo o en un segundo sistema de identificación que resulta útil durante la fase analítica. El laboratorista debe constatar también si la muestra es aceptable para procesamiento posterior. Los criterios empleados dependen de la prueba en cuestión, pero suelen incluir consideraciones de volumen (es decir, ¿existe volumen suficiente para los requisitos del examen?); el uso de anticoagulantes o conservadores apropiados; que el tiempo se indique con claridad y sea apropiado para el examen programado, y que la muestra esté intacta y se haya transportado de manera adecuada (p. ej., que se haya enfriado o esté en hielo, y que se encuentre dentro de un período razonable, protegida de la luz, tapada de modo apropiado). A menos que se esté llevando a cabo un análisis de sangre completo, la muestra se centrifuga como se describió antes, y el suero o plasma deben separarse de las células.

Una vez procesada, el laboratorista debe observar la presencia de cualquier característica sérica o plasmática, como *hemólisis* e *ictericia* (mayor concentración de pigmento de bilirrubina) o la presencia de turbidez relacionada por lo general con lipemia (incremento de lípidos). Las muestras se deben analizar en un lapso de 4 h; para reducir al mínimo los efectos de evaporación, las muestras se deben tapar de manera apropiada y mantener alejadas de áreas de flujo rápido de aire, luz y calor. Si el ensayo se va a realizar después de ese tiempo, las muestras se almacenan de modo adecuado. En esencia, esto significa refrigeración a 4°C durante 8 h. Muchos analitos son estables a esta temperatura, con la excepción de la fosfatasa alcalina (se incrementa) y la deshidrogenasa de lactato (disminuye como resultado de las fracciones cuatro y cinco inestables con la

temperatura). Es posible congelar las muestras a -20°C y almacenarlas durante períodos más largos sin efectos perjudiciales en los resultados. Se deben evitar los ciclos repetidos de congelamiento y descongelamiento, como los que ocurren en los denominados congeladores sin escarcha.

Variables de la muestra

Las variables de la muestra incluyen consideraciones fisiológicas, preparación adecuada del paciente y problemas en la recolección, transporte, procesamiento y almacenaje. Aunque los laboratoristas deben incluir mecanismos para reducir el efecto de estas variables en el ensayo y documentar cada incidente preanalítico, por lo general resulta frustrante tratar de controlar las variables que dependen sobre todo de individuos fuera del laboratorio. La mejor manera de proceder consiste en evaluar de manera crítica o predecir las áreas o los vínculos débiles, identificar los posibles problemas e instaurar un plan de acción que contenga políticas, procedimientos o controles en el viaje de la muestra hasta llegar al laboratorista que lleva a cabo la prueba. La buena comunicación con todo el personal ayuda a asegurar que siempre que existan los planes se satisfagan las necesidades del laboratorio y, en última instancia, del paciente y el médico. Casi todas las agencias de acreditación requieren que los laboratorios consideren todos los aspectos de variación preanalítica como parte de sus planes de aseguramiento de la calidad, incluidas la resolución de problemas y la documentación.

La variación fisiológica se refiere a cambios que ocurren dentro del cuerpo, como cambios cíclicos (variación diurna o circadiana) o los que resultan de ejercicio, dieta, estrés, sexo, edad, condiciones médicas (fiebre, asma, obesidad), fármacos o postura (cuadro 1-10). Casi todas las muestras se toman de pacientes en ayunas (por lo general durante un período nocturno de 8 h). Sin embargo, como nocturno y ayuno son términos relativos, se deben determinar el tiempo y lo que se consumió durante ese período antes de obtener la muestra para las pruebas que resultan afectadas por la dieta o el ayuno. La preparación del paciente para muestras programadas o que requieren dietas específicas u otras instrucciones deben estar bien escritas y ser explicadas de manera verbal a los pacientes. Los pacientes ancianos suelen malinterpretar o se preocupan demasiado por las instrucciones que reciben del personal médico. Un número telefónico de información del laboratorio incluido en estas indicaciones impresas puede servir como una referencia excelente para la preparación adecuada del paciente.

Los fármacos pueden afectar a varios analitos.³⁰ Es importante confirmar los medicamentos, si existe alguno, que está tomando el paciente y que pudieran interferir con la prueba. Por desgracia, muchos laboratoristas no tienen el tiempo o el acceso a esta información, y el interés en este tipo de interferencia sólo surge cuando el médico cuestiona un resultado. Algunas influencias encontradas con frecuencia son el hábito de fumar, que causa un incremento en la glucosa como resultado de la acción de la nicotina; hormona de crecimiento; cortisol; colesterol; triglicéridos y urea. Cantidades altas o consumo crónico de alcohol causan

CUADRO 1-10. FACTORES QUE AFECTAN A CONSTITUYENTES SÉRICOS COMUNES

CONSTITUYENTE	APLICACIÓN PROLONGADA DE TORNIQUETE	HEMÓLISIS	POSTURA SUPINA A ERECTA	VARIACIÓN DIURNA	EDTA	COMIDAS	OTRAS
Amoniaco	↑	↑				↑	Tabaquismo; ↑ con el ejercicio
TP/albúmina	↑	↑ (Alb ↓*)	↑				Lipemia
Bilirrubina		↓					Luz
Hierro	↑	↑		✓		↑	Menstruación
Glucosa		✓				↑	Cafeína, fumar
Fosfato		↑				↓	
Electrolitos							
Calcio			↑		↓	↑ (ionizado)	Los cambios marcados en la albúmina y el pH deben tomarse en cuenta en la evaluación
Na		↓ (grave)					
K	↓	↑		↑			↑ con la abertura o cierre de la mano antes de la recolección
Cloruro					↓		
Magnesio		↑			↓		Lipemia*
Enzimas							
ALT		↑	↑				↑ con el ejercicio intenso
AST		↑	↑				↑ con el ejercicio intenso
Amilasa			↑		↓		Suero y sólo plasma heparinizado
CK		↑ (moderada)*					Luz y sensible al pH, mantenga cubierto para reducir la pérdida de CO ₂ en la oscuridad
LD		↑					Fracciones lábiles con el frío
ALP		↑	↑		↓		
ACP		↑		↑			Lipemia; pH estabilizado a 5.4 para almacenamiento adecuado
Lípidos							
Colesterol	↑	↑*	↑				
Triglicérido		↑*	↑				
Hormonas							
Prolactina				✓		↑(proteína)	Estrés, ambulación, ejercicio = ↑
Insulina						↑	
ACTH				✓			Se adhiere al vidrio; use poliestireno
Catecolaminas		↑		✓		↑	Estrés; ↑ con la intoxicación, tabaco
Cortisol				✓			Cafeína
Gastrina						↑	
GH				✓		↑	↑ con el ejercicio
PTH				✓	✓		La afectan las concentraciones de Ca; vida media corta

CUADRO 1-10. FACTORES QUE AFECTAN A CONSTITUYENTES SÉRICOS COMUNES (CONTINUACIÓN)

CONSTITUYENTE	APLICACIÓN PROLONGADA DE		POSTURA SUPINA A		VARIACIÓN DIURNA	EDTA	COMIDAS	OTRAS
	TORNIQUETE	HEMÓLISIS	ERECTA					
Renina			✓			✓		No se debe enfriar la muestra; la afecta el regaliz
Aldosterona						✓		Se deben tomar en cuenta los valores de Na y K
Glucagon							↑	
Tiroideo			↑					
TSH					↑			

*Posible interferencia en los métodos de ensayo.

hipoglucemia, mayor cantidad de triglicéridos e incremento en la enzima γ -glutamyltransferasa y otras pruebas de función hepática. Las inyecciones intramusculares incrementan la enzima creatina cinasa y la fracción musculoesquelética de lactato deshidrogenasa. Los opiáceos, como morfina o meperidina, causan incrementos en las enzimas hepáticas y pancreáticas, y los anticonceptivos orales pueden afectar muchos resultados analíticos. Muchos fármacos afectan las pruebas de función hepática. Los diuréticos causan disminución de potasio e hiponatremia. Los medicamentos tipo tiazida causan hiperglucemia y azoemia prerrenal secundaria a la reducción del volumen sanguíneo. Las variaciones posteriores a la recolección se relacionan con los factores descritos en procesamiento de la muestra. Los errores administrativos son los que se encuentran con más frecuencia, seguidos de la separación inadecuada de células del suero, almacenaje inadecuado y recolección.

Cadena de custodia

Cuando las pruebas de laboratorio tienen relación probable con un crimen o accidente, adquiere una naturaleza forense. En estos casos, se requiere la identificación documentada de la muestra en cada fase del proceso. Cada instalación tiene sus propias formas y protocolos; sin embargo, el paciente y, por lo general, un testigo, deben identificar la muestra. Ésta debe tener un sello inviolable. Cualquier individuo que haya tenido contacto con la muestra

debe documentar el recibo de la muestra, su condición al momento de recibirla, y la fecha y hora en que se recibió. En algunos casos, un testigo verifica el proceso completo y firma también a medida que la muestra sigue su curso. Cualquier prueba analítica se podría usar como parte del testimonio legal; por tanto, el laboratorista debe dar a cada muestra, incluida la que carece de documentación, la misma atención que recibe una muestra forense.

RESUMEN

El objetivo principal de cualquier laboratorio de química clínica es realizar de manera correcta los procedimientos analíticos que producen información exacta y precisa para ayudar en el diagnóstico del paciente. Para lograr resultados exactos y confiables que reflejan el estado fisiológico del paciente, el laboratorista clínico debe estar familiarizado con el uso de suministros y equipo, con la noción fundamental de los conceptos críticos para el ensayo químico clínico. En este capítulo se proporciona la información necesaria para la práctica importante de la química clínica, incluidos unidades de medición, temperatura, reactivos (sustancias químicas, estándares, disoluciones, especificaciones para el agua), materiales de laboratorio (de vidrio y plástico, pipetas, buretas, balanzas y desecantes), técnicas de separación, recolección de muestras, transporte y procesamiento, además de matemáticas y cálculos de laboratorio.

PREGUNTAS DE REPASO

- Determine cada uno de los siguientes constituyentes de una disolución que contiene 100 g de NaCl elaborada con 500 ml de agua destilada.
 - Molaridad.
 - Normalidad.
 - Por ciento (p/v).
 - Factor de dilución.
- Determine los valores de concentración de cada una de las siguientes designaciones para una disolución que contiene 10 mg de CaCl_2 y 100 ml de agua destilada.
 - mg/dl.
 - Molaridad.
 - Normalidad.

3. Se debe preparar 1 L de ácido acético de 0.2 M (CH_3COOH). Se tiene ácido acético glacial concentrado (valor de ensayo, 98%; densidad relativa, 1.05 g/ml). ¿Cuántos mililitros son necesarios para preparar esta disolución?
4. ¿Cuál es la concentración de iones hidrógeno de una disolución amortiguadora con un pH de 4.24?
5. Emplee la ecuación de Henderson-Hasselbalch para resolver cada uno de los siguientes problemas de disoluciones amortiguadoras:
 - a) ¿Cuál es la relación de sal a ácido débil para una disolución amortiguadora de Veronal con un pH de 8.6 y un pK_a de 7.43?
 - b) El pK_a para el ácido acético es 4.76. ¿Cuál es el pH esperado si la concentración de sal es 5 mmol/L, y la del ácido acético es de 10 mmol/L?
6. La concentración de iones hidrógeno en una disolución es 0.0000937. ¿Cuál es el pH?
7. Se prepara una curva estándar o normal para un ensayo de albúmina. Los valores estándar necesarios son
 - 1.0 g/dl.
 - 2.0 g/dl.
 - 4.0 g/dl.
 - 6.0 g/dl.
 - 8.0 g/dl.
 - 10.0 g/dl.
 Se tiene una disolución *stock* de 30 g/dl.
 - a) ¿Cuál es la dilución necesaria para obtener cada uno de los valores estándar listados?
 - b) Se requiere un volumen total de 15 ml por estándar. Determine la cantidad de *stock* más la cantidad de diluyente necesaria para preparar cada estándar.
8. Efectúe las siguientes conversiones.
 - $8 \times 10^3 \text{ mg} = \text{ } \mu\text{g}$
 - $40 \mu\text{g} = \text{ } \text{mg}$
 - $13 \text{ dl} = \text{ } \text{ml}$
 - $200 \mu\text{l} = \text{ } \text{ml}$
9. ¿Qué volumen de H_2SO_4 de 14 N se necesita para preparar 250 ml de una disolución de 3.2 M de H_2SO_4 ?
10. Una muestra de orina de 24 h tiene un volumen total de 1 200 ml. Una dilución 1:200 de la muestra de orina da un resultado de creatinina de 0.8 mg/dl. El valor sérico es de 1.2 mg/dl.
 - a) ¿Cuál es la concentración de creatinina para la muestra de orina sin diluir?
 - b) ¿Cuál es la concentración en términos de miligramos por mililitro?
 - c) ¿Cuál es el resultado en términos de gramos por 24 h?
 - d) ¿Cuál es el valor de aclaramiento de creatinina? (Sin corrección para área superficial.)
11. ¿Cuánto $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ se necesita para preparar 500 ml de CuSO_4 2.5 M?
12. Una reacción enzimática produce una ΔA de 0.031 por 30 segundos. El ensayo requiere 1.5 ml de reactivo y 50 μl de muestra. La ϵ del producto es 5.3×10^3 . Dé los resultados de enzima en unidades internacionales.
13. Se recibe en el laboratorio una muestra de sangre. El requisito de la prueba incluye electrolitos, CK, LD y AST. Después de centrifugar, se observa hemólisis. ¿Qué pruebas, si existen, son inválidas?
14. Se recibe una muestra de sangre en el laboratorio con una etiqueta que sólo tiene un número de habitación. Debido a que es una habitación privada, sólo se asigna una persona para ese lugar. ¿Es aceptable esta muestra?
15. De un sitio remoto se recibe una tolerancia a la glucosa de 3 horas. Este tubo utiliza fluoruro de sodio como inhibidor glucolítico. La oficina del médico pide agregar una prueba para urea. ¿Es posible satisfacer esta petición?

REFERENCIAS

1. National Institute of Standards and Technology (NIST). Reference on constants, units, and uncertainty. Adapted from Special Publications (SP) 811 and 330. Washington, D.C.: U.S. Department of Commerce, 1991/1993. Available at <http://physics.nist.gov>. Accessed April 2003.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). The reference system for the clinical laboratory: Criteria for development and credentialing of methods and materials for harmonization and results; approved guideline. NCCLS Document NRSL 13-P. Wayne, PA: NCCLS, 2000.
3. American Chemical Society (ACS). Reagent Chemicals, 9th ed. Washington, D.C.: ACS Press, 2000.
4. Department of Labor and Occupational Safety and Health Administration (OSHA). Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. Federal Register, 29 CFR, Part 1910.1450. Washington, D.C.: OSHA, 1990.
5. National Institute of Standards and Technology (NIST). Standard reference materials. Publication 260. Washington, D.C.: U.S. Department of Commerce, 1991.
6. International Union of Pure and Allied Chemistry (IUPAC). In: McNaught A, Wilkinson A, eds. Royal Society of Chemistry. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. Cambridge, UK: Blackwell Scientific, 1997.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Development of certified reference materials for the national reference

- system for the clinical laboratory. NCCLS Document NRSL-3A. Villanova, PA: NCCLS, 1991.
8. International Organization for Standardization, European Committee for Standardization (ISO). In vitro diagnostic medical devices—measurement of quantities in samples of biological origin—metrological traceability of values assigned to calibrators and control material. ISO/TC 212/WG2 N65/EN 17511. Geneva, Switzerland: ISO, 2000.
 9. Dybaer R. Reference materials and reference measurement systems in laboratory medicine. Harmonization of nomenclature and definitions in reference measurement systems. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995;33:995-998.
 10. National Institute of Standards and Technology (NIST). Standard reference materials program. Washington, D.C.: U.S. Department of Commerce. Available at <http://ts.nist.gov/srm>. Accessed April 2003.
 11. Carreiro-Lewandowski E. Basic principles and practice of clinical chemistry. In Bishop M, Duben-Engelkirk J, Fody P, eds. *Clinical Chemistry, Principles, Procedures, and Correlations*, 4th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.
 12. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Preparation and testing of reagent water in the clinical laboratory. Approved guideline, 3rd ed, C3-A3. Wayne, PA: NCCLS 1997.
 13. College of American Pathologists (CAP). General laboratory guidelines; Water Quality. Northfield, IL: College of American Pathologists, July 1999.
 14. Skoog D, West D, Holler J, Crouch S, eds. *Analytical Chemistry: An Introduction*, 7th ed. Stamford, CT: Thompson/Brooks-Cole, 2000.
 15. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Temperature calibration of water baths, instruments, and temperature sensors. I2-A2, Villanova, PA: NCCLS, 1990.
 16. National Institute of Standards and Technology (NIST). Calibration uncertainties of liquid-in-glass thermometers over the range from -20°C to 400°C . Gaithersburg, MD: U.S. Department of Commerce, 2000.
 17. National Institute of Standards and Technology (NIST), Wise J. A procedure for the effective recalibration of liquid-in-glass thermometers. (SP)819. Gaithersburg, MD: National Institute of Standards and Technology, August, 1991.
 18. Bowers GN, Inman SR. The gallium melting-point standard. *Clin Chem* 1977;23:733.
 19. Bowie L, Esters F, Bolin J, et al. Development of an aqueous temperature-indicated technique and its application to clinical laboratory instruments. *Clin Chem* 1976;22:449.
 20. American Society for Testing and Materials (ASTM). Standards specification for volumetric (transfer) pipets. E969-83. 14.02:500-501. West Conshohocken, PA: ASTM, 1993.
 21. American Society for Testing and Materials (ASTM). Calibration of volumetric flasks. E288-94. 14.04. West Conshohocken, PA: ASTM, 2003.
 22. Seamonds B. Basic laboratory principles and techniques. In: Kaplan L, Pesce A, Kazmierczak S, eds. *Clinical Chemistry. Theory, Analysis, and Correlation*, 4th ed. St. Louis: CV Mosby, 2003.
 23. Bio-Rad Laboratories. Procedure for comparing precision of pipet tips. Product Information No. 81-0208. Hercules, CO: Bio-Rad Laboratories, 1993.
 24. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Determining performance of volumetric equipment. NCCLS document 18-P. Villanova, PA: NCCLS, 1984.
 - 24a. Lide DH, ed. *Handbook of Chemistry and Physics*, 76th ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1995.
 25. American Society for Testing and Materials (ASTM). Standard specification for laboratory weights and precision mass standards. E617-97. 14.04. West Conshohocken, PA: ASTM, 2003.
 26. Campbell JB, Campbell JM. *Laboratory Mathematics: Medical and Biological Applications*, 5th ed. St. Louis: CV Mosby, 1997.
 27. Clinical Laboratory Improvement Amendments. Centers for Disease Control, Division of Laboratory Systems. CFR Part 493, Laboratory Requirements. Available at <http://www.phppo.cdc.gov/clia/regs2/toc.asp>. Accessed May 2003.
 28. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures and devices for the collection of diagnostic blood specimens by skin puncture. Approved standard H4-A4, 4th ed. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
 29. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for the handling and processing of blood specimens, H11-A3, 3rd ed. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
 30. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 5th ed. Washington, D.C.: AACC Press, 2000.

Seguridad y regulaciones en el laboratorio

Tolmie E. Wachter

CAPÍTULO

2

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- **SEGURIDAD Y REGLAS EN EL LABORATORIO**
 - Ley de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA)
 - Otras reglas y normas
- **CÓMO CREAR CONCIENCIA DE LA SEGURIDAD ENTRE EL PERSONAL DEL LABORATORIO**
 - Responsabilidad sobre la seguridad
 - Señalización y etiquetado
- **EQUIPO DE SEGURIDAD**
 - Campanas
 - Equipo de almacenamiento químico
 - Equipo de protección personal
- **SEGURIDAD BIOLÓGICA**
 - Consideraciones generales
 - Derrames
 - Plan de control de exposición a patógenos llevados por la sangre
 - Patógenos llevados por el aire
 - Envío
- **SEGURIDAD QUÍMICA**
 - Comunicación de riesgos
 - Hoja de datos de seguridad del material (HDSM)
 - Estándar de laboratorio
 - Efectos tóxicos de sustancias peligrosas
 - Almacenamiento y manejo de sustancias químicas
- **SEGURIDAD EN RELACIÓN CON LA RADIACIÓN**
 - Protección ambiental
 - Protección del personal
 - Radiación no ionizante
- **SEGURIDAD CONTRA INCENDIOS**
 - Química del fuego
 - Clasificación de incendios
 - Tipos y aplicaciones de extintores de fuego
- **CONTROL DE OTROS RIESGOS**
 - Riesgos eléctricos
 - Riesgos con gases comprimidos
 - Riesgos con materiales criogénicos
 - Riesgos mecánicos
 - Riesgos ergonómicos
- **ELIMINACIÓN DE MATERIALES PELIGROSOS**
 - Desechos químicos
 - Desechos radiactivos
 - Desechos biopeligrosos
- **DOCUMENTACIÓN E INVESTIGACIÓN DE ACCIDENTES**
- **RESUMEN**
- **PREGUNTAS DE REPASO**
- **LECTURAS RECOMENDADAS**

OBJETIVOS

Al terminar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Describir la sensibilización en cuanto a la seguridad para el personal del laboratorio clínico.
- Enumerar las responsabilidades del patrón y el empleado en cuanto a proveer un lugar de trabajo seguro.
- Identificar los riesgos relacionados con el manejo de sustancias químicas, muestras biológicas y materiales radiológicos.
- Elegir el equipo de protección personal apropiado al trabajar en el laboratorio clínico.
- Identificar las clases de fuegos y el tipo de extintores que se emplea con cada uno.
- Describir los pasos empleados como medidas de precaución al trabajar con equipo eléctrico, materiales criogénicos y gases comprimidos, y al evitar riesgos mecánicos relacionados con el equipo de laboratorio.
- Seleccionar los medios correctos para la eliminación de desechos generados en el laboratorio clínico.
- Describir los pasos requeridos en la documentación de un accidente en el lugar de trabajo.

TÉRMINOS CLAVE

Asociación Nacional de Protección contra Incendios (NFPA)	Hoja de datos de seguridad del material (HDSM)	Norma de comunicación de riesgos	Reactivos químicos
Biorriesgo	Ley de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA)	Patógenos transportados en el aire	Residuos clínicos
Carcinógeno	Material criogénico	Patógenos transportados en la sangre	Riesgo mecánico
Estándar de laboratorio	Material peligroso	Plan de higiene químico	Sustancia química corrosiva
Filtro de partículas de gran eficiencia (HEPA)	Material radiactivo	Precauciones estándar	Teratógenos
			Tetraedro del fuego

SEGURIDAD Y REGLAS EN EL LABORATORIO

Todo el personal del laboratorio, por la naturaleza del trabajo que desempeña, está expuesto cada día a diversos riesgos reales o posibles: descargas eléctricas, vapores tóxicos, gases comprimidos, líquidos inflamables, material radiactivo, sustancias corrosivas, traumatismos mecánicos, venenos y los riesgos inherentes al manejo de materiales biológicos, por mencionar algunos. ¡Cada profesional debe estar “consciente de la seguridad” todo el tiempo!

La seguridad en el laboratorio requiere el control efectivo de los riesgos que existen en laboratorio clínico en cualquier instante. La seguridad comienza con el reconocimiento de los riesgos, y se logra con la aplicación del sentido común, una actitud orientada a la seguridad, una buena conducta personal, una buena gestión administrativa en todo el laboratorio de trabajo y áreas de almacenamiento y, sobre todo, la práctica continua de una buena técnica de laboratorio. En casi todos los casos, los accidentes se pueden atribuir de manera directa a dos causas principales: acciones inseguras (que no siempre reconoce el personal) y condiciones ambientales inseguras. En este capítulo se analiza la seguridad en el laboratorio como se aplica al laboratorio clínico.

Ley de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA)

El Congreso de Estados Unidos decretó en 1970 la ley pública 91-596, mejor conocida como *Ley de Seguridad y Salud Ocupacional* (OSHA). El objetivo de esta regulación federal fue proporcionar a todos los empleados (incluso el personal del laboratorio clínico) un ambiente de trabajo seguro. Bajo esta legislación, la Administración de Seguridad y Salud Ocupacional está autorizada a conducir inspecciones en las instalaciones para determinar si un patrón cumple con los estándares obligatorios. La seguridad ya no es sólo una obligación moral, sino también una ley federal.

Otras reglas y normas

Hay otras reglas federales relacionadas con la seguridad en el laboratorio, como la Ley de Agua Limpia, la Ley de Recuperación y Conservación de Recursos y la Ley de Control de Sustancias Tóxicas. Además, se precisa que los laboratorios clínicos cumplan con las leyes aplicables locales y estatales, como códigos contra incendios y de construcción. Los estándares de la OSHA que regulan la seguridad en el

laboratorio incluyen La Norma para Patógenos Transportados por la Sangre, la Norma del Formaldehído, la Norma de Laboratorio, la Norma de Comunicación de Riesgos, la Norma Respiratoria, la Norma de Contaminantes del Aire, y la Norma de Equipo de Protección Personal. Debido a que las leyes, códigos y ordenanzas se actualizan de manera frecuente, se deben revisar los materiales de referencia actuales. Se puede obtener ayuda en bibliotecas locales, Internet, y agencias reguladoras federales, estatales y locales.

La seguridad también es parte importante de los requisitos para acreditación y reacreditación de instituciones y laboratorios al cuidado de la salud por parte de cuerpos de acreditación voluntarios como la *Joint Commission on Accreditation of Health Care Organizations* (JCAHO) y la *Commission on Laboratory Accreditation of the College of American Pathologists* (CAP). La JCAHO publica un manual de acreditación anual para hospitales y el *Accreditation Manual for Pathology and Clinical Laboratory Services*, que incluye una sección detallada sobre requisitos de seguridad. El CAP publica una lista de inspección extensa como parte de su *Laboratory Accreditation Program*, que incluye una sección dedicada a la seguridad en el laboratorio.

CÓMO CREAR CONCIENCIA DE LA SEGURIDAD ENTRE EL PERSONAL DEL LABORATORIO

Responsabilidad sobre la seguridad

El patrón y el empleado comparten responsabilidad en cuanto a la seguridad. El patrón tiene la última responsabilidad en relación con la seguridad y delega autoridad a los supervisores para operaciones seguras. La administración en el laboratorio debe empezar con una política de seguridad escrita. Los supervisores de laboratorio, que reflejarán las actitudes de la administración hacia la seguridad, son miembros esenciales del programa de seguridad.

Responsabilidades del patrón

- Establecer métodos de trabajo de laboratorio y políticas de seguridad.
- Proporcionar supervisión y guía a los empleados.
- Ofrecer información segura, capacitación, equipo de protección personal y supervisión médica a los empleados.
- Proporcionar y mantener el equipo y las instalaciones del laboratorio que sean adecuadas para las tareas requeridas.

El empleado también tiene una responsabilidad con su propia seguridad y la de sus compañeros. La conducta del empleado en el laboratorio es un factor vital para la consecución de un lugar de trabajo sin accidentes o lesiones.

Responsabilidades del empleado

- Conocer y cumplir con los métodos de seguridad establecidos para el trabajo en el laboratorio.
- Tener una actitud positiva hacia los supervisores, los compañeros, las instalaciones y la capacitación en relación con la seguridad.
- Notificar de inmediato a su supervisor las condiciones o prácticas inseguras y asegurar que se corrijan.
- Participar en la conducción de prácticas de trabajo seguras y el uso de equipo de protección personal.

Señalización y etiquetado

Las señales para identificar peligros son críticas, no sólo para alertar al personal de laboratorio acerca de riesgos potenciales, sino para riesgos específicos que surgen debido a emergencias como fuego o explosión. La *National Fire Protection Association (NFPA)* desarrolló un sistema estándar de identificación de riesgos (símbolo diferenciado con colores, con forma de diamante), que han adoptado muchos laboratorios clínicos. De un vistazo, el personal de emergencia puede evaluar los riesgos para la salud (cuadrante azul), con sustancias inflamables (cuadrante rojo), de reactividad y estabilidad (cuadrante amarillo), y otra información especial (cuadrante blanco). Además, cada cuadrante muestra la gravedad, que va de cero para poca a 4 para mucha, de los riesgos dentro del área provista de avisos. (En la figura 2-1 se observa el símbolo de código de riesgo NFPA.)

Los fabricantes de sustancias químicas para laboratorio también proporcionan información de precaución a los usuarios por medio de etiquetas. La información indicada en éstas incluye comentarios acerca del riesgo, medidas de precaución, clase de riesgo específico, instrucciones de primeros auxilios para contacto interno o externo, código de almacenamiento, código de seguridad, y ropa y equipo de protección personal necesarios. Esta información es adicional a las especificaciones sobre el análisis de lote real de los constituyentes químicos y notas de otros productos (fig. 2-1). Los reactivos y soluciones preparados internamente deben etiquetarse de manera estándar con identidad química, concentración, advertencia de riesgo, manejo especial, condiciones de almacenaje, fecha de elaboración, fecha de expiración (si es aplicable) e iniciales del preparador.

EQUIPO DE SEGURIDAD

Se ha desarrollado equipo de seguridad específicamente para uso en el laboratorio clínico. La ley exige al patrón haber designado equipo de seguridad disponible, pero también es responsabilidad del empleado cumplir con las reglas de seguridad y usar el equipo.

Se requiere que todos los laboratorios cuenten con regaderas de seguridad, estaciones de lavado de ojos y

extintores de fuego, y probar de forma periódica e inspeccionar el equipo para operación adecuada. Se recomienda que las regaderas de seguridad descarguen 115 a 190 L/min de agua a 20 a 50 psi. Otros artículos que deben estar disponibles para el personal son mantas ignífugas, juegos de accesorios contra derrames y material de primeros auxilios.

Campanas

Campanas de extracción

Las campanas de extracción son necesarias para expulsar humos nocivos y peligrosos de reactivos químicos. Éstas se deben revisar en busca de obstrucciones. Un trozo de papel suave colocado en la abertura de la campana indicará la dirección del flujo de aire. Cuando la campana está en operación el marco móvil no debe estar abierto por completo. Las sustancias químicas almacenadas en las campanas no deben bloquear el flujo de aire. De manera periódica, se debe evaluar la ventilación midiendo la velocidad frontal con un medidor de velocidad calibrado. La velocidad en el frente de la campana (con el marco móvil en posición de operación normal) debe ser de 30 a 37 m/min. La prueba con humo se recomienda también para localizar espacios muertos o turbulentos en el lugar de trabajo. El monitoreo adicional debe ser de acuerdo con el plan de higiene químico de la instalación.

Campanas de bioseguridad

Las campanas de bioseguridad eliminan partículas que podrían ser dañinas para el empleado que trabaja con muestras biológicas infecciosas. Los centros para el control de enfermedades (CDC) y prevención y los institutos nacionales de salud han descrito cuatro niveles de bioseguridad, que constan de combinaciones de prácticas y técnicas de laboratorio, equipo de seguridad e instalaciones de laboratorio. El nivel de bioseguridad de un laboratorio se basa en las operaciones efectuadas, las rutas de transmisión de agentes infecciosos y la función o actividad del laboratorio. En consecuencia, las campanas de bioseguridad se diseñan para ofrecer varios niveles de protección, dependiendo del nivel de seguridad del laboratorio específico (cuadro 2-1).

Equipo de almacenamiento químico

Existe equipo de seguridad para el almacenamiento y manejo de sustancias químicas y gases comprimidos. Los soportes de seguridad se deben usar siempre para transportar botellas de 500 ml de ácidos, álcalis u otros disolventes, y las latas de seguridad aprobadas se deben usar para almacenar, transferir o eliminar sustancias inflamables en volúmenes mayores que 1 L. Los gabinetes de seguridad se requieren para almacenar líquidos inflamables, y sólo se deben usar refrigeradores a prueba de explosión diseñados en especial para los materiales inflamables. En cada banco sólo debe haber la cantidad de sustancia química necesaria para el día. Los soportes o abrazaderas para cilindros de gas se deben usar todo el tiempo, y los

Cat. C4324-5GL

Qty. 5 gallons (18.9L)

Baxter**Scientific Products****S|P™ Methyl Alcohol**

(Methanol - Anhydrous)

CH₃OH FW 32.04For Laboratory Use
Store at 68-86°F (20-30°C)Flash Point: 11°C (52°F Closed Cup)
Maximum Limits and Specifications
Methyl Alcohol: 99.8% Minimum by volume
Residue after Evaporation: 0.001% Maximum
Water: 0.10% Maximum
CAS — (67-56-1);Distributed by:
Baxter Healthcare Corporation
Scientific Products Division
McGaw Park, IL 60085-6787 USA
Rev. 11/04

Made in USA

Lot No. KEAM

② DANGER! FLAMMABLE

① DANGER! POISON

④ NFPA

When using, the following safety precautions are recommended:

③ SAFETY GLASSES & SHIELD

③ VENT HOOD

③ LAB COAT, APRON & GLOVES

⑤ FIRE EXTINGUISHER

FLAMMABLE • VAPOR HARMFUL • MAY BE FATAL OR CAUSE BLINDNESS IF SWALLOWED • CANNOT BE MADE NON-POISONOUS • HARMFUL IF INHALED • CAUSES IRRITATION • NON-PHOTOCHEMICALLY REACTIVE

Keep away from heat, sparks and flame. Keep container tightly closed and upright to prevent leakage. Avoid breathing vapor or spray mist. Avoid contact with eyes, skin and clothing. Use only with adequate ventilation. Wash thoroughly after handling. In case of fire, use water spray, alcohol foam, dry chemical or CO₂. In case of spillage, absorb and flush with large volumes of water immediately.

FIRST AID: In case of skin contact, flush with plenty of water; for eyes, flush with plenty of water for 15 minutes and get medical attention. If swallowed, if conscious, induce vomiting by giving two glasses of water and sticking finger down throat. Have patient lie down and keep warm. Cover eyes to exclude light. Never give anything by mouth to an unconscious person. If inhaled, remove to fresh air. If necessary, give oxygen or apply artificial respiration.

NOTE: It is unlawful to use this fluid in any food or drink or in any drug or cosmetic for internal or external use. Not for internal or external use on man or animal.

DOT Description: Methyl Alcohol, Flammable Liquid, UN1230

FIGURA 2-1. Etiqueta muestra de producto químico: (1) expresión de peligro, (2) clase de riesgo, (3) precauciones de seguridad, (4) código de riesgo de la *National Fire Protection Agency* (NFPA), (5) tipo de extintor de incendios, (6) instrucciones de seguridad, (7) peso fórmula y (8) número de lote.

El color del diamante en la etiqueta NFPA indica peligro:

Rojo = inflamable. Almacene en un área segregada para productos inflamables.

Azul = riesgo para la salud. Tóxico si se inhala, ingiere o absorbe por la piel. Guarde en un área segura.

Amarillo = Sustancias reactivas y reactivos oxidantes. Pueden reaccionar de forma violenta con el aire, agua u otras sustancias. Almacene lejos de materiales inflamables o combustibles.

Blanco = corrosivo. Puede dañar la piel, ojos o membranas mucosas. Almacene lejos de reactivos con código rojo, azul y amarillo.

Gris = presenta no más que riesgo moderado en cualquiera de las categorías. Para almacenamiento químico general.

Excepción = reactivo incompatible con otros reactivos de la misma barra de color. Almacene por separado. **Código de riesgo (4):** siguiendo el uso NFPA, cada diamante muestra un segmento rojo (inflamabilidad), un segmento azul (salud; es decir, toxicidad) y amarillo (reactividad). En cada segmento con código de color está impreso un número negro que muestra el grado de riesgo.

El cuarto segmento, según estipula la NFPA, se deja en blanco. Se reserva para advertencias especiales, como radiactividad.

Las clasificaciones numéricas muestran el grado de riesgo: 4 = extremo, 3 = grave, 2 = moderado, 1 = leve, y 0 = ninguno de acuerdo con los datos presentes.

tanques grandes se deben transportar por medio de carretillas de mano.

Equipo de protección personal

Las partes del cuerpo sujetas con más frecuencia a lesiones en el laboratorio clínico son los ojos, la piel y las vías respiratorias y digestivas. Por tanto, el uso de equipo de protección personal es muy importante. Lentes de seguridad, goggles, visores o blindajes de trabajo protegen los ojos y la cara de salpicaduras e impacto. Los lentes de contacto no ofrecen protección a los ojos; se recomienda no usarlos en el laboratorio de química clínica. Si cualquier solución cae en el ojo de manera accidental, se requiere irrigación exhaustiva.

Los guantes y mangas ahuladas protegen brazos y manos cuando se emplean sustancias cáusticas. Los guantes se requieren para uso de rutina en el laboratorio; sin embargo, los guantes de polivinilo u otros que no sean de látex son una alternativa aceptable para personas alérgicas a este material. Ciertos materiales para guantes ofre-

cen mejor protección contra formulaciones de reactivos específicos. Los guantes de nitrilo, por ejemplo, ofrecen un ámbito más amplio de compatibilidad con disolventes orgánicos que el látex. Las batas de laboratorio, de preferencia con mangas y puño, deben abarcar todo el brazo, tener botones y estar hechas de material resistente a líquidos. Es necesario el uso de zapatos adecuados; los zapatos contruidos de material poroso, zapatos abiertos o sandalias son considerados peligrosos.

Los respiradores se requieren para varios procedimientos en el laboratorio clínico. Ya sea que se empleen para riesgos biológicos o químicos, se debe usar el tipo correcto para el riesgo específico. Los respiradores con *filtros de partículas de alta eficiencia* (high-efficiency particulate air, HEPA) se emplean cuando los controles de ingeniería no son factibles, por ejemplo, al trabajar de manera directa con pacientes con tuberculosis (TB) o llevar a cabo procedimientos en los que las muestras de pacientes con casos confirmados de, o en los que se sospecha, TB se convierten en aerosol. La capacitación, mantenimiento y el protocolo

CUADRO 2-1. COMPARACIÓN DE GABINETES DE SEGURIDAD BIOLÓGICA

TIPO	GABINETES		APLICACIONES		
	VELOCIDAD FRONTAL (M/MIN)	PATRON DE FLUJO DE AIRE	RADIONÚCLIDOS/ COMPUESTOS QUÍMICOS TÓXICOS	NIVEL(ES) DE BIOSE- GURIDAD	PROTECCIÓN DEL PRODUCTO
Clase I,* frente abierto	23	En el frente; lejos de las partes posterior y superior por un filtro HEPA	No	2,3	No
Clase II Tipo A	23	70% recirculado por un filtro HEPA; extracción por un filtro HEPA	No	2,3	Sí
Tipo B1	30	30% recirculado por un filtro HEPA; extracción vía HEPA y conductos resistentes	Sí (concentraciones y volatilidad bajas)	2,3	Sí
Tipo B2	30	Sin recirculación; descarga total vía HEPA y conductos resistentes	Sí	2,3	Sí
Tipo B3	30	Lo mismo que IIA, pero completo bajo presión negativa a la habitación y el aire de descarga se conduce por medio de tubos	Sí	2,3	Sí
Clase III	ND	Entradas de aire de suministro y descarga por dos filtros HEPA	Sí	3,4	

Fuente: Centers for Disease Control and Prevention and the National Institutes of Health. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 3rd ed. Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office, Table 3, Comparison of Biological Safety Cabinets, 1993.

*Se pueden añadir paneles con guantes e incrementarán la velocidad frontal a 46 m/min; es posible añadir los guantes con una liberación de presión de aire de entrada que permitirá trabajar con productos químicos o radionúclidos.

escrito para uso de respiradores se requieren de acuerdo con el estándar de protección respiratorio.

Cada patrón debe proveer (sin ningún cobro) batas de laboratorio, guantes u otro equipo de protección a los empleados que pudieran estar expuestos a peligros biológicos o químicos. Es responsabilidad del patrón limpiar y mantener todo el equipo de protección personal. Antes de salir del laboratorio, se debe eliminar y desechar de manera adecuada todo el equipo de protección personal contaminado.

SEGURIDAD BIOLÓGICA

Consideraciones generales

Las muestras de sangre y otros líquidos corporales se deben recolectar, transportar, manejar y procesar con precauciones estrictas. Guantes, batas y protección para la cara se deben usar si hay probabilidades de que ocurran salpicaduras. El lavado consistente y completo de las manos es un componente esencial de control de infección.

La centrifugación de muestras biológicas produce aerosoles finamente dispersados que son una fuente de infección de alto riesgo. Lo ideal es que las muestras permanezcan tapadas durante la centrifugación. Como una precaución adicional, se recomienda el uso de una centrifugadora con protección interna.

Derrames

Cualquier derrame de sangre, líquido corporal u otro material potencialmente infeccioso debe ser limpiado,

y desinfectar de inmediato el área o equipo. La limpieza recomendada incluye lo siguiente:

- Usar equipo de protección apropiado.
- Emplear dispositivos mecánicos para recoger vidrio roto u otros objetos ahusados.
- Absorber el derrame con toallas de papel, apósitos de gasa o pañuelos de papel.
- Limpiar el sitio de derrame usando un detergente acuoso común.
- Desinfectar el sitio de derrame con una solución aprobada o blanqueador al 10%, con un tiempo de contacto apropiado.
- Enjuagar el sitio de derrame con agua.
- Desechar los materiales en recipientes apropiados para materiales biopeligrosos.

Plan de control de exposición a patógenos llevados por la sangre

En diciembre de 1991, la OSHA emitió la regla final para la exposición ocupacional a *patógenos transmitidos por la sangre*. Para reducir la exposición de los empleados, cada patrón debe tener un plan de control de exposición escrito. El plan debe estar disponible para todos los empleados cuyas obligaciones anticipadas razonables pudieran dar como resultado exposición ocupacional a sangre u otros materiales en potencia infecciosos. El plan de control de exposición se debe analizar con todos los empleados y estar a su alcance mientras trabajan. El empleado debe recibir la capacitación adecuada en relación con las técni-

cas descritas en el plan de control de exposición al inicio de la asignación de un trabajo y después cada año. Todo el equipo necesario y suministros deben estar disponibles y ser inspeccionados de forma periódica.

El personal de laboratorio clínico está en contacto frecuente de manera consciente o inconsciente con materiales en potencia biopeligrosos. En años recientes han surgido nuevos y graves peligros ocupacionales para el personal, y este problema se ha complicado debido a la falta de conocimiento acerca de la epidemiología, mecanismos de transmisión de la enfermedad o activación del agente patógeno. Se deben tomar precauciones especiales al manejar las muestras como resultado del incremento continuo de muestras infecciosas recibidas en el laboratorio. Por tanto, en la práctica, las muestras de pacientes con hepatitis, o bajo sospecha, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob u otras enfermedades en potencia infecciosas se deben manejar de una manera similar a la de otras especies de rutina. Se requiere adoptar una política de *precauciones estándar*, que considera a la sangre y otros líquidos corporales como potencialmente infecciosos.

Patógenos llevados por el aire

Debido al resurgimiento reciente de la tuberculosis (TB), la OSHA emitió una declaración en 1993 de que exigiría el cumplimiento de las *Normas CDE para prevenir la transmisión de la tuberculosis en instalaciones de atención de la salud*. El propósito de las normas es alentar la detección oportuna, aislamiento y tratamiento de casos activos. Se debe establecer un programa de control de exposición a la TB y evaluar los riesgos para quienes laboran en el laboratorio. En 1997, la OSHA emitió una norma propuesta (29 CFR 1910.1035, *Tuberculosis*). La norma exige que cualquier instalación relacionada con el diagnóstico o tratamiento de casos de TB infecciosa confirmada elabore un *plan de control de exposición a la tuberculosis*. En las instalaciones de atención de la salud se deben establecer áreas de aislamiento de TB con controles de ventilación específicos. A quienes laboren en áreas de alto riesgo se les debe exigir que usen un respirador para protegerse. Los trabajadores de atención de la salud considerados en riesgo deben ser examinados a fin de saber si tienen TB.

Envío

Los laboratorios clínicos envían de rutina material regulado. El Departamento de transporte de EUA y la Asociación internacional de transporte aéreo tienen requisitos específicos para llevar materiales regulados. Hay dos tipos de clasificaciones de muestras. Las muestras de las que se conoce o sospecha están infectadas se etiquetan como *sustancias infecciosas* si el patógeno se puede transmitir fácilmente a humanos o animales y no hay tratamiento eficaz disponible. Las *muestras de diagnóstico* son las que se prueban como detección de rutina o para diagnóstico inicial. Cada tipo de muestra tiene reglas y requisitos de empaque. Las normas del Departamento de transporte se encuentran en el *Code of Federal Regulations 49*: La Asociación internacional de transporte aéreo publica su propio manual, *Dangerous Goods Regulations*.

SEGURIDAD QUÍMICA

Comunicación de riesgos

En el número de agosto de 1987 del *Federal Register*, la OSHA publicó el nuevo *Hazard Communication Standard* (Derecho a conocer la ley). El Derecho a conocer la ley se elaboró para empleados que pudieran estar expuestos a sustancias químicas peligrosas. Los empleados deben estar informados de los riesgos para la salud relacionados con esas sustancias. La intención de la ley es asegurar que los riesgos para la salud se evalúan para las sustancias químicas que se producen y que esta información se transmite a los empleados.

Para cumplir con la reglamentación, los laboratorios clínicos deben:

- Planear y poner en práctica un programa de comunicación de riesgos.
- Obtener *hojas de datos de seguridad del material* (HDSM) para cada compuesto peligroso presente en el lugar de trabajo, y procurar que los trabajadores tengan fácil acceso a las HDSM.
- Educar a los empleados cada año acerca de cómo interpretar las etiquetas químicas, HDSM y riesgos para la salud de las sustancias químicas, y cómo trabajar de manera segura con ellas.
- Mantener las etiquetas de advertencia de riesgo en los recipientes recibidos o llenados en el lugar.

Hoja de datos de seguridad del material (HDSM)

La HDSM es una fuente principal de información de seguridad para los empleados que pudieran usar *materiales peligrosos* en sus labores. Los patrones son responsables de obtener del fabricante de sustancias químicas o elaborar una HDSM para cada agente peligroso empleado en el lugar de trabajo. No es obligatorio un formato estándar, pero se deben tratar todos los requisitos listados en la ley. Un resumen de los requisitos de información de la HDSM incluye lo siguiente:

- Nombre e identificación del producto.
- Ingredientes peligrosos.
- Límite de exposición permisible (LEP).
- Datos físicos y químicos.
- Datos de riesgo para la salud y potencial carcinógeno.
- Rutas principales de entrada.
- Riesgos de incendio y explosión.
- Datos de reactividad.
- Procedimientos de derrame y exposición.
- Recomendaciones de equipo de protección personal.
- Manejo.
- Procedimientos de emergencia y primeros auxilios.
- Precauciones de almacenamiento y transporte.
- Nombre del fabricante de la sustancia química, dirección y número de teléfono.
- Sección de información especial.

La HDSM debe proporcionar la identidad específica del compuesto, junto con todos los nombres comunes. Se deben completar todas las secciones de información, e indicar la fecha en que se imprimió. Las copias de la

HDSM deben estar fácilmente accesibles a los empleados durante todos los turnos.

Estándar de laboratorio

La Exposición ocupacional a sustancias químicas peligrosas en laboratorios, conocida también como *estándar de laboratorio*, fue promulgada en mayo de 1990 para proveer a los laboratorios normas específicas para el manejo de sustancias peligrosas. Este estándar de la OSHA requiere que cada laboratorio que emplea materiales peligrosos tenga un *plan de higiene química* escrito. Este plan provee procedimientos y prácticas de trabajo para regular y reducir la exposición del personal de laboratorio a sustancias químicas peligrosas. Las *sustancias químicas peligrosas* son aquellas que poseen un riesgo físico o sanitario por exposición aguda o crónica. Los procedimientos que describen cómo proteger a los empleados contra *teratógenos* (sustancias que afectan el desarrollo celular en el feto o el embrión), *carcinógenos* y otras sustancias químicas tóxicas se deben describir en el plan. Es necesario capacitar a los empleados en cuanto al uso de sustancias químicas peligrosas para abarcar la identificación de signos y síntomas de exposición, localización de HDSM, un plan de higiene química y cómo protegerse ellos mismos contra sustancias químicas peligrosas. Debe ser designado un funcionario de higiene química para cualquier laboratorio que emplee sustancias químicas peligrosas. El protocolo debe ser revisado anualmente y ser actualizado cuando se modifican las regulaciones o cambia el inventario químico. Recuerde que lavarse bien las manos es un componente esencial de la higiene química preventiva.

Efectos tóxicos de sustancias peligrosas

Las sustancias tóxicas tienen la capacidad de causar efectos nocivos (locales o sistémicos) mediante la acción o interferencia química directas con el funcionamiento de los sistemas del organismo. Puede causar efectos agudos o crónicos relacionados con la duración de la exposición (es decir, corto plazo o contacto simple contra largo plazo o prolongado, contacto repetido). Casi cualquier sustancia, incluso la más inocua, puede dañar pulmones, piel, ojos o membranas mucosas del trabajador después de la exposición a largo o corto plazo, y puede ser tóxica en exceso. Además, algunas sustancias químicas son tóxicas a concentraciones muy bajas. La exposición a agentes tóxicos puede ser por contacto directo (absorción), inhalación, ingestión, o inoculación o inyección.

En el laboratorio de química clínica, el personal debe estar consciente en particular de los vapores tóxicos de disolventes químicos, como acetona, cloroformo, metanol o tetracloruro de carbono, que no dan señales explícitas de irritación sensorial como el bromo, amoníaco y formaldehído. El muestreo de aire o el monitoreo de rutina podrían ser necesarios para cuantificar concentraciones peligrosas. El mercurio es otra fuente de vapores venenosos que suele pasar desapercibida. Es altamente volátil y tóxico, y la piel y las vías respiratorias lo absorben de manera rápida. Las cajas de accesorios para derrames de mercurio deben estar disponibles en áreas donde se emplean termómetros de mercurio. La mayor parte de los laboratorios están retiran-

do de manera paulatina el uso de mercurio y compuestos que lo contienen. Los laboratorios deben tener una política y un método para eliminación legal del mercurio. Los controles de ingeniería del laboratorio, y de procedimiento, y equipo de protección personal deben ser adecuados para proteger a los empleados de estas sustancias.

Almacenamiento y manejo de sustancias químicas

Para evitar accidentes al manejar sustancias químicas, es importante mostrar respeto a éstas y tener un conocimiento completo de sus propiedades. Esto es importante en particular al transportar, transferir o usar sustancias que, cuando entran en contacto con otras, podrían ocasionar la formación de sustancias que son tóxicas, inflamables o explosivas. Por ejemplo, el ácido acético es incompatible con otros ácidos como el crómico y el nítrico; el tetracloruro de carbono es incompatible con el sodio; y los líquidos inflamables son incompatibles con el peróxido de hidrógeno y el ácido nítrico.

Los acuerdos para el almacenamiento de sustancias químicas dependen de las cantidades necesarias y su naturaleza o tipo. El almacenamiento adecuado es esencial para evitar y controlar incendios y accidentes de laboratorio. Desde un punto de vista ideal, el cuarto de almacenaje debe estar organizado de modo que cada clase de sustancia esté aislada en un área que no sea utilizada para el trabajo de rutina. Se debe mantener un inventario actualizado que indique la ubicación de sustancias, cantidades mínimas y máximas requeridas, vida de anaquel, etcétera. Ciertas sustancias se deterioran con el tiempo y se vuelven peligrosas (p. ej., el éter forma peróxidos explosivos). El almacenaje no se debe basar sólo en el orden alfabético porque existe la posibilidad de almacenar juntas sustancias químicas incompatibles que podrían reaccionar. Éstas se deben separar para almacenaje como se ilustra en el cuadro 2-2.

Sustancias químicas inflamables y combustibles

Los líquidos inflamables y combustibles, que se emplean en numerosos procedimientos de rutina, están entre los

CUADRO 2-2. REQUISITOS DE ALMACENAJE

SUSTANCIA	ALMACENADOS POR SEPARADO
Líquidos inflamables	Sólidos inflamables
Ácidos minerales	Ácidos orgánicos
Cáusticos	Oxidantes
Ácido perclórico	Sustancias reactivas con agua
Sustancias reactivas con aire	Otras
Sustancias reactivas con calor que requieren refrigeración	
Sustancias inestables (explosivos sensibles a cambios bruscos)	

Consulte el apéndice F, *Ejemplos de químicos incompatibles*.

más peligrosos en el laboratorio de química clínica como resultado de la posibilidad de incendio o explosión. Se clasifican de acuerdo con el punto de ignición, que es la temperatura a la cual que se produce suficiente vapor para formar una mezcla combustible con el aire. Un líquido inflamable tiene un punto de ignición abajo de 37.8°C, y los líquidos combustibles, por definición, tienen un punto de ignición en o arriba de 37.8°C. Algunos disolventes inflamables o combustibles de uso común son acetona, benceno, etanol, heptano, isopropanol, metanol, tolueno y xileno. Es importante recordar que las sustancias químicas inflamables incluyen también ciertos gases, como el hidrógeno, y sólidos, como la parafina.

Sustancias químicas corrosivas

Las *sustancias químicas corrosivas* son dañinas para la piel u ojos por contacto directo o para el tejido de los tractos respiratorio y gastrointestinal si se inhalan o ingieren. Los ejemplos representativos incluyen ácidos (acético, sulfúrico, nítrico y clorhídrico) y bases (hidróxido de amonio, hidróxido de potasio e hidróxido de sodio).

Productos químicos reactivos

Los *productos químicos reactivos* son sustancias que, en ciertas condiciones, pueden explotar o encender de forma espontánea, o emiten calor o gases inflamables o explosivos. Algunos ácidos o bases fuertes reaccionan con el agua para generar calor (reacciones exotérmicas). El hidrógeno se libera si se mezclan metales alcalinos (sodio o potasio) con agua o ácidos, y también podría ocurrir combustión espontánea. La mezcla de agentes oxidantes, como los peróxidos, y agentes reductores, como el hidrógeno, generan calor y pueden ser explosivos.

Sustancias químicas carcinógenas

Los *carcinógenos* son sustancias que han sido determinadas como agentes causantes de cáncer. La OSHA ha publicado listas de carcinógenos confirmados y bajo sospecha, y las normas detalladas para su manejo. La bencidina es un ejemplo común de un carcinógeno conocido. Si es posible, se debe usar una sustancia química sustituta o un procedimiento distinto para evitar la exposición a agentes carcinógenos. Para requisitos de seguridad normativos (OSHA) e institucionales, el laboratorio debe mantener un inventario preciso de carcinógenos.

Derrames de sustancias químicas

La atención estricta a una buena técnica de laboratorio puede ayudar a evitar derrames de productos químicos. Sin embargo, es necesario establecer procedimientos de emergencia para manejar cualquier accidente. Si ocurre un derrame, el primer paso debe ser ayudar al personal o evacuarlo, luego puede empezar el confinamiento y la limpieza. Hay varios equipos comerciales disponibles para derrames, con los cuales se neutraliza o absorbe las soluciones químicas derramadas (fig. 2-2). Sin embargo, ningún equipo único es adecuado para todos los tipos de derrames. Los procedimientos de emergencia para derrames deben incluir también un sistema de información.



FIGURA 2-2. Equipo para limpieza de derrames.

SEGURIDAD EN RELACIÓN CON LA RADIACIÓN

Protección ambiental

Una política de radiación debe incluir protección ambiental y para el personal. Todas las áreas en las que se emplean y almacenan *materiales radiactivos* deben estar provistas con signos de precaución, y el tránsito en estas áreas debe estar restringido sólo a personal esencial. Es necesario remarcar el monitoreo regular y sistemático; y la descontaminación de equipo de laboratorio, material de vidrio y áreas de trabajo se debe programar como parte de los procedimientos de rutina. Se deben mantener registros en cuanto a la cantidad de material radiactivo disponible, así como la cantidad que se elimina. Se requiere una licencia de la *Nuclear Regulatory Commission* (NRC) si la cantidad total de material radiactivo excede cierto nivel. El funcionario de seguridad del laboratorio debe consultar con la autoridad de seguridad institucional acerca de estos requisitos.

Protección del personal

Es esencial que sólo el personal capacitado de forma adecuada trabaje con radioisótopos, y que los usuarios sean monitoreados para asegurar que no sea excedida la dosis máxima permisible de radiación. Los monitores de radiación deben ser evaluados de manera periódica para detectar el grado de exposición para el empleo de laboratorio. Los registros se deben mantener el tiempo que dure el empleo más treinta años.

Radiación no ionizante

Las formas no ionizantes de radiación también son de interés en el laboratorio clínico. El equipo suele emitir diversas

CUADRO 2-3. EJEMPLOS DE RADIACIÓN NO IONIZANTE EN LABORATORIOS CLÍNICOS

TIPO	LONGITUD DE ONDA APROXIMADA	EJEMPLO DE EQUIPO FUENTE	MEDIDAS PROTECTIVAS
Baja frecuencia	1 cm +	Bobina de RF en el espectrómetro de masas ICP	Protección de diseño especial y advertencia para quienes usen marcapasos
Microondas	3 m–3 mm	Microonda de haz energético empleada para acelerar la tinción tisular en procesos de preparación histológicos	Protección de diseño especial
Infrarrojo	750 nm–0.3 cm	Lámparas de calor, rayos láser	Contención y etiquetas de advertencia apropiadas
Espectro visible	400–750 nm	Iluminación general y resplandor	Filtros, difusores y superficies no reflectoras
Ultravioleta	4–400 nm	Lámparas germicidas empleadas en gabinetes de seguridad biológica	Protección para ojos y piel; etiquetas que advierten la existencia de luz UV

longitudes de onda de radiación electromagnética que deben evitarse mediante blindaje o el uso de equipo de protección personal (cuadro 2-3). Estas energías tienen efectos biológicos diversos que dependen de la longitud de onda, intensidad de la energía y duración de exposición. Los laboratoristas deben estar conscientes de los riesgos que presenta el equipo a fin de protegerse a ellos mismos y al personal auxiliar.

SEGURIDAD CONTRA INCENDIOS

Química del fuego

El fuego es en sí una reacción química que conlleva la oxidación rápida de un material combustible o carburante, con la consiguiente liberación de calor y luz. En el laboratorio de química clínica, todos los elementos esenciales para que comience el fuego están presentes, combustible, calor o fuente de ignición y oxígeno (aire). Sin embargo, la investigación reciente hace pensar que un cuarto factor está presente. Este factor ha sido clasificado como una reacción en cadena en la que la combustión continúa e incluso se acelera. Es causada por la rotura y recombinación de moléculas del material combustible con el oxígeno de la atmósfera.

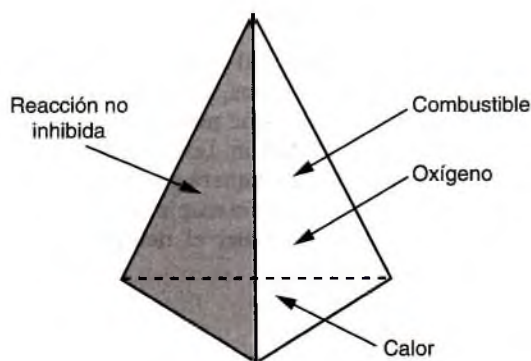


FIGURA 2-3. Tetraedro del fuego.

El triángulo del fuego ha sido modificado a una pirámide tridimensional conocida como *tetraedro del fuego* (fig. 2-3). Esta modificación no elimina los procedimientos establecidos al tratar con un incendio, pero proporciona medios adicionales mediante los cuales se podrían evitar o extinguir los incendios. Un incendio se extinguirá si se elimina cualquiera de los tres elementos básicos (calor, aire o combustible).

Clasificación de incendios

Los incendios han sido divididos en cuatro clases con base en la naturaleza del material combustible y los requisitos para su extinción:

- Clase A: materiales sólidos combustibles ordinarios, como papel, madera, plástico y tela.
- Clase B: líquidos y gases inflamables y productos del petróleo combustibles.
- Clase C: equipo eléctrico energizado.
- Clase D: metales combustibles o reactivos, como el magnesio, sodio y potasio.

Tipos y aplicaciones de extintores de fuego

Así como los incendios han sido divididos en clases, los extintores se dividen en clases que corresponden al tipo de incendio por extinguir. Asegúrese de elegir el tipo correcto, usar el tipo equivocado de extintor podría ser peligroso. Por ejemplo, no emplee agua en líquidos incendiados o equipo eléctrico.

Los extintores de agua a presión, así como la espuma y los tipos de sustancias químicas secas multipropósito, se emplean para incendios clase A. Los extintores de productos químicos en polvo multipropósito y de dióxido de carbono se emplean para incendios clases B y C. Los extintores de hidrocarburos halogenados se recomiendan en particular para uso con equipo de cómputo. Los incendios clase D presentan problemas especiales, y la extinción se deja a bomberos capacitados que emplean productos químicos especiales.


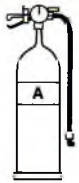










CLASE DE INCENDIO	TIPO DE EXTINTOR	OPERACIÓN
 Incendios de clase A <i>Emplee estos tipos de extintores</i> → Combustibles ordinarios: madera, papel, ropa, etc.	  Agua presurizada Producto químico en polvo	Q UITE EL SEGURO A PUNTE LA BOQUILLA A PRIETE EL GATILLO P ASE RÁPIDAMENTE LA BOQUILLA
 Incendios de clase B <i>Use estos tipos de extintores</i> → Líquido inflamable Grasa Gasolina Pinturas Aceites, etc.	  Productos químicos secos Dióxido de carbono	
 Incendios de clase C <i>Utilice estos tipos de extintores</i> → Equipo eléctrico Motores Interruptores	   Dióxido de carbono Halón Producto químico en polvo	
 Incendios de clase D <i>Use este tipo de agente</i> → Metales inflamables Magnesio	Metal X 	

FIGURA 2-4. Uso adecuado de extintores de incendios. (Adaptado del Departamento de seguridad clínica y de laboratorio, Centro de ciencias de la salud de la Universidad de Texas en Houston.)

en polvo (fig. 2-4). El personal debe conocer la ubicación y tipo de extintor portátil cerca de su área de trabajo, y cómo usar un extintor antes de que ocurra un incendio. En caso de un incendio, evacue primero a todo el personal, pacientes y visitantes que están en peligro inmediato, y luego active la alarma de incendio, dé aviso e intente extinguirlo, si es posible. El personal debe trabajar como un equipo para llevar a cabo los procedimientos de emergencia. Los simulacros de incendio se deben realizar de manera regular y con la documentación apropiada.

CONTROL DE OTROS RIESGOS

Riesgos eléctricos

La mayor parte de los individuos están conscientes de los peligros potenciales relacionados con el uso de aparatos eléctricos y equipo. Los riesgos de la energía eléctrica pueden ser directos y como resultado la muerte, choque o quemaduras. Los riesgos indirectos producen fuego o explosión. Por tanto, hay muchos procedimientos de precaución que deben seguirse al operar o trabajar en torno a equipo eléctrico:

- Use sólo equipo a prueba de explosión en atmósferas peligrosas.
- Sea cuidadoso en particular al operar equipo de alta tensión, como aparatos de electroforesis.

- Use sólo equipo aterrizado adecuadamente (enchufe con tres patas).
- Compruebe que no se encuentren cables eléctricos raídos.
- Informe de inmediato de cualquier mal funcionamiento o equipo que produzca un zumbido a fin de repararlo.
- No trabaje con equipo eléctrico energizado.
- Nunca opere equipo eléctrico con las manos mojadas.
- Conozca la ubicación exacta del panel de control eléctrico para la electricidad de su área de trabajo.
- Emplee sólo cables de extensión aprobados, y no sobrecargue los circuitos. (Algunas regulaciones locales prohíben el uso de algún cable de extensión.)
- Pida que se comprueben las conexiones a tierra y que se dé otro mantenimiento preventivo periódico en el equipo.

Riesgos con gases comprimidos

Los gases comprimidos, que sirven para muchas funciones en el laboratorio, presentan una combinación única de riesgos en el laboratorio clínico: peligro de incendio, explosión, asfixia o lesiones mecánicas. Hay varios requisitos generales para el manejo seguro de gases comprimidos:

- Conocer el gas que utilizará.
- Almacenar los tanques en posición vertical.
- Mantener seguros los cilindros todo del tiempo.
- Nunca almacene líquidos inflamables y gases comprimidos en la misma área.

- Emplee el regulador apropiado para el tipo de gas en uso.
- No intente controlar o desconectar el flujo de gas con el regulador de alivio de presión.
- Mantenga las tapas de protección removibles en su lugar hasta que el cilindro esté en uso.
- Asegúrese de que los tanques de acetileno están entubados de manera apropiada (el gas es incompatible con tubería de cobre).
- No fuerce una válvula de cilindro “congelada” o pegada.
- Use una carretilla para transportar tanques grandes.
- Compruebe siempre los tanques al recibirlos y después de manera periódica en busca de fugas.
- Asegúrese de que el cilindro está etiquetado de manera apropiada para identificar el contenido.
- Los tanques vacíos se deben marcar con la leyenda “vacío”.

Riesgos con materiales criogénicos

El nitrógeno líquido es probable que sea uno de los fluidos criogénicos que se emplean con más frecuencia (gases licuados) en el laboratorio. Sin embargo, hay varios riesgos relacionados con el uso de cualquier *material criogénico*: fuego o explosión, asfixia, acumulación de presión, deterioro de materiales y daño tisular similar al de las quemaduras por calor.

Para trabajo criogénico sólo se deben usar recipientes contruidos con materiales diseñados para soportar temperaturas ultrabajas. Además de usar protección para los ojos y la cara, se recomienda también para las manos a fin de protegerse del riesgo de tocar superficies superenfriadas. Los guantes, de material impermeable, deben quedar flojos de modo que se puedan quitar con rapidez si se derrama líquido sobre ellos o en su interior. Para reducir la ebullición o espuma violentas y las salpicaduras, las muestras a congelar se deben insertar siempre en el refrigerante de manera muy lenta. Los líquidos criogénicos se deben almacenar en recipientes bien aislados, pero sin cierre hermético, que reducen la pérdida de líquido debido a la evaporación por ebullición, y que evitan el taponamiento y la acumulación de presión.

Riesgos mecánicos

Además de los riesgos físicos como el fuego y la descarga eléctrica, el personal del laboratorio debe estar consciente de los *riesgos mecánicos* de equipo como centrifugadoras, autoclaves y homogenizadores.

Las centrifugadoras, por ejemplo, deben estar equilibradas para distribuir la carga de manera uniforme. El operador nunca debe abrir la tapa hasta que el rotor se haya detenido por completo. Las cerraduras de seguridad del equipo deben estar siempre en buenas condiciones.

El material de vidrio es por sí mismo otro peligro potencial. Agentes, como las cuentas de vidrio, se deben añadir para ayudar a eliminar la ebullición violenta cuando se calientan los líquidos. Se deben usar tenazas o guantes para retirar material de vidrio caliente de hornos, parrillas o baños de agua. Las pipetas de vidrio se deben manejar con cuidado extra, al igual que instrumentos ahusados

horadores de corcho, agujas, hojas de bisturí y otras herramientas. Debe estar vigente un programa de inspección de material de vidrio para detectar signos de desgaste o fatiga que pudieran contribuir a rotura o lesión. Los objetos *afilados* infecciosos se deben eliminar en recipientes aprobados por la OSHA a fin de reducir el riesgo de lesión e infección.

Riesgos ergonómicos

Aunque la mecanización y automatización incrementadas han hecho obsoletas muchas tareas manuales tediosas y repetitivas, los procesos de laboratorio a menudo requieren el manejo repetido de instrumentos, recipientes y equipo. Estas acciones físicas pueden, con el tiempo, contribuir a trastornos de distensión repetitivos como tenosinovitis, bursitis y quistes subcondriales. Los principales factores contributivos relacionados con trastornos de distensión repetitivos son posición o postura, fuerza aplicada y frecuencia de repetición. Recuerde considerar el diseño de herramientas manuales (como pipetas ergonómicas), observancia de la técnica ergonómica correcta y colocación del equipo al conducir cualquier tarea repetitiva. Los síntomas crónicos de dolor, entumecimiento u hormigueo en las extremidades podrían indicar el inicio de trastornos de distensión repetitivos. Otros riesgos incluyen lesión musculoesquelética aguda. Recuerde levantar objetos pesados de manera adecuada, mantener la carga cerca del cuerpo y usar los músculos de las piernas en vez de la espalda. Incremente poco a poco la fuerza al empujar o jalar, y evite dar golpes con las extremidades.

ELIMINACIÓN DE MATERIALES PELIGROSOS

El manejo y eliminación seguros de productos químicos y otros materiales requiere un conocimiento completo de sus propiedades y riesgos. Quienes generan desechos peligrosos tienen una responsabilidad moral y legal, según se define en las regulaciones locales, estatales y federales, para proteger tanto al individuo como al ambiente al eliminarlos. Hay cuatro técnicas básicas de eliminación de desechos: descargar al sistema de drenaje, incineración, enterrar en el área de desechos y reciclar.

Desechos químicos

En ciertos casos es permisible vaciar al drenaje sustancias hidrosolubles con copiosas cantidades de agua. Sin embargo, los ácidos o bases fuertes se deben neutralizar antes de eliminarlos. Los productos químicos apestosos nunca deben vaciarse al drenaje. Se deben tomar en cuenta la posible reacción de los productos químicos en el drenaje y la potencial toxicidad al decidir si un determinado producto químico se puede disolver o diluir, y luego vaciar al drenaje. Por ejemplo, la azida sódica, que se emplea como conservador, forma sales explosivas con los metales, como el cobre, en las tuberías. La mayor parte de las instituciones restringen el uso de la azida sódica debido a este riesgo.

Otros desechos líquidos, incluidos los disolventes inflamables, se deben recolectar en recipientes aprobados,

y segregar en clases compatibles. Si resulta práctico, los disolventes como el xileno y la acetona se podrían filtrar o volver a destilar para reutilizarlos. Si no es factible el reciclado, el personal capacitado debe llevar a cabo los planes de eliminación. El material inflamable también se puede quemar en incineradores diseñados con posquemadores y depuradores para eliminar productos tóxicos de combustión.

También, antes de la eliminación, las sustancias que son explosivas, como los carcinógenos y peróxidos, se deben transformar en formas menos peligrosas siempre que sea posible. Los desechos químicos sólidos que son inadecuados para la incineración se deben enterrar en un área de desechos. Esta práctica, sin embargo, ha creado un problema ambiental, y en la actualidad hay escasez de sitios seguros.

Desechos radiactivos

La manera de usar y eliminar isótopos está estrictamente regulada por la *Nuclear Regulatory Commission* (NRC), y depende del tipo de desecho (soluble o no soluble), su nivel de radiactividad, y la radiotoxicidad y vida media de los isótopos en cuestión. El funcionario de seguridad de radiación debe ser consultado siempre acerca de las políticas relacionadas con la eliminación de desechos radiactivos. Muchos laboratorios clínicos transfieren los materiales radiactivos a un receptor autorizado para que se encargue de eliminarlos.

Desechos biopeligrosos

El 2 de noviembre de 1988, el presidente Reagan convirtió en decreto la *Medical Waste Tracking Act* de 1988. Su propósito era *a)* encargar a la Agencia de protección ambiental la responsabilidad de establecer un programa para seguir la pista de los residuos clínicos desde la generación hasta la eliminación, *b)* definir el residuo clínico, *c)* establecer técnicas aceptables para el tratamiento y disposición y *d)* establecer un departamento con jurisdicción para hacer cumplir las nuevas leyes. Varios estados han puesto en práctica las directrices federales e incorporado requisitos adicionales. Algunas de las entidades que abarcan las reglas son cualquier instalación relacionada con la atención de la salud, incluso, pero no nada más, centros quirúrgicos ambulatorios; bancos y centros de extracción de sangre; clínicas, entre otras las médicas, dentales y veterinarias; laboratorios de investigación clínicos, de diagnóstico, patológicos o biomédicos; hospitales; instalaciones de atención de largo plazo; centros de emergencia menores; clínicas de salud ocupacional y laboratorios clínicos; y consultorios de médicos y dentistas.

Los *residuos clínicos* se definen como un *desecho especial de las instalaciones de atención de la salud* y además como desecho sólido que, si se maneja o trata de manera inapropiada, “podría transmitir enfermedades infecciosas” (para más información, consulte el sitio Web de JCAHO: www.jcaho.org). Incluyen desechos animales, sangre residual y productos sanguíneos, desechos microbiológicos y objetos

aflados. Los métodos aprobados para tratamiento y disposición de residuos clínicos son incineración, esterilización con vapor, entierro, desactivación térmica, desinfección química o encapsulación en una matriz sólida.

Quienes producen residuos clínicos deben poner en práctica los siguientes procedimientos:

- Los patrones de trabajadores de atención de la salud deben establecer y poner en práctica un programa de desechos infecciosos.
- Los desechos biomédicos se deben colocar en una bolsa marcada con el símbolo de biorriesgo, y colocarlos después en un recipiente a prueba de fugas que sea resistente a punciones y esté equipado con una tapa sólida bien ajustada. Todos los recipientes deben ser marcados con claridad con la palabra biorriesgo o su símbolo.
- Los instrumentos ahusados, como agujas, hojas y objetos de vidrio, deben ser colocados en recipientes especiales resistentes a la punción antes de colocarlos dentro de la bolsa y el recipiente.
- Las agujas no deben ser transportadas, volverse a tapar, doblar o romper a mano.
- Los residuos biomédicos deben ser eliminados por medio de uno de los procedimientos recomendados.
- El material potencialmente biopeligroso, como la sangre o productos sanguíneos y desechos de laboratorio contaminados, no se pueden desechar de modo directo. Los desechos combustibles contaminados se pueden incinerar. Los residuos no combustibles contaminados, como el material de vidrio, se deben meter a autoclave antes de eliminarlos. Se debe prestar atención especial a la eliminación de jeringas, agujas y vidrio roto que también pudieran infligir cortes o punciones accidentales. Se deben usar recipientes apropiados para desechar estos objetos ahusados.

DOCUMENTACIÓN E INVESTIGACIÓN DE ACCIDENTES

Cualquier accidente que conlleve lesiones personales, incluso menores, se debe reportar de inmediato a un supervisor. Bajo las normas de la OSHA, se pide a los patrones que mantengan registros de lesiones y enfermedades ocupacionales el tiempo que dure el empleo más treinta años. Los requisitos para mantener los registros incluyen un primer informe de lesión, un informe de investigación del accidente y un resumen anual que se registra en el historial de lesiones de la OSHA (forma 300).

El primer informe de lesión se emplea para notificar a la compañía aseguradora y al departamento de recursos humanos o de relaciones del empleado que ocurrió una lesión en el lugar de trabajo. Por lo general, el empleado y el supervisor completan el informe, que contiene información sobre el patrón y la persona lesionada, así como la hora y el lugar, causa y naturaleza de la lesión. Se firma y se pone fecha al informe; luego, se envía al gerente de riesgos de la institución o al representante de la aseguradora.

El informe de investigación debe incluir información acerca de la persona lesionada; una descripción de lo que sucedió; la causa del accidente (ambiental o personal);

factores contributivos; testigos; la naturaleza de la lesión, y acciones que se emprenderán para evitar una recurrencia. La persona que realiza la investigación debe firmar y fechar este informe.

Cada año se debe completar y enviar un registro y resumen de las lesiones y enfermedades ocupacionales al Departamento del Trabajo de Estados Unidos, Oficina de Estadísticas Laborales (registro de lesión OSHA No. 300). La forma estandarizada demanda información similar al primer informe de lesión y al informe de investigación del accidente. Se debe informar acerca de toda muerte ocupacional, enfermedad ocupacional no fatal, exposición biológica o química y lesión ocupacional no fatal que conlleve la pérdida de conciencia, restricción de trabajo o movimiento, transferencia a otro trabajo o tratamiento médico (otro que no sea primeros auxilios).

Debido a que es importante determinar por qué y cómo ocurrió un accidente, se debe llevar a cabo una investigación al respecto. La mayor parte de los accidentes se pueden atribuir a dos causas fundamentales: ambientales (condiciones inseguras) o personales (actos inseguros). Los factores ambientales incluyen salvaguardas inadecuadas, uso de equipo inapropiado o defectuoso, riesgos relacionados con la ubicación o mal mantenimiento. Los factores personales incluyen indumentaria de laboratorio inadecuada, falta de habilidades o conocimiento, condiciones específicas física o mentales, y actitud. La motivación positiva del empleado es importante en todos los aspectos de la promoción de la seguridad y prevención de accidentes.

Tiene una importancia particular que la autoridad apropiada sea notificada de inmediato si algún individuo sufre una punción de aguja en la recolección de sangre o una cortadura durante el procesamiento o manejo posterior de la muestra. Para un resumen de las recomendaciones para protección de trabajadores de laboratorio, refiérase a *Pro-*

tection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids and Tissue, norma aprobada M29-A2 (NCCLS).

RESUMEN

Las reglas de seguridad fundamentales del laboratorio clínico son desarrollar la previsión y percepción de accidentes, usar el sentido común y desarrollar y practicar lo siguiente:

1. *Buen comportamiento y hábitos personales.*
Usar la indumentaria y ropa de protección adecuadas.
Sujetarse el pelo largo.
No comer, beber o fumar en el área de trabajo.
Nunca pipetear con la boca.
Lavarse las manos con frecuencia.
2. *Buen mantenimiento.*
Mantener las áreas de trabajo libres de sustancias químicas, material de vidrio sucio, etcétera.
Almacenar de manera adecuada los productos químicos.
Etiquetar los reactivos y las disoluciones.
Colocar señales de advertencia.
3. *Buena técnica de laboratorio.*
No operar equipo nuevo o desconocido hasta haber recibido la instrucción y autorización.
Leer todas las etiquetas e instrucciones con detenimiento.
Usar el equipo de seguridad personal provisto.
Para el manejo seguro, uso y eliminación de productos químicos, aprenda sus propiedades y riesgos.
Aprenda los procedimientos de emergencia y familiarícese con la ubicación de salidas de incendios, extintores de fuego, mantas, etcétera.
Sea cuidadoso al transferir productos químicos de un recipiente a otro, y añada siempre el ácido al agua de manera lenta.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Cuál de las siguientes normas requiere que las HDSM sean accesibles a los empleados que tienen contacto con un compuesto peligroso?
 - a) Norma de Patógenos Llevados en la Sangre.
 - b) Norma de Comunicación de Riesgos.
 - c) Regulaciones de CCE.
 - d) Norma de Equipo de Protección Personal.
2. Los productos químicos se deben almacenar:
 - a) En orden alfabético para facilidad de acceso.
 - b) Dentro de un gabinete con ventilación apropiada.
 - c) Según sus propiedades químicas y clasificación.
 - d) Dentro de una campana de extracción, si se liberan vapores tóxicos al abrirlos.
3. El equipo de protección personal (EPP) adecuado en el laboratorio de química para pruebas de rutina incluye:
 - a) Respiradores con filtro HEPA.
 - b) Guantes con mangas ahuladas.
 - c) Lentes de seguridad para individuos que no usan lentes de contacto.
 - d) Bata de laboratorio impermeable, protección para los ojos y la cara y guantes desechables apropiados.
4. Un incendio causado por un líquido inflamable se debe extinguir mediante ¿qué tipo de extintor?
 - a) Halógeno.
 - b) Clase B.
 - c) Agua a presión.
 - d) Clase C.

5. De lo que se menciona a continuación, ¿cuál es el medio apropiado de eliminación para el tipo de desecho?
 - a) Verter el xileno al sistema de drenaje.
 - b) Desecho microbiológico mediante esterilización con vapor.
 - c) Mercurio mediante entierro.
 - d) Desechos radiactivos mediante incineración.
6. ¿Cuáles son los principales factores que contribuyen a lesiones repetitivas por distensión?
 - a) Falta de atención de parte del laboratorista.
 - b) Temperatura y vibración.
 - c) Posición o postura, fuerza aplicada y frecuencia de la repetición.
 - d) Fatiga, torpeza y falta de coordinación.
7. De lo siguiente, ¿cuáles son ejemplos de radiación no ionizante?
 - a) Rayos gamma y X.
 - b) Luz ultravioleta y microondas.
 - c) Radiación alfa y beta.
 - d) Radiación de neutrones.

REFERENCIAS

- Allocca JA, Levenson HE. *Electrical and Electronic Safety*. Reston, VA: Reston Publishing Company, 1985.
- American Chemical Society, Committee on Chemical Safety, Smih GW, ed. *Safety in Academic Chemistry Laboratories*. Washington, D.C.: American Chemical Society, 1985.
- Boyle MP. Hazardous chemical waste disposal management. *Clin Lab Sci* 1992;5:6.
- Brown JW. Tuberculosis alert: An old killer returns. *Med Lab Obs* 1993;25:5.
- Bryan RA. Recommendations for handling specimens from patients with confirmed or suspected Creutzfeldt-Jakob disease. *Lab Med* 1984;15:50.
- Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 3rd ed. Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office, 1993.
- Chervinski D. Environmental awareness: it's time to close the loop on waste reduction in the health care industry. *Adv Admin Lab* 1994;3:4.
- Committee on Hazardous Substances in the Laboratory, Assembly of Mathematical and Physical Sciences, National Research Council. *Prudent practices for handling hazardous chemicals in laboratories*. Washington, D.C.: National Academy Press, 1981.
- Furr AK. *Handbook of Laboratory Safety*, 5th ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2000.
- Gile TJ. An update on lab safety regulations. *Med Lab Obs* 1995;27:3.
- Gile TJ. Hazard-communication program for clinical laboratories. *Clin Lab* 1988;1:2.
- Hayes DD. Safety considerations in the physician office laboratory. *Lab Med* 1994;25:3.
- Hazard communication. *Federal Register* 59:27, Feb 4, 1994.
- Karcher RE. Is your chemical hygiene plan OSHA proof? *Med Lab Obs* 1993;25:7.
- Le Sueur CL. A three-pronged attack against AIDS infection in the lab. *Med Lab Obs* 1989;21:37.
- Miller SM. Clinical safety: dangers and risk control. *Clin Lab Sci* 1992;5:6.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Clinical laboratory safety (approved guideline)*. Villanova, PA: NCCLS, 1996.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Clinical laboratory waste management (approved guideline)*. Villanova, PA: NCCLS, 1993.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Protection of laboratory workers from instrument biohazards and infectious disease transmitted by blood, body fluids, and tissue (approved guideline, M29-A)*. Villanova, PA: NCCLS, 1997.
- National Institutes of Health, Radiation Safety Branch. *Radiation: The National Institutes of Health safety guide*. Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office, 1979.
- National Regulatory Committee, Committee on Hazardous Substances in the Laboratory. *Prudent practices for disposal of chemicals from laboratories*. Washington, D.C.: National Academy Press, 1983.
- National Regulatory Committee, Committee on Hazardous Substances in the Laboratory. *Prudent practices for the handling of hazardous chemicals in laboratories*. Washington, D.C.: National Academy Press, 1981.
- National Regulatory Committee, Committee on the Hazardous Biological Substances in the Laboratory. *Biosafety in the laboratory: prudent practices for the handling and disposal of infectious materials*. Washington, D.C.: National Academy Press, 1989.
- National Safety Council. *Fundamentals of Industrial Hygiene*, 5th ed. Chicago, IL: National Safety Council, 2002.
- Occupational exposure to bloodborne pathogens; final rule. *Federal Register* Dec 6, 1991;56:235.
- OSHA Subpart Z 29CFR 1910.1000-.1450
- Otto CH. Safety in health care: prevention of bloodborne diseases. *Clin Lab Sci* 1992;5:6.
- Pipitone DA. *Safe Storage of Laboratory Chemicals*. New York: Wiley, 1984.
- Rose SL. *Clinical Laboratory Safety*. Philadelphia: JB Lippincott, 1984.
- Rudmann SV, Jarus C, Ward KM, Arnold DM. Safety in the student laboratory: a national survey of university-based programs. *Lab Med* 1993;24:5.
- Stern A, Ries H, Flynn D, et al. Fire safety in the laboratory: Part I. *Lab Med* 1993;24:5.
- Stern A, Ries H, Flynn D, et al. Fire safety in the laboratory: Part II. *Lab Med* 1993;24:6.
- Wald PH, Stave GM. *Physical and Biological Hazards of the Workplace*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1994.

Control de calidad y estadística

George S. Cembrowski y
Roberta A. Martindale

CAPÍTULO

3

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- **CONCEPTOS ESTADÍSTICOS**
 - Estadística descriptiva
 - Estadísticas inferenciales
- **INTERVALOS DE REFERENCIA (ALCANCE NORMAL)**
 - Definición del intervalo de referencia
 - Recolección de datos para estudios de intervalo de referencia
 - Análisis estadístico de los datos del intervalo de referencia
- **EFICACIA DEL DIAGNÓSTICO**
 - Teoría del valor predictivo
- **MÉTODO DE SELECCIÓN Y EVALUACIÓN**
 - Método de selección
 - Método de evaluación
 - Medición de la imprecisión
 - Medición de la inexactitud
 - Experimento de comparación de métodos
- **ASEGURAMIENTO Y CONTROL DE LA CALIDAD**
 - Control de calidad
 - Operación general de un sistema de control de calidad estadístico
 - Respuesta de las reglas de control al error
 - Uso de datos del paciente para control de calidad
 - Control de calidad externo
 - Prueba en el lugar de la atención: la dificultad más reciente
 - Hacia la atención de calidad del paciente
- **PROBLEMAS DE PRÁCTICA**
- **PREGUNTAS DE REPASO**
- **REFERENCIAS**

OBJETIVOS

Al terminar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Definir los siguientes términos: aseguramiento de la calidad, control de calidad, control, estándar, exactitud, precisión, estadística descriptiva, estadística inferencial, intervalo de referencia, error aleatorio, error sistemático, dispersión, comprobación delta e intervalos de confianza.
- Calcular lo siguiente: sensibilidad, especificidad, eficiencia y desviación estándar.
- Evaluar datos de laboratorio por medio del sistema multirreglas para control de calidad.
- Graficar los datos y determinar errores constantes o proporcionales significativos, dados los datos de laboratorio.
- Describir las fases preanalítica y posanalítica del aseguramiento de la calidad.
- Determinar si hay una tendencia a un cambio, dados los datos de laboratorio.
- Analizar la función de los trabajadores del laboratorio clínico en las pruebas en el lugar de atención.
- Describir las características importantes y requisitos de quienes realizan el examen en el lugar de atención.
- Explicar los procesos relacionados con la selección y evaluación del método.
- Explicar los programas de examen de capacidad en el laboratorio clínico.

TÉRMINOS CLAVE

Aseguramiento de la calidad	Dispersión	Examen de capacidad	Regla de control
Cambio	Error aleatorio	Histograma	Tendencia
CLIA	Error sistemático	Intervalo de referencia	Teoría del valor predictivo
Comprobación Δ	Estadística descriptiva	Método de referencia	Variaciones analíticas
Control	Estadística inferencial	Precisión	
Control de calidad	Estándar	Prueba F	
	Exactitud	Prueba t	

CONCEPTOS ESTADÍSTICOS

La *estadística* se puede definir como la ciencia de reunir, analizar, interpretar y presentar datos. El volumen de datos que se genera en el laboratorio clínico es enorme y se deben resumir para que el trabajador de laboratorio y el médico clínico los aprovechen al máximo. La introducción de una nueva prueba ilustra el uso extenso de la estadística en el laboratorio. Primero, el trabajador de laboratorio debe introducir la prueba sólo después de revisar los datos que documentan la utilidad de la prueba para diagnosticar o monitorear un estado morbo. Si están disponibles varios métodos para llevar a cabo la prueba, el trabajador de laboratorio debe estudiar las evaluaciones publicadas y seleccionar la más práctica, así como el método con exactitud y precisión óptimas. Durante la evaluación interna del método, se debe evaluar la precisión y la exactitud. Si el rendimiento del método es aceptable, se deben acumular los datos del intervalo de referencia (alcance normal) para comprobar el intervalo recomendado del fabricante o establecer un intervalo de referencia específico del laboratorio. El médico clínico puede entonces interpretar de modo apropiado los datos del paciente. Una vez que este método está en uso, es necesario evaluar la exactitud y la precisión de manera continua para asegurar análisis confiables. En las secciones siguientes se revisan algunos de los conceptos que debe comprender el trabajador de laboratorio.

Estadística descriptiva

La *estadística descriptiva* se emplea para resumir las características importantes de un grupo de datos. Otro tipo de estadística, *estadística inferencial*, se emplea para comparar las características de dos o más grupos de datos. La estadística descriptiva en este capítulo se aplica a grupos de observaciones simples como también a grupos de observaciones por pares.

Estadísticas descriptivas de grupos de observaciones simples

Una de las formas más útiles de resumir grupos de datos es graficándolos. En la figura 3-1 se encuentran los resultados obtenidos del análisis repetido de una muestra de plasma de un paciente para el analito antitrombina III (ATT), que es un inhibidor potente de muchos factores de coagulación activados. Los resultados se grafican como un *histograma* de frecuencia, con el valor del resultado graficado en el eje x y la frecuencia (cantidad) de cada resultado en el eje y. El

histograma de frecuencia de las mediciones repetidas debe tener una forma de campana, con la mayor parte de los resultados ubicados cerca del centro de la distribución. Las mediciones repetidas de la misma muestra pueden ser diferentes debido a las variaciones en el instrumento; reactivo; técnica del operador, y aun las condiciones ambientales, incluida la temperatura. El trabajador de laboratorio normalmente clasifica estas variaciones como *analíticas*.

Para la mayor parte de los ensayos, la variación analítica es por lo general mucho menor que la variación entre las muestras obtenidas de diferentes individuos (*variaciones interindividuales*) o entre las muestras programadas obtenidas del mismo individuo (*variación intraindividual*). En el cuadro 3-1 se muestran los resultados de un estudio de intervalo de referencia para ATT. La sangre de sujetos en ayuno, saludables, ambulatorios se muestreó de manera estándar, con el plasma analizado para ATT. Los histogramas de frecuencia de los datos de ATT se muestran en la figura 3-2. La escala para la concentración se expresa en intervalos de 2 unidades para la figura 3-2A y 5 unidades para la figura 3-2B. Con un menor número de intervalos, la forma del histograma de frecuencia se vuelve más regular. Ambos histogramas tienen forma de campana y son casi simétricos. La forma de campana de esta distribución se aproxima a la de una distribución gaussiana y permite el análisis de los datos mediante pruebas estadísticas estándar (paramétricas). Los datos que se desvían en gran medida de la distribución gaussiana se deben analizar con estadísticas sin distribución, conocidas también como estadísticas

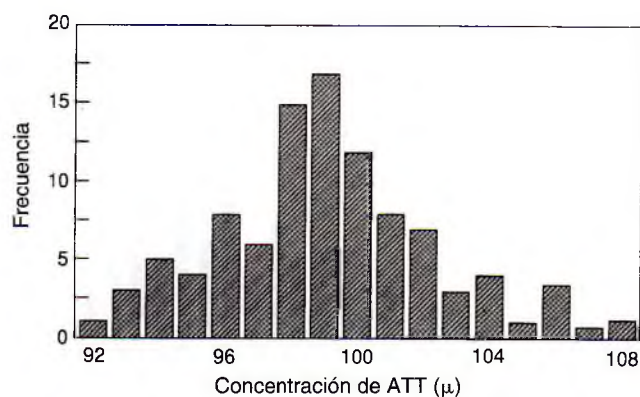


FIGURA 3-1. Histograma de frecuencias de los resultados de ATT obtenidos del análisis repetido de una sola muestra de paciente ($\bar{x} = 100$; $s = 3$ unidades).

CUADRO 3-1. VALORES DE ANTITROMBINA III DE UN INTERVALO DE REFERENCIA*

VALOR	FRECUENCIA	FRECUENCIA ACUMULADA	VALOR	FREQUENCY	FRECUENCIA ACUMULADA
88	1	1	111	4	58
92	1	2	112	4	62
93	2	4	113	4	66
95	1	5	114	7	73
96	1	6	115	7	80
97	3	9	116	7	87
98	1	10	117	4	91
99	1	11	118	7	98
100	3	14	120	4	102
101	4	18	121	1	103
102	4	22	122	4	107
103	3	25	124	1	108
104	2	27	125	2	110
105	4	31	126	3	113
106	4	35	127	1	114
107	5	40	129	1	115
108	3	43	133	2	117
109	2	45	138	1	118
110	9	54	140	1	119

*Media = 111.6; mediana = 112; moda = 110; s = 9.5 unidades.

no paramétricas. Las desviaciones pequeñas respecto de las distribuciones gaussianas no afectan de manera grave los resultados de las pruebas estadísticas paramétricas. El tipo más común de desviación respecto de la distribución gaussiana en las observaciones de laboratorio clínico es el sesgo, o la presencia de números de observaciones cada vez mayo-

res en uno de los extremos de la distribución. (Un ejemplo de una distribución sesgada se muestra en la fig. 3-9.)

Otro tipo de gráfica es el *histograma de frecuencias acumuladas*. En esta gráfica, el número de observaciones que son menores o iguales a una cierta observación se grafican contra el valor de esa observación. En la figura 3-3

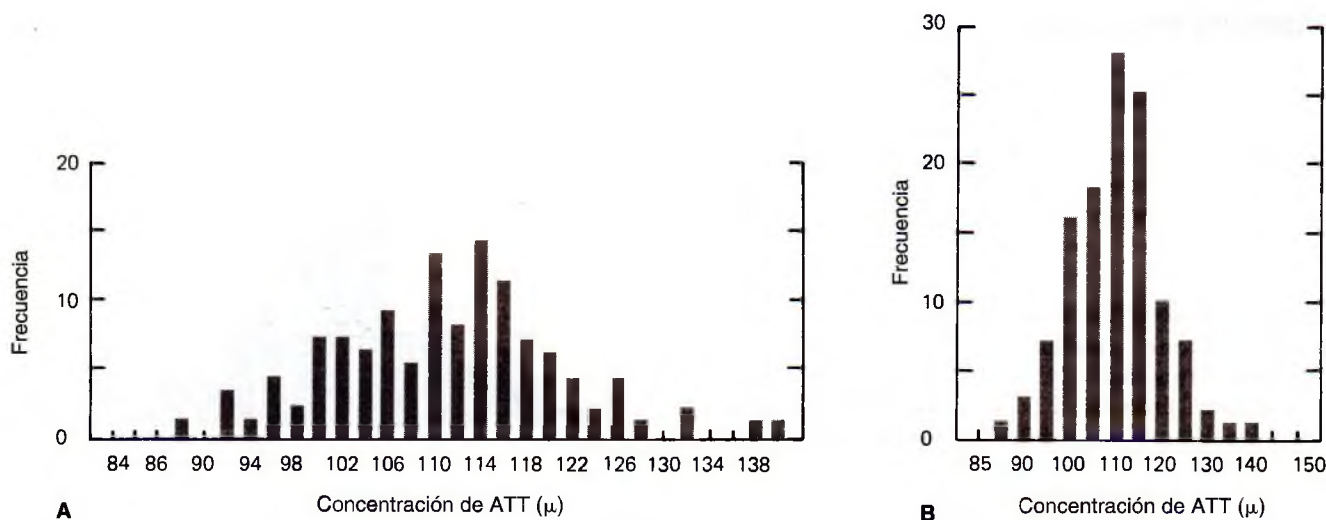


FIGURA 3-2. Histogramas de frecuencia de concentraciones de antitrombina III de un estudio de intervalo de referencia. Los datos en **A** han sido agrupados en intervalos de dos unidades. Los datos en **B** han sido agrupados por cinco unidades (\bar{x} = 111.6; s = 9.5 unidades).

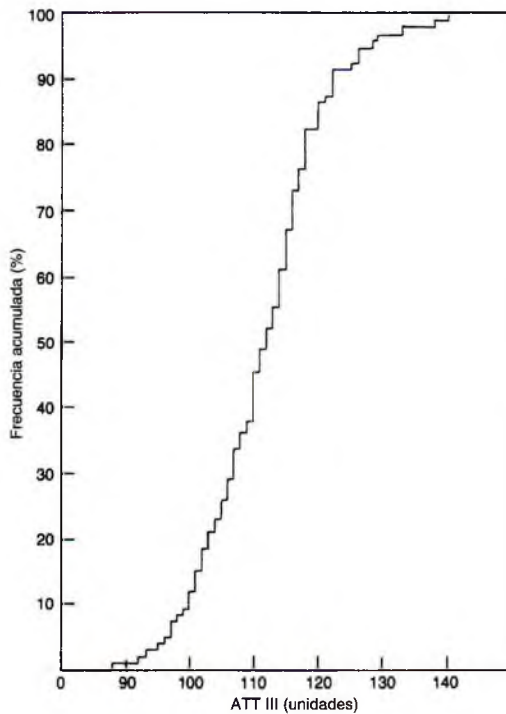


FIGURA 3-3. Histograma de frecuencia acumulada para antitrombina III.

se muestra un histograma de frecuencias acumuladas para los datos de ATT en el alcance normal. Las frecuencias acumuladas del cuadro 3-1 se dividieron entre el número total de observaciones (n) y luego se multiplicaron por 100 para obtener las frecuencias acumuladas *relativas* que varían de 0 a 100%.

Los grupos de observaciones gaussianas se pueden describir mediante estadísticas que resumen su ubicación y dispersión. La prueba estadística más común que resume las ubicaciones es la *media*, que se calcula resumiendo las observaciones y dividiendo entre el número de éstas. Si las observaciones son $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$, entonces la media, o \bar{x} , es

$$\begin{aligned}\bar{x} &= \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n} \\ &= \frac{\sum x_i}{n}\end{aligned}\quad (\text{Ec. 3-1})$$

Por lo general, se emplean otras tres medidas de ubicación: mediana, moda y percentil. La *mediana* es el valor de la observación que divide las observaciones en dos grupos, cada uno con números iguales de observaciones. Los valores de un grupo son más pequeños que la mediana, y los del otro son más grandes. Si las observaciones se disponen en orden creciente y hay un número impar de observaciones, la mediana es la observación media. Si hay un número par de observaciones, la mediana es el promedio de las dos observaciones intermedias.

La *moda* es la observación más frecuente. Para los datos de ATT, la media es 111.6, la mediana 112 y la moda 110

unidades. Para datos con casi una distribución gaussiana, la media, moda y mediana son casi iguales y, por tanto, basta con expresar la media. Con datos que son significativamente no gaussianos se debe expresar la moda, mediana y media. El *percentil*, la única estadística no paramétrica que se describe en este capítulo, es el valor de una observación debajo de la cual cae cierta proporción de las observaciones y que se puede obtener del histograma de frecuencias acumuladas relativas. Los percentiles suelen emplearse para definir intervalos usuales para resultados de pruebas de pacientes. El percentil 5, o P_5 , es el valor abajo del cual caen 5% de las observaciones. Para ATT, P_5 es 96. El percentil 97.5, o $P_{97.5}$, es el valor abajo del cual cae 97.5% de las observaciones. Para ATT, $P_{97.5}$ es 133. La mediana es, por supuesto, P_{50} . La *dispersión* o distribución de los datos en torno a su ubicación, se estima de la manera más simple mediante el intervalo, que es la diferencia entre las observaciones más grande y más pequeña. La estadística más común empleada para describir la dispersión de grupos de observaciones únicas es la *desviación estándar*, que por lo regular se representa mediante el símbolo s . La desviación estándar de las observaciones $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$ es

$$s = \sqrt{\frac{\sum (\bar{x} - x_i)^2}{n-1}} \quad (\text{Ec. 3-2})$$

En la figura 3-4 se muestra un histograma de frecuencias idealizado de valores de control de calidad de glucosa, que tiene una media de 120 y una desviación estándar de 5 mg/dl. Para estos datos, así como para otros datos con distribuciones gaussianas, alrededor de 68.2% de las observaciones estarán entre los límites de $\bar{x} - s$ y $\bar{x} + s$, 95.5% estarán entre $\bar{x} - 2s$ y $\bar{x} + 2s$, y 99.7% estarán entre $\bar{x} - 3s$ y $\bar{x} + 3s$. En suma, 99% de las observaciones estarán entre $\bar{x} - 2.58s$ y $\bar{x} + 2.58s$. Los límites se pueden construir para incluir una porción específica de la población. Por convención, los límites usuales para resultados de pruebas de pacientes (intervalo de referencia) incluyen el 95% interior de la población y corresponden a $\bar{x} - 1.96s$ y $\bar{x} + 1.96s$. Para ATT, el 95% o los límites $\pm 1.96s$ serían 92.5 – 130.6 o 92 – 131 unidades (U). El percentil se podría usar también para expresar dispersión. Los límites del percentil que encerrarían 95% de la población serían $P_{2.5} - P_{97.5}$, o 93 – 133 U.

En la ecuación 3-2, el cálculo de s requiere que se calcule primero la media. Hay otra ecuación (ec. 3-3) que no requiere el cálculo previo de la media:

$$s = \sqrt{\frac{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}{n(n-1)}} \quad (\text{Ec. 3-3})$$

Esta ecuación se emplea con frecuencia en los programas de computadora para reducir al mínimo el tiempo de cálculo. Otra forma de expresar s es en términos del coeficiente de variación (CV), que se obtiene al dividir s entre la media y multiplicar por 100 para expresarlo como un porcentaje:

$$CV(\%) = \frac{100s}{\bar{x}} \quad (\text{Ec. 3-4})$$

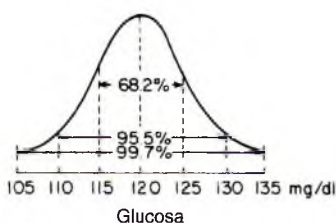


FIGURA 3-4. Histograma de frecuencia gaussiana idealizado de valores de control de glucosa con una media de 120 y desviación estándar de 5 mg/dl. Los porcentajes indican el área bajo la curva acotada por los límites ± 1 , ± 2 y ± 3 .

El CV, un número sin unidades, simplifica la comparación de las desviaciones estándar de resultados de pruebas expresados en unidades y concentraciones diferentes. El CV de los datos de control de la glucosa de la figura 3-4 es, por tanto, 100 veces 5 mg/dl divididos entre 120 mg/dl, o 4.2%. El CV se emplea de manera extensa para resumir datos de control de calidad. El CV de los analizadores muy precisos puede ser menor que 1%.

La *desviación absoluta media* (DAM), conocida también como *desviación promedio*, es otra medida de dispersión de grupos de observaciones simples y se calcula por medio de la ecuación siguiente:

$$DAM = \frac{\sum |x_i - \bar{x}|}{n} \quad (\text{Ec. 3-5})$$

La *desviación estándar de la media*, llamada también *error estándar de la media* (EEM), se calcula de la siguiente ecuación, en la que n representa el número de observaciones promediadas para calcular la media:

$$EEM = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (\text{Ec. 3-6})$$

La EEM se emplea para calcular los límites estadísticos para la media. La EEM se puede interpretar como el error promedio encontrado si se emplea la media muestral para estimar la media poblacional. Los límites de 95% para la media \bar{x} serían $\bar{x} \pm 1.96s/\sqrt{n}$. La EEM disminuye a medida que se incrementa el tamaño de la muestra, y es probable

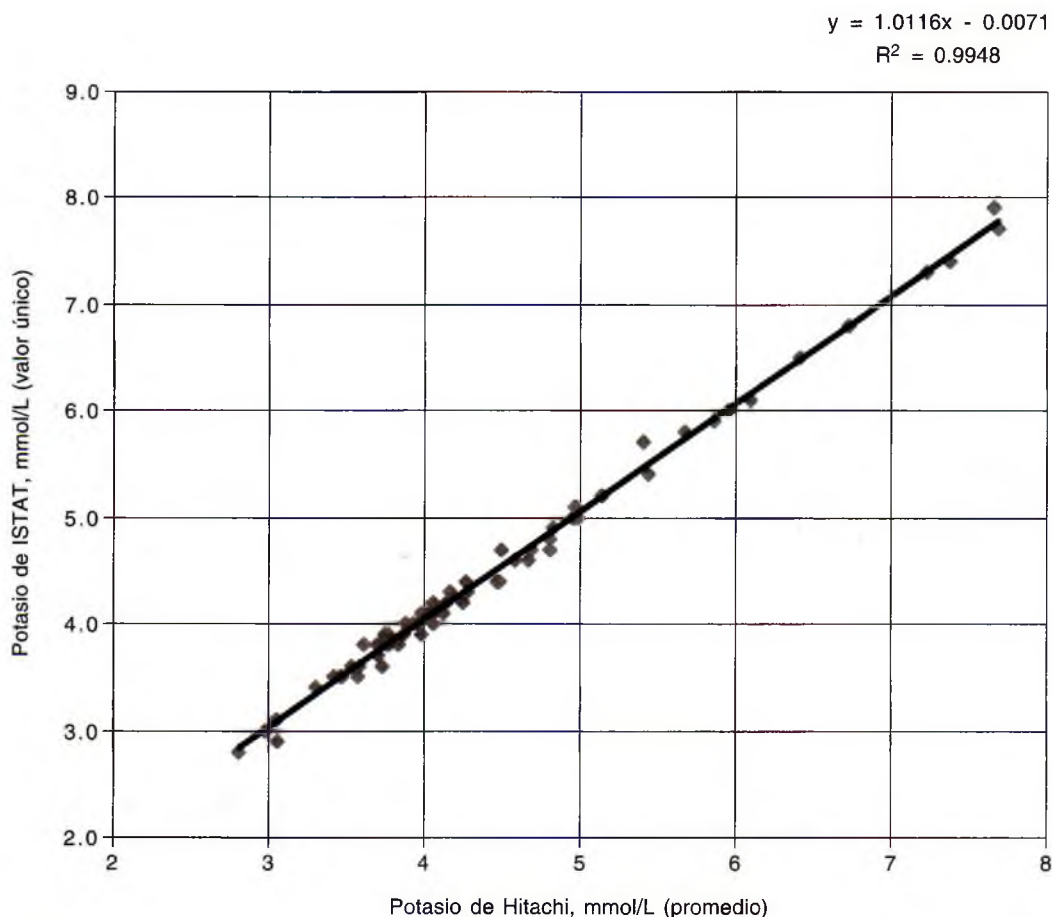


FIGURA 3-5A. Presentación gráfica de ISTAT contra Hitachi del laboratorio central de un experimento de comparación de métodos. El potasio medido mediante el analizador Hitachi 917 (muestra de plasma) se compara con el potasio medido por el analizador ISTAT (sangre completa). Las muestras de sangre completa se obtuvieron del departamento de urgencias, fueron transportadas al laboratorio de química donde las muestras de sangre completa se mezclaron con pares de alícuotas extraídas, una para la prueba con ISTAT y la otra separada en plasma para análisis con el analizador Hitachi.

que la media de una muestra grande esté más cerca de la media de una muestra pequeña.

Estadísticas descriptivas de grupos de observaciones en pares

Quizá el paso más informativo en la evaluación de un nuevo método analítico es el experimento de comparación de métodos, en el que las muestras de pacientes se miden con el método nuevo y el viejo, o comparativo.¹ Los datos obtenidos de esta comparación constan de dos mediciones para cada muestra de paciente. La graficación es la forma más simple de ver y resumir los datos de comparación del método por pares. Por convención, los valores obtenidos con el método viejo (comparativo) se grafican en el eje x y los valores obtenidos con el método nuevo (prueba) se grafican en el eje y . En la figura 3-5A se muestra una gráfica de las determinaciones de potasio llevadas a cabo con dos instrumentos diferentes: a) el Hitachi 917, en el que se analizan muestras de plasma de pacientes graficadas en el eje x ; y b) un analizador que se emplea en el lugar de la atención, el ISTAT, con el que se analizan muestras de sangre completa graficadas en el eje y . Hay una relación lineal entre los dos métodos en el intervalo total de valores de potasio. Hay otro método para ver estos pares de datos. En la figura 3-5B se muestra una gráfica en la cual las diferencias entre los valores del método comparativo y el de prueba se grafican contra el valor del método comparativo. Esta gráfica se conoce también como diagrama de Altman-Bland.³ Este método permite la comparación simple de las diferencias con límites máximos establecidos de

manera previa. Además, es posible observar con facilidad las diferencias dependientes de la concentración.

En la figura 3-5A, la concordancia entre los dos métodos se puede estimar a partir de la recta que mejor se ajusta a los puntos. Mientras que la estimación visual se puede usar para dibujar la recta, el uso de una técnica estadística, *análisis de regresión lineal*, dará como resultado una elección imparcial de recta, y proporcionará al trabajador de laboratorio medidas de ubicación y dispersión para la recta. La recta que pasa por los datos tendrá la ecuación de

$$y = mx + y_0 \quad (\text{Ec. 3-7})$$

La pendiente de la recta será m ; el valor de la ordenada al origen y (el valor de y en $x = 0$) será y_0 . Si hay concordancia perfecta entre los dos métodos, cada valor del método de prueba será idéntico al valor del método comparativo. La ecuación de esta relación perfecta sería $y = x$, con m igual a 1 y y_0 igual a 0. En la figura 3-6A se muestra esta concordancia perfecta; y en la figura 3-6B la situación en la que los valores del método de prueba son de manera congruente más altos que los del método comparativo. La mejor recta por los datos aún tiene una pendiente de 1 pero una ordenada al origen de 5.0. En la figura 3-6C se observa la situación en la que los valores del método de prueba son mayores que los valores del método comparativo para concentraciones distintas de cero; la pendiente es mayor que 1 (1.1), pero la ordenada al origen y es 0. Para concentraciones crecientes, hay diferencias mayores entre los valores de prueba y comparativo. En la figura 3-6D, la ordenada al origen y es aún 0 y la pendiente es

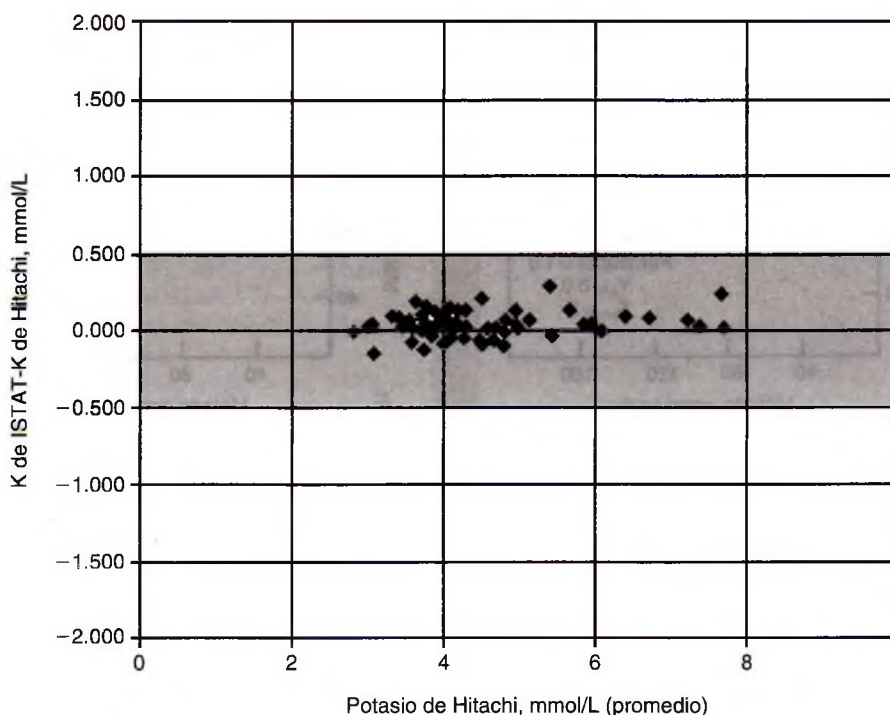


FIGURA 3-5B. Gráfica de diferencias Altman-Bland que muestra las diferencias entre el potasio de ISTAT y Hitachi 917 contra el potasio de Hitachi 917.

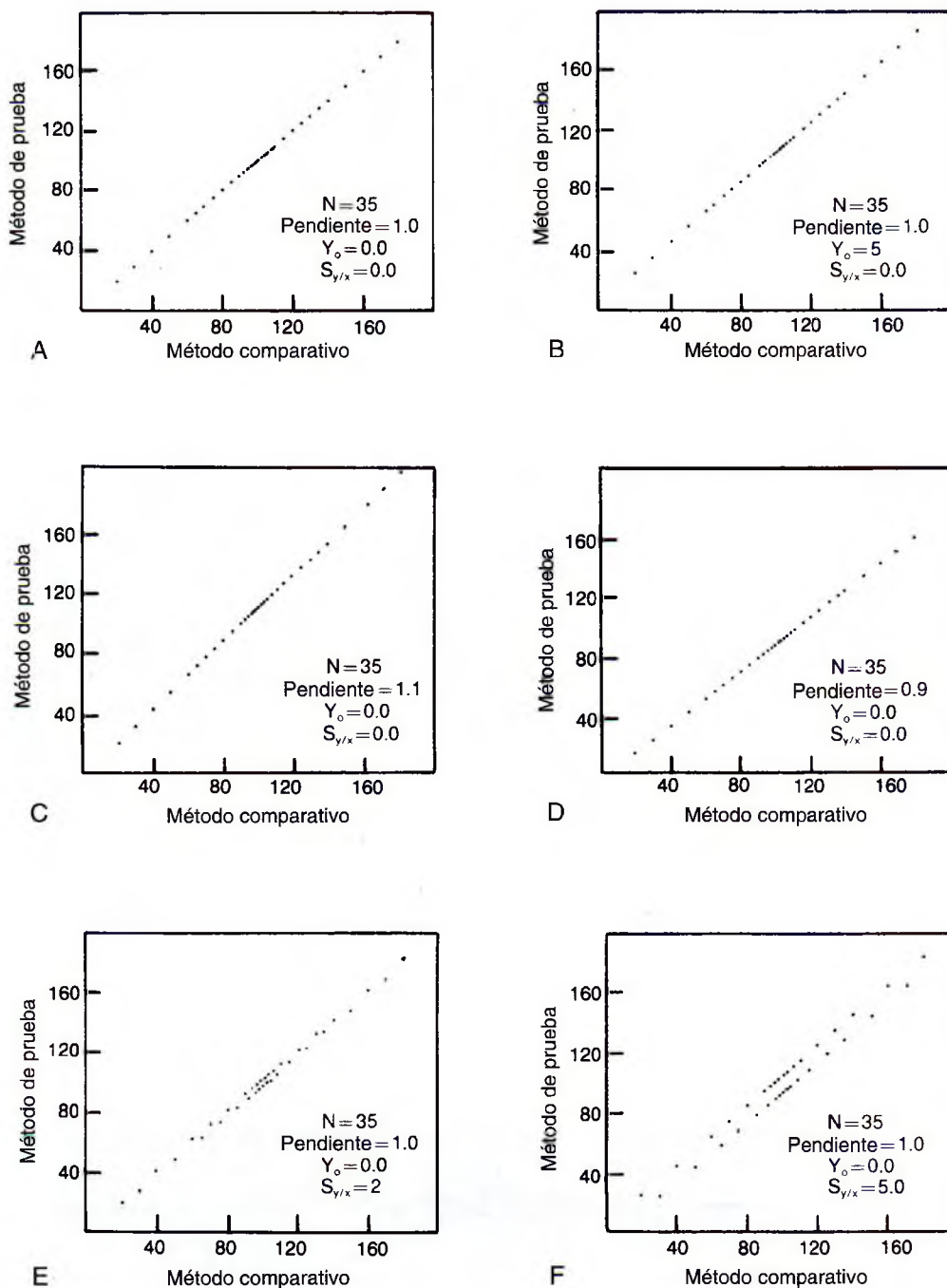


FIGURA 3-6. Experimentos de comparación de métodos con datos simulados. En (A) no se observa error; en (B) se observa error constante; en (C) y (D) se observa error proporcional; en (E) y (F) se observa error aleatorio.

menor que 1 (0.9), se observa que los valores del método de prueba son menores que los del método comparativo para los valores distintos de cero.

El análisis de regresión lineal suele proporcionar estimaciones no sesgadas de la pendiente y la ordenada al origen y . En la regresión lineal, la recta del mejor ajuste es la que reduce al mínimo la suma de los cuadrados de las distancias verticales de los puntos observados a partir de

la recta. Para los puntos $(x_1, y_1), (x_2, y_2), \dots, (x_i, y_i), \dots, (x_n, y_n)$, la ecuación de la pendiente de la recta de regresión es

$$m = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum(x_i - \bar{x})^2} = \frac{n\sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{n\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}$$

(Ec. 3-8)

La ordenada al origen, y , se calcula de m y las medias de x_i y y_i :

$$y_0 = \frac{\sum y_i}{n} - m \frac{\sum x_i}{n} = \bar{y} - m\bar{x} \quad (\text{Ec. 3-9})$$

En la regresión lineal se supone que no hay error de medición en el método comparativo, y que la dispersión de los puntos en torno a la recta de regresión se debe a errores aleatorios en el método de prueba. La dispersión de los puntos respecto a la recta de regresión se denomina *desviación estándar* de la recta de regresión y se abrevia $s_{y/x}$. Otro nombre para esta dispersión es el *error estándar* de la estimación. Se calcula por medio de la siguiente ecuación:

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - Y_i)^2}{n-2}} \quad (\text{Ec. 3-10})$$

Las gráficas de comparación de métodos de la figura 3-6E y F muestran la influencia de la mayor dispersión de puntos cerca de la recta de regresión. En la figura 3-6E y F, el valor de 2 o 5, respectivamente, se sumó de forma alternativa a, o se restó de, los valores de y en la figura 3-6A. La pendiente y la ordenada al origen no cambiaron. Sólo $s_{y/x}$ se incrementó a 2 o 5, respectivamente.

El *coeficiente de correlación* r es una medida de la fuerza de la relación entre las variables y y x . El coeficiente de correlación puede tener valores de -1 a $+1$, donde el signo indica la dirección de la relación entre las dos variables. Una r positiva indica que ambas variables aumentan o disminuyen, mientras que una r negativa indica que cuando se incrementa una variable, la otra disminuye. Un valor de r igual a cero no indica relación. Un valor de 1.0 indica una relación perfecta. La ecuación usual para el cálculo de r es

$$r = \frac{n\sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{\sqrt{[n\sum x_i^2 - (\sum x_i)^2][n\sum y_i^2 - (\sum y_i)^2]}} \quad (\text{Ec. 3-11})$$

Aunque muchos laboratoristas igualan valores positivos altos de r (0.95 o más alto) con concordancia excelente entre los métodos de prueba y comparativo, la mayor parte de las comparaciones de química clínica deben tener coeficientes de correlación mayores que 0.98. El valor absoluto del coeficiente de correlación se puede incrementar de manera significativa al ampliar el intervalo de muestras comparadas. No obstante, el coeficiente de correlación tiene un uso. Cuando r es menor que 0.99, el uso de la fórmula de regresión da como resultado una estimación de la pendiente que es demasiado pequeña y una ordenada al origen y que es demasiado grande. Waakers y asociados han recomendado que si r es menor que 0.99, se deben usar otras estadísticas de regresión para obtener estimaciones más reales de la regresión, pendiente y ordenada al origen y .²⁻⁴

El error toma en cuenta la diferencia entre los resultados del método comparativo y el de prueba. Dos clases de error se miden en los experimentos de comparación

de métodos: aleatorio y sistemático. El *error aleatorio* se presenta en todas las mediciones; puede ser positivo o negativo; y se debe al instrumento, operador, reactivo y variaciones ambientales. La medición de dispersión $s_{y/x}$ provee una estimación del error aleatorio. El *error sistemático* es un error que influye en las observaciones de manera consistente en una dirección. A diferencia del error aleatorio, el sistemático no debe estar presente en un método. Las medidas de ubicación, la pendiente y la ordenada al origen, proporcionan medidas del error sistemático.

Debido a que $s_{y/x}$ es una estimación de la desviación estándar respecto a la recta de regresión, los límites estadísticos se pueden calcular para cualquier punto sobre la recta. Los límites de 95% para cualquier valor de y en la recta de regresión son $y \pm 1.96s_{y/x}$. Si $mx + y_0$ se sustituye por y (ec. 3-7), entonces los límites de 95% son $mx + y_0 \pm 1.96s_{y/x}$.

Hay dos tipos de error sistemático: constante y proporcional. El *error sistemático constante* existe cuando hay una diferencia constante entre los valores del método de prueba y el método comparativo sin importar la concentración. En la figura 3-6B, hay una diferencia de 5 entre los valores del método de prueba y los del comparativo. Esta diferencia constante, reflejada en la ordenada al origen, se llama *error sistemático constante*. El *error proporcional* existe cuando las diferencias entre los valores del método de prueba y el comparativo son proporcionales a la concentración del analito. En la figura 3-6C y D, la diferencia entre el método de prueba y el comparativo es proporcional a la concentración medida. Esta diferencia, indicada por una pendiente diferente de la unidad, se debe al error sistemático proporcional.

Estadísticas inferenciales

Las pruebas estadísticas inferenciales descritas en este capítulo se emplean para comparar las medias o desviaciones estándar de dos grupos de datos. La *prueba t*, descrita por Gosset en 1908, se emplea para determinar si hay una diferencia importante estadística entre las medias de dos grupos de datos. La *prueba F* se emplea para determinar si hay una diferencia importante desde el punto de vista estadístico entre las desviaciones estándar de dos grupos de datos. Ambas pruebas tienen utilidad limitada en estudios de evaluación de métodos.

Para ambas pruebas, se calcula una estadística y luego se compara con los valores críticos encontrados en las tablas F y t de libros de estadística. Los valores críticos definen el nivel de significación o la probabilidad de que las diferencias se deban al azar. Por convención, se dice que la prueba t o F es *estadísticamente importante* si la probabilidad de la diferencia que ocurre debido al azar es menor que 5%. Si la probabilidad de la diferencia que ocurre debido al azar es mayor que 5%, entonces se dice que la diferencia *no es importante estadísticamente*. Mientras menor sea la probabilidad, más importante es la diferencia desde el punto de vista estadístico. Por ejemplo, una diferencia que ocurre 1% del tiempo debido al azar tiene mayor significado que una que ocurre 5% debido al azar.

CUADRO 3-2. VALORES DE t CRÍTICOS

NIVEL DE SIGNIFICACIÓN	DE DOS EXTREMOS	DE UN EXTREMO
5% (0.05)	1.96	1.64
1% (0.01)	2.58	2.33

Para aplicar la prueba t , se calcula y compara la estadística t con una tabla de valores de t críticos para niveles de significación y grados de libertad seleccionados. Los valores de t se deben obtener de la tabla de t si se promedia un número pequeño de observaciones (30 o menos). Si se promedian más de 30 observaciones, los valores críticos son casi independientes del número de observaciones y dependen principalmente del nivel de significado. Los valores críticos listados en el cuadro 3-2 se podrían usar si se promedian más de 30 observaciones.

Si la estadística t calculada pasa del valor crítico, entonces se dice que existe una diferencia significativa. Mientras más grande sea la diferencia, mayor será la estadística t y menor la probabilidad de que la diferencia se deba al azar. Los valores críticos de un extremo se emplean para probar si una media de un grupo de números es significativamente mayor o menor que la otra media. Los valores críticos de dos extremos se emplean para probar si las medias son diferentes.

En su aplicación más simple, la prueba t se emplea para determinar si la media de un grupo de datos (\bar{x}) es diferente de la media verdadera (abreviada como M). La ecuación para el cálculo de la estadística t es

$$t = \frac{|\bar{x} - M|}{s / \sqrt{n}}$$

$$\text{Grados de libertad} = n - 1 \quad (\text{Ec. 3-12})$$

El valor t es el valor absoluto de la diferencia de la media verdadera y la media de los datos dividida entre el EEM. Por ejemplo, si la media de un grupo de mediciones de control de calidad de glucosa fue evaluada estadísticamente y mostró ser diferente del valor medio usual, se emplearían los valores t críticos de **dos extremos**. Si la t calculada fuera menor que 1.96, entonces la diferencia entre las medias no sería considerada significativa al nivel 5%. Un valor de t entre 1.96 y 2.58 indica una diferencia estadísticamente significativa; tal diferencia ocurriría debido al azar, con una probabilidad entre 1 y 5%. Una diferencia con un valor t mayor que 2.58 es más significativa y tiene menos de 1% de probabilidad de ocurrir debido al azar. La mayor parte de los programas de hojas de cálculo proveen la prueba t y el nivel de significación.

Los valores críticos de **un extremo** se emplearían para determinar si la media de un grupo de datos es significativamente mayor o menor que la media verdadera. Por ejemplo, es posible que un médico de laboratorio tenga varios valores de colesterol de un paciente y desee determinar si estos valores son significativamente mayores que el límite superior de aceptabilidad. Después de calcular el

valor de t , el médico debe usar la tabla de valores críticos de un extremo.

En química clínica, la prueba t se aplica algunas veces a datos de comparación de métodos obtenidos midiendo muestras de pacientes mediante los métodos de prueba y comparativo. Los valores medidos se promedian para cada método, y se aplican a los promedios de pruebas de diferencia estadísticamente significativa. Si x_i y y_i son los valores obtenidos mediante métodos comparativos y de prueba, respectivamente, el valor de t para un grupo de observaciones en pares $(x_1, y_1), (x_2, y_2), \dots, (x_n, y_n)$ es

$$t = \frac{\frac{\sum y_i}{n} - \frac{\sum x_i}{n}}{s_d / \sqrt{n}} = \text{sesgo} / (s_d / \sqrt{n}) \quad (\text{Ec. 3-13})$$

El numerador de la expresión es la diferencia entre la media del métodos de prueba ($\sum y_i / n$) y la media del método comparativo ($\sum x_i / n$). Esta diferencia entre las medias se llama **sesgo**. El símbolo s_d representa la desviación estándar de las diferencias:

$$s_d = \sqrt{\frac{\sum [y_i - x_i - \text{sesgo}]^2}{n - 1}} \quad (\text{Ec. 3-14})$$

La ecuación 3-13 muestra que el valor de t es el sesgo, o diferencia de las medias, dividido entre el error estándar de la media. Westgar y otros, y Westgard y Hunt han mostrado que la interpretación de la prueba t sin considerar s_d y n podría ser engañosa.^{5,6} Un sesgo estadísticamente significativo podría existir entre los métodos, pero su tamaño podría ser significativo desde el punto de vista clínico. Se recomienda al usuario comprobar que el sesgo tiene significación clínica y estadística.⁶ A veces, el sesgo y s_d pueden ser grandes clínicamente, pero el valor de t resultante puede ser pequeño. Al interpretar los resultados de la prueba t , todos los términos, sesgo, s_d y el valor de t se deben evaluar de manera crítica.

La segunda prueba estadística inferencial, la prueba F , ha sido empleada para comparar los tamaños de las desviaciones estándar de los dos métodos. Para calcular la estadística F , el cuadrado de la desviación estándar más grande (s_L) se divide entre el cuadrado de la desviación estándar más pequeña (s_S).

$$F = \frac{(s_L)^2}{(s_S)^2} \quad (\text{Ec. 3-15})$$

Al igual que la prueba t , la estadística F se compara entonces con los valores de F críticos en tablas estadísticas que se tabulan mediante grados de libertad y nivel de significación. Debido a que la prueba F provee información acerca de la significación estadística pero no la significación clínica, Westgard y Hunt recomiendan que el valor de F no se debe usar como un indicador de aceptabilidad de una prueba.⁶ Más bien, la aceptabilidad debe depender del tamaño de un error aleatorio.

INTERVALOS DE REFERENCIA (ALCANCE NORMAL)

Definición del intervalo de referencia

Los médicos ordenan pruebas de laboratorio por varias razones. La más importante de éstas son el diagnóstico y la detección de una enfermedad, y el monitoreo de las concentraciones de fármacos y sustancias endógenas como electrolitos. Otras razones para la realización de pruebas incluyen determinar el pronóstico, confirmar una prueba previamente anormal, educación física y propósitos médico legales. Cuando se emplea una prueba para diagnóstico, detección o pronóstico, el resultado de ésta se compara, por lo general, con un intervalo de referencia (alcance normal) que se define como los valores usuales para una población saludable. Por ejemplo, si al parecer un paciente tiene signos y síntomas de hipotiroidismo, una de las pruebas de seguimiento que ordena el médico sería la de la hormona estimuladora de la tiroides (TSH) en suero. Si la TSH del paciente excede el límite de referencia superior, el diagnóstico es congruente con hipotiroidismo primario. Los médicos podrían requerir más pruebas para determinar la causa del hipotiroidismo. Cuando una prueba se emplea para monitorear, el resultado de la prueba suele compararse con valores que se obtuvieron previamente del mismo paciente. Por ejemplo, en pacientes con carcinomas colónicos retirados mediante cirugía, la presencia de antígeno carcinoembrionario (ACE) se emplea con frecuencia para detectar la recurrencia del carcinoma. En estos pacientes, cada nuevo valor de ACE se compara con valores previos. El intervalo aceptable para los valores de ACE se debe deducir de los valores de prueba previos de cada paciente.⁷

La Federación Internacional de Química Clínica (FIQC) ha recomendado el uso del término *intervalo de referencia* para denotar los límites usuales de datos de laboratorio.⁸ La presencia de salud no está implícita en la definición y, por tanto, se pueden construir intervalos de referencia para poblaciones enfermas así como saludables. La FIQC recomienda⁸ especificar los siguientes cinco factores cuando se establecen intervalos: a) la composición de la población de referencia con respecto a la edad, sexo y factores genéticos y socioeconómicos; b) los criterios usados para incluir o excluir individuos de grupo muestra de referencia; c) las condiciones fisiológicas y ambientales mediante las cuales se estudió y muestreó la población de referencia, incluso la hora y la fecha de la recolección, ingestión de alimentos y fármacos, postura, hábito de fumar, grado de obesidad y etapa del ciclo menstrual; d) el procedimiento de recolección de la muestra, incluso la preparación del individuo, y e) el método analítico empleado con detalles de su *precisión* y *exactitud*. La FIQC considera los términos *valores normales* y *alcance normal* como intervalos de referencia específicos que corresponden al intervalo de referencia relacionado con la salud (95% central). Como en este capítulo se analiza casi de manera exclusiva el intervalo de referencia relacionado con la salud, se emplearán los términos *valores normales*, *alcance normal* e *intervalo de referencia* de manera indistinta. Para un repaso

de intervalos de referencia, se refiere al lector al sitio del autor en Internet: www.mylaboratoryquality.com.⁹

En el pasado, muchos laboratorios de hospitales han utilizado ya sea el intervalo de referencia que recomienda el fabricante del instrumento, o quien elabora la prueba, o los valores publicados en libros de texto médicos o de laboratorio. Debido a la diversidad de instrumentación, metodologías, reactivos y poblaciones, es importante que los laboratorios de hospitales grandes determinen sus propios intervalos de referencia. Los laboratorios más pequeños carecerán de los recursos para llevar a cabo este tipo de trabajo; en cambio ellos deberán analizar bastante menos especies (por lo menos 20) y comprobar el intervalo de referencia especificado en las instrucciones del método que provee el fabricante.

La selección de individuos para el estudio del intervalo de referencia es importante. Muchos datos de laboratorio dependen de la edad y el sexo. Por ejemplo, la concentración de testosterona en plasma es baja en niños y niñas prepúberes, y se incrementa durante la pubertad, con concentraciones mayores en los niños. Si un médico obtiene una concentración de testosterona para descartar un tumor secretor de testosterona en una niña prepúber, debe poder comparar el valor de testosterona de la niña con valores normales para muchachas de su edad. De manera similar, las concentraciones de fosfatasa alcalina se elevan durante el crecimiento (fig. 3-7),¹⁰ así como en varones y mujeres mayores de 60 años. Lo ideal es que el laboratorio tenga valores normales estratificados por edad y sexo para todas las poblaciones probadas. Así, si un laboratorio prueba muchas muestras de adultos con más edad, se debe proveer los intervalos de referencia propios para esta población.

Para derivar estimaciones confiables de intervalos de referencia, por lo menos se debe realizar la prueba con 120 individuos en cada categoría de edad y sexo. Sin embargo, suele ser necesario llevar a cabo estudios de intervalo de referencia con pocos individuos. El muestreo de 120 varones y mujeres sería adecuado para determinar el intervalo de referencia de un analito que no varía de manera sustancial

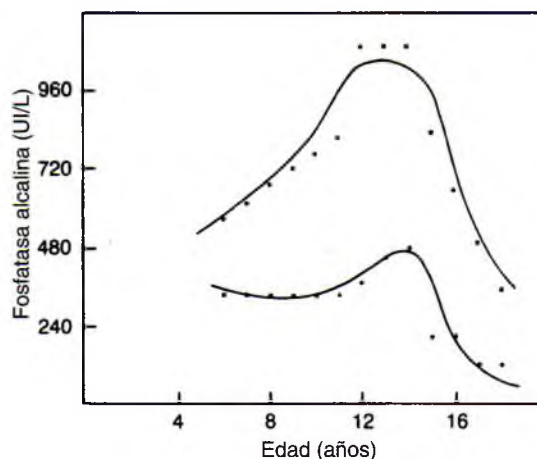


FIGURA 3-7. Intervalos de referencia $P_{25} - P_{97.5}$ para fosfatasa alcalina en niños saludables determinados por el método de Bowers-McComb.²⁰

con la edad y el sexo (como el sodio). Un analito, como la creatina cinasa, en el que hay diferencias sustanciales entre varones y mujeres, requeriría muestrear al menos 120 varones y 120 mujeres. Si se desearan los intervalos de referencia para varones y mujeres desde el nacimiento hasta 70 años de edad, y si cada categoría de edad se iguala a un intervalo de 10 años, entonces el número mínimo de individuos por probar sería $100 \text{ individuos} \times 2 \text{ sexos} \times 7 \text{ clasificaciones de edad}$, o 1400 individuos. El examen sistemático de tal cantidad de individuos es casi siempre prohibitivo. Winsten¹¹ ha sugerido que se empleen cuatro categorías de edad: recién nacidos, prepúberes, poblaciones de adultos (postpúberes y premenopáusicas) y adultos de mayor edad (varones mayores de 60 años y mujeres posmenopáusicas). Aunque estas divisiones no son óptimas, reducen el número de categorías probadas. La dependencia de fosfatasa alcalina con la edad (fig. 3-7) indica que, a menos que haya más estratificación de fosfatasa alcalina por edad, el intervalo de referencia prepupal puede ser limitado en utilidad.

Los estudios de intervalo de referencia en niños sanos son limitados debido al dolor psicológico y físico de la flebotomía. Muchos de esos estudios se realizan en pacientes pediátricos para quienes las muestras de suero y plasma ya están disponibles. Desafortunadamente, las enfermedades y tratamientos de estos niños pueden dar como resultado cambios sistemáticos en sus datos de laboratorio. El uso de estos datos de laboratorio puede resultar en intervalos de referencia erróneos. Debido a que pocos centros pueden emprender estudios sistemáticos de intervalos de referencia en recién nacidos y niños sanos, se recomienda que los valores de referencia publicados sean usados y comparados de manera crítica con los valores de referencia de adultos del laboratorio clínico. Soldin y cols.¹² y Meites¹³ han compilado valores de referencia para pacientes pediátricos en monografías completas.

Recolección de datos para estudios de intervalo de referencia

Si se quiere que la utilidad de los datos de intervalo de referencia sea máxima, la población de referencia debe estar compuesta de individuos con buena salud. Los empleados del hospital son los individuos saludables más al alcance para estudios de intervalo de referencia pero, desafortunadamente, hay un sesgo de muestreo, ya que la población está compuesta sobre todo de mujeres jóvenes y de mediana edad. Con frecuencia se debe dedicar un gran esfuerzo para reclutar suficientes adultos varones. Una vez que se identifica la población de referencia, se debe redactar y presentar una forma de consentimiento al comité de experimentación con humanos o a la junta de revisión institucional del hospital a fin de que se pueda reclutar a los voluntarios para donación de sangre u otras muestras.

De manera ideal, los posibles donadores deben ser entrevistados para reunir los siguientes datos: edad, sexo, estado de salud, nivel de actividad, estatura y peso, consumo de alcohol, uso de fármacos (incluso anticonceptivos orales), antecedentes en relación con el hábito de fumar y etapa del ciclo menstrual. Estos datos de entrevista se pueden usar

entonces para excluir al donador o para explicar un valor anormal; por ejemplo, una concentración elevada de CK en un atleta en entrenamiento. Si se desea un alcance normal o un intervalo de referencia relacionado con la salud, se debe excluir a embarazadas y a personas con enfermedad crónica o aguda. Se debe instruir a los donadores acerca de la preparación antes de la recolección de la muestra. Por lo general se requieren las muestras en ayuno, en cuyo caso el donador debe recibir instrucciones de no comer después de las 10 p.m. y beber líquidos descafeinados no calóricos antes de la extracción de sangre. Se deben tomar muestras a todos los donadores de un modo similar, y el flebotomista debe tener cuidado de no aplicar el torniquete por más de un minuto. Es necesario notar que muchos analitos (p. ej., hierro, ACTH [hormona adrenocorticotrópica] y cortisol) muestran variaciones diurnas significativas. Es necesario controlar el tiempo de muestreo para estas sustancias.

Las muestras obtenidas se deben etiquetar y manejar de la misma manera que las regulares. Los instrumentos empleados para analizarlas deben estar funcionando bien. De manera ideal, se deben tomar muestras y analizar no más de 5 a 10 individuos diarios. Con este análisis de más largo plazo, el alcance normal reflejará el estado a largo plazo de control analítico. El análisis sobre un período corto puede introducir *cambios* en el alcance de referencia debido a diferencias transitorias de instrumento o reactivo.

Análisis estadístico de los datos del intervalo de referencia

Definición rigurosa del intervalo de referencia

El análisis de la gran cantidad de datos derivados de estudios de intervalos de referencia solía ser muy laborioso. En la actualidad esta tarea se simplifica por el uso de hojas de cálculo o programas estadísticos de microcomputadoras de fácil acceso. Los datos de prueba se introducen primero a la computadora junto con los demográficos de los donadores, como código identificador, sexo y edad. Luego, se grafican los histogramas de frecuencia para todas las pruebas. Los resultados para individuos con datos de laboratorio atípicos deben ser enviados a sus médicos. Si se conoce la razón de los resultados atípicos (p. ej., la alta concentración de CK en el atleta), se deben eliminar éstos del análisis posterior.

Hasta casi 1990, la práctica normal era elaborar las gráficas de los datos del intervalo de referencia como histogramas de frecuencia acumulada en papel de probabilidad, y luego derivar intervalos de referencia a partir de la gráfica de probabilidad. En la figura 3-2 se muestran histogramas de frecuencia de ATT. En la figura 3-3 se muestra el histograma de frecuencia acumulada de ATT por medio de una escala lineal para el eje y. En la figura 3-8 se muestra un histograma de frecuencia acumulada para ATT graficado en papel de probabilidad. Las gráficas de probabilidad de frecuencia acumulada hacen lineales las distribuciones gaussianas y permiten trazar la mejor recta por los puntos. La mayor parte de los datos de intervalo de referencia han sido empleados para determinarlo, y se reduce el efecto de los valores atípicos. Los límites externos de 2.5 y 97.5% de la población

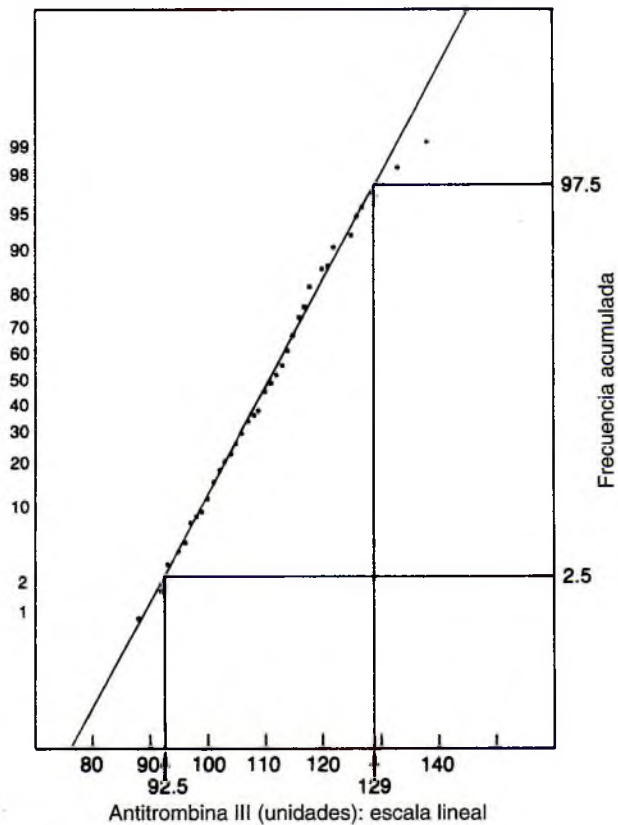


FIGURA 3-8. Gráfica de probabilidad para antitrombina III (escala lineal).

se determinan mediante la selección de valores para ATT en la recta que corresponde a frecuencias acumuladas de 2.5 y 97.5%, respectivamente. En la figura 3-8, los límites de percentil 2.5 – 97.5 son 92.5 – 129 U. Si la distribución de la población es muy uniforme y gaussiana, entonces los límites de 95% se pueden calcular también de forma directa de $\bar{x} \pm 1.96s$. En el caso de ATT, los límites calculados de esta

manera son $115.6 \pm 1.96 \times 9.5$ U o 92.5 – 130.6 U. Por otra parte, los límites de 95% se pueden determinar de los límites de percentil 2.5 y 97.5 (fig. 3-3) o 93 – 133 U.

Si los datos son no gaussianos, la determinación de los límites de 95% es más difícil. En la figura 3-9 se muestra un histograma de frecuencia para la transpeptidasa de γ -glutamilo (GGTP) en 118 mujeres; en la figura 3-10 se presenta su gráfica de probabilidad. El histograma de frecuencia muestra un sesgo hacia valores cada vez mayores de GGTP. La gráfica de probabilidad no lineal indica una distribución no gaussiana. Como los percentiles no dependen de la forma de la distribución, se podrían usar para determinar los límites de 2.5 y 97.5% para la población. Los límites de percentil 2.5 y 97.5 para GGTP son 10 y 35 UI/L.

Desde principios de la década de 1990, ha disminuido el entusiasmo por derivar intervalos de referencia mediante gráficas de probabilidad. Por lo menos tres factores han inspirado al trabajador de laboratorio a usar percentiles para establecer intervalos de referencia: a) la multitud de conjuntos de datos de intervalos de referencia no gaussianos, b) la naturaleza compleja de la construcción e interpretación de gráficas de probabilidad y c) el documento del *National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Approved Guideline for How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory (C28-A)*¹⁴ que promueve el método de percentiles.

Los intervalos de referencia se amplían de manera ocasional para incluir el límite inferior del analito. Por ejemplo, en la figura 3-11 se muestra el histograma de frecuencia y la gráfica de probabilidad para bilirrubina total en 228 varones y mujeres. La gráfica de probabilidad es no lineal, así que se emplean los límites de percentil 2.5 y 97.5 para definir el intervalo de referencia: 0.3–1.4 mg/ml. Debido a que el límite inferior publicado de la bilirrubina suele ser 0 y a que hay pocas razones patológicas, si las hay, para una bilirrubina de 0, el intervalo de referencia derivado de estos datos se establece como 0–1.4 mg/dl.

De manera ocasional, los resultados de un nuevo estudio de intervalo de referencia podrían ser bastante diferentes

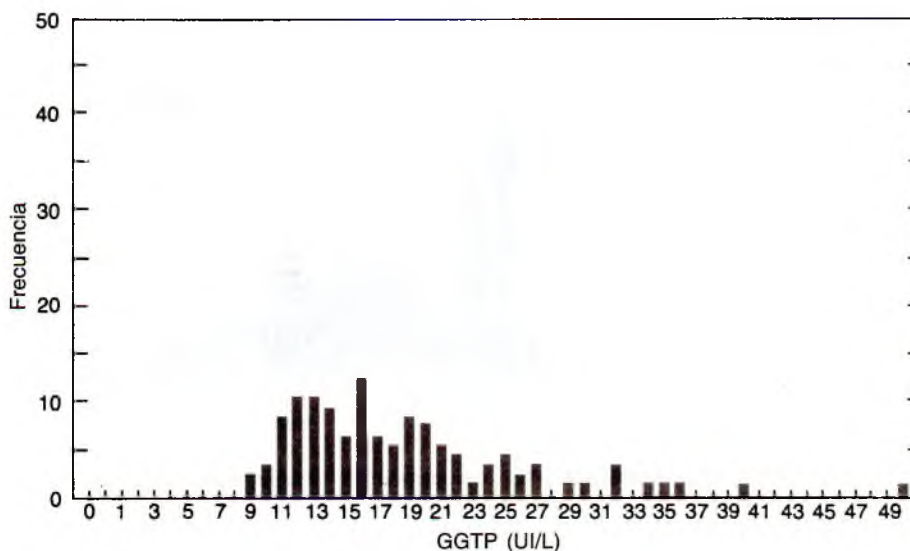


FIGURA 3-9. Histograma de frecuencia de GGTP en 118 mujeres. Las gráficas de probabilidad correspondientes se muestran en la figura 3-10.

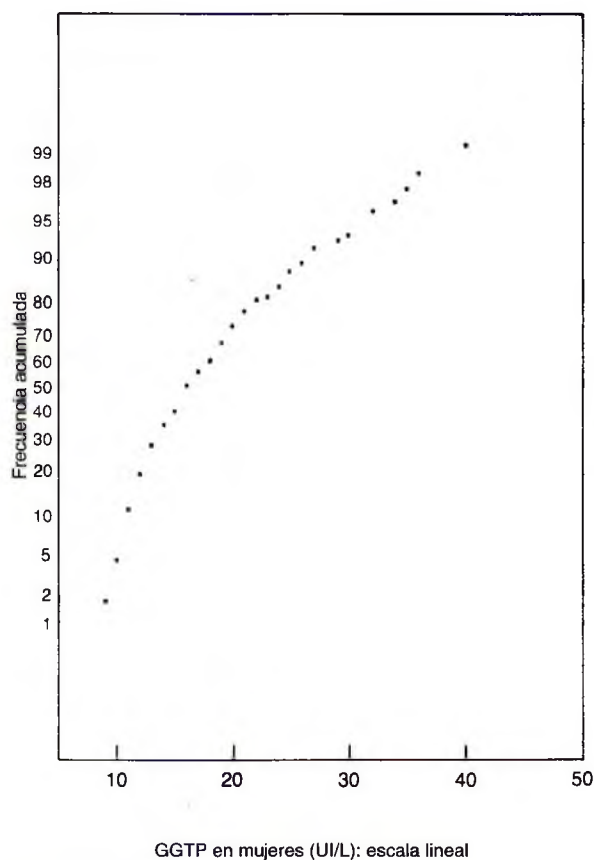


FIGURA 3-10. Gráfica de probabilidad para GGTP: escala lineal.

de los antiguos, aun cuando se usen el mismo instrumento y metodología. Antes de hacer cualquier ajuste en el intervalo de referencia, se debe emprender una investigación cuidadosa para descubrir si ha cambiado el método analítico o la población de referencia.

La distribución de datos de pacientes hospitalizados ha sido analizada mediante varios métodos computacionales en un intento por deducir intervalos de referencia relacionados con la salud. Martin y asociados han recomendado que los intervalos de referencia se deduzcan del análisis numérico de datos de distribuciones de pacientes.¹⁵ Existen problemas en este método para la determinación del intervalo de referencia, lo cual explica su falta de aceptación.

Un alcance normal o intervalo de referencia relacionado con la salud es adecuado para casi todas las pruebas. Hay algunas pruebas, como la hemoglobina glucosilada (HbA_{1c}), para la cual es deseable un intervalo de referencia alterno. La HbA_{1c} es una medida de la concentración de glucosa sanguínea promedio del individuo en las 10 semanas pasadas; la HbA_{1c} se mide por lo general para determinar y mejorar el cumplimiento de los regímenes de dieta, ejercicio y medicación. En el histograma de frecuencia de la figura 3-12 se comparan los valores de HbA_{1c} de individuos normales con los de pacientes con diabetes. Hay poco traslape entre pacientes sin diabetes y con diabetes. El alcance superior normal tiene poca significación

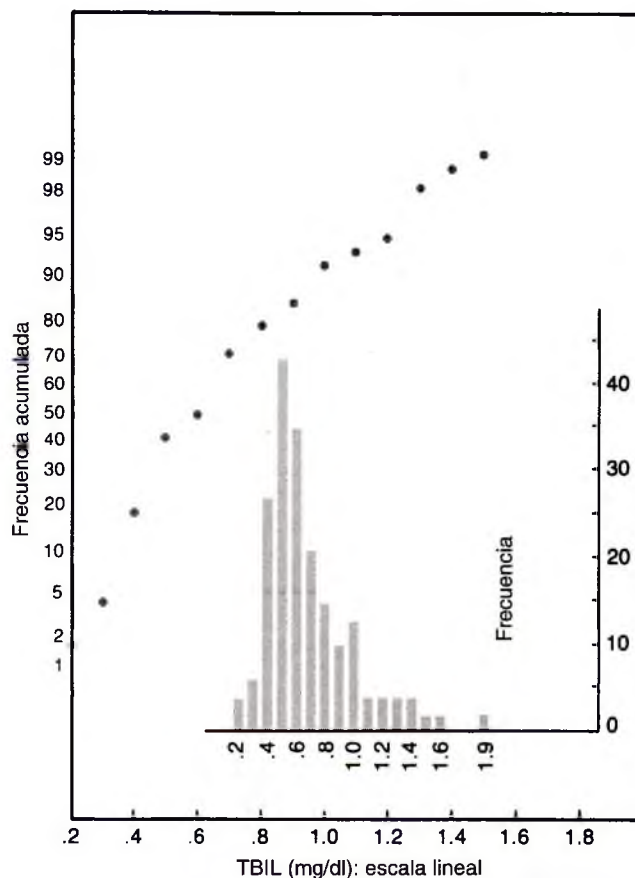


FIGURA 3-11. Histograma de frecuencias de bilirrubina total en 228 varones y mujeres (*inserto*) y la gráfica de probabilidad correspondiente (*escala lineal*).

para pacientes con diabetes; muchos médicos emplean un límite un poco arbitrario de menos de 7% para designar el control diabético excelente. Para HbA_{1c} , el intervalo de referencia más útil es probable que sea el que se basa en los valores de HbA_{1c} previos del paciente.

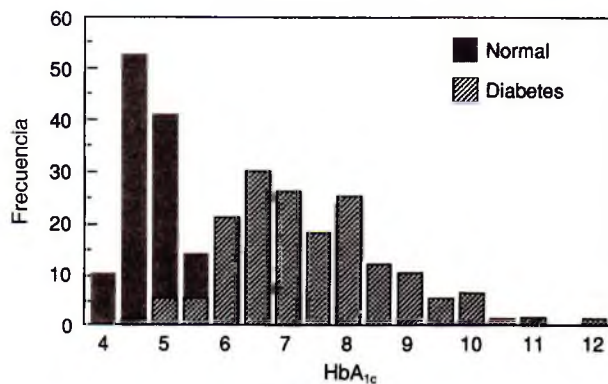


FIGURA 3-12. Comparación de histogramas de frecuencias de hemoglobina A_{1c} para sujetos con glucosas de ayuno y pacientes con diabetes.

Validación del intervalo de referencia

Muchos laboratorios carecen de recursos adecuados para llevar a cabo estudios de intervalos de referencia rigurosos desde el punto de vista estadístico. Incluso sin los pasos de introducción y análisis de datos, el reclutamiento y el muestreo de un mínimo de 120 individuos es demandante. La mayor parte de los fabricantes de analizadores de laboratorio clínico proporcionan intervalos de referencia para los analitos medidos con sus reactivos. Un laboratorio no necesita elaborar su propio intervalo de referencia para un nuevo analizador y reactivos. Más bien, necesita hacer un estudio de validación mucho más pequeño descrito en el mismo documento de la NCCLS C28-A.¹⁴ Sólo se requieren muestras de 20 individuos de referencia para análisis en un instrumento de prueba, si el laboratorista determina que el instrumento de prueba y la población de individuos son similares a los descritos en las instrucciones del fabricante. Los límites de referencia de 95% que describe el fabricante podrían ser considerados válidos si no más de 2 a 20 individuos examinados quedan fuera de los límites descritos originales. Si tres o más resultados de prueba están fuera de estos límites, es necesario obtener otras 20 muestras de referencia; si no más de dos de estos nuevos resultados están fuera de los límites del fabricante, entonces se pueden usar los límites del fabricante. Si fracasa el segundo intento en la validación, el laboratorista debe examinar de nuevo el procedimiento analítico e identificar las diferencias entre la población del laboratorio y la que usó el fabricante para la información del instructivo. En caso de no identificar diferencias, podría ser necesario que el laboratorio lleve a cabo el estudio completo de intervalos de referencia con 120 individuos.

EFICACIA DEL DIAGNÓSTICO

El material de esta sección permite al lector analizar los datos de prueba del paciente, y calcular la sensibilidad diagnóstica y especificidad y el valor predictivo de una prueba. El lector también podrá comparar las eficacias diagnósticas de varias pruebas de laboratorio y determinar la prueba más útil.

Teoría del valor predictivo

Mientras que los radiólogos de principios de la década de 1950 empleaban los términos *sensibilidad diagnóstica*, *especificidad* y *valor predictivo*, no fue sino hasta la década de 1970 que los laboratoristas se familiarizaron con sus significados. La sensibilidad diagnóstica no debe confundirse con la analítica. Para una prueba que se emplea para diagnosticar determinada enfermedad, la *sensibilidad diagnóstica* es la proporción de individuos con esa enfermedad que dan positivo con la prueba. La sensibilidad suele expresarse como porcentaje:

$$\text{Sensibilidad (\%)} = \frac{100 \times \text{el número de individuos enfermos con una prueba positiva}}{\text{número total de individuos enfermos examinados}} \quad (\text{Ec. 3-16})$$

La especificidad de una prueba se define como la proporción de individuos sin la enfermedad con resultados de prueba negativos para la enfermedad. La especificidad (%) se define como sigue:

$$\text{Especificidad (\%)} = \frac{100 \times \text{el número de individuos sin la enfermedad con una prueba negativa}}{\text{número total de individuos examinados sin la enfermedad}} \quad (\text{Ec. 3-17})$$

De manera ideal, la sensibilidad y la especificidad deben ser cada una de 100%. La sensibilidad y especificidad de una prueba dependen de la distribución de los resultados de la prueba para individuos enfermos y no enfermos, y también de los valores de prueba que definen los niveles anormales. En la figura 3-13 se muestran los histogramas de frecuencia de antígeno específico de próstata (PSA) de dos poblaciones de pacientes. Estas dos poblaciones son subconjuntos de un grupo de 4962 varones voluntarios, con edades de 50 años o más en quienes se evaluó la presencia de cáncer de próstata mediante examen rectal digital de la próstata y una medición de PSA.¹⁶ De estos voluntarios, 770 tuvieron hallazgos anormales. El histograma de frecuencia superior representa el subconjunto de 578 pacientes con valores de PSA anormales o exámenes rectales digitales anormales a quienes se les practicó una biopsia para determinar cáncer de próstata y se encontró que no tenían la enfermedad. El histograma de frecuencia inferior representa el subconjunto de 192 pacientes con valores de PSA anormales o exámenes rectales digitales anormales a quienes se les practicó una biopsia y se encontró que tenían cáncer de próstata. Se puede ver que, aunque los pacientes con carcinoma de próstata tienden a tener valores más altos de PSA, hay gran cantidad de traslape entre las dos poblaciones.

La sensibilidad y la especificidad se pueden calcular para cualquier valor de PSA. Si los valores altos de PSA se usan para indicar la presencia de enfermedad (es decir, si los valores que pasan de 35 ng/ml se emplean para indicar cáncer de próstata), entonces la especificidad de la prueba será 100% (todos los pacientes con cáncer de próstata se clasifican como negativos con la prueba). Sin embargo, la sensibilidad es baja (2.6%); sólo 5 de 192 pacientes con carcinoma tienen valores de PSA mayores que 35 ng/ml. La sensibilidad se puede incrementar al disminuir el valor de prueba. Por tanto, si los valores de PSA mayores que 4.0 ng/ml (el límite de referencia superior aceptado) se emplean para diagnosticar carcinoma, la sensibilidad se incrementa a 79%. No obstante, la especificidad disminuye a 46%. Hay pocas pruebas de laboratorio con sensibilidades y especificidades cercanas a 100%. La sensibilidad y especificidad de la fracción MB de la creatina cinasa para el diagnóstico de infarto de miocardio son casi de 95% cada una. La troponina, aunque con casi la misma sensibilidad para diagnosticar infarto de miocardio, tiene una especificidad mejorada, alrededor de 98%. Las pruebas de embarazo con gonadotropina coriónica humana (hCG) en suero y orina empleadas en el laboratorio clínico tienen

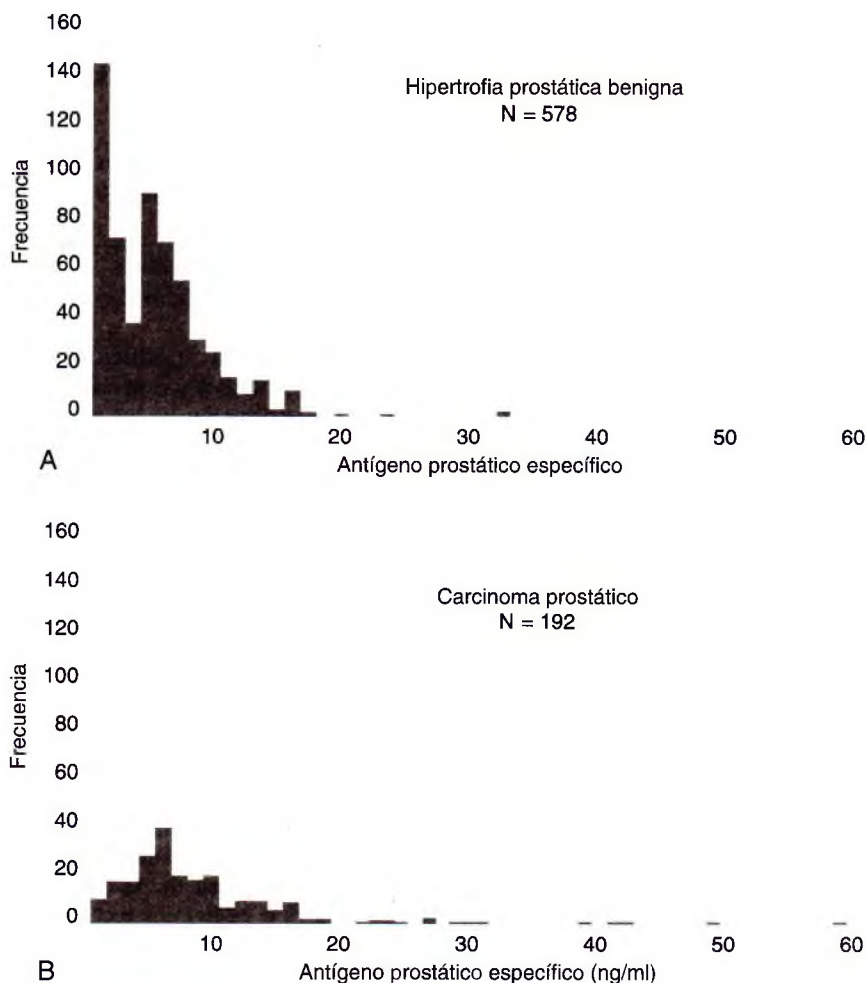


FIGURA 3-13. Histogramas de frecuencias de resultados de PSA (ensayo Hybritech Tandem) de pacientes evaluados para posible cáncer de próstata. (A) En la gráfica superior se muestra el PSA de pacientes a los que se les realizó una biopsia sin cáncer de próstata; (B) la gráfica inferior muestra el PSA de pacientes con cáncer de próstata detectado mediante biopsia. (Adaptada de Catalona WJ, Richie JP, deKernion JB y col. Comparación de la concentración de antígeno prostático específico en la detección oportuna de cáncer de próstata: curvas características de operación del receptor. J Urol 1994; 152:2031.)

sensibilidades que se aproximan a 100%. Muchas pruebas tienen sensibilidades y especificidades que son cercanas a 50%. Galen y Gambino han expresado que si la suma de la sensibilidad y especificidad de una prueba es casi 100%, la prueba no es mejor que lanzar una moneda al aire.¹⁷

La sensibilidad y la especificidad se pueden calcular a partir de relaciones simples. Los pacientes con enfermedad que son clasificados de manera correcta mediante una prueba como portadores de la enfermedad se llaman *positivos verdaderos* (TP). Los pacientes sin la enfermedad que son clasificados mediante la prueba como no portadores de la enfermedad se llaman *negativos verdaderos* (TN). Los pacientes con la enfermedad que son clasificados mediante la prueba como libres de la enfermedad se llaman *negativos falsos* (FN). Los pacientes sin la enfermedad que son clasificados de manera incorrecta como portadores de la enfermedad se llaman *positivos falsos* (FP). La sensibilidad se puede calcular a partir de la fórmula $100 \text{ TP}/(\text{TP} + \text{FN})$. La especificidad se puede calcular de $100 \text{ TN}/(\text{TN} + \text{FP})$.

Otras tres relaciones son importantes en la evaluación de pruebas de diagnóstico: valor predictivo de una prueba positiva (PV^+), valor predictivo de una prueba negativa (PV^-) y la eficiencia. PV^+ es la fracción de pruebas positivas que son positivos verdaderos: $\text{PV}^+ (\%) = 100 \text{ TP}/(\text{TP} + \text{FP})$.

PV^- es la fracción de pruebas negativas que son negativos verdaderos: $\text{PV}^- (\%) = 100 \text{ TN}/(\text{TN} + \text{FN})$. La eficiencia de una prueba es la fracción de los resultados de prueba que son positivos verdaderos o negativos verdaderos: eficiencia $(\%) = 100(\text{TP} + \text{TN})/(\text{TP} + \text{TN} + \text{FP} + \text{FN})$. Los cálculos de sensibilidad, especificidad y valores predictivos para PSA que pasan de 4.0 ng/ml se muestran en el cuadro 3-3. Si un paciente tiene un resultado de prueba negativo, tiene una probabilidad de 87% de no tener cáncer. La probabilidad de que un paciente tenga cáncer si tiene una prueba positiva es bastante baja, alrededor de 33%.

El valor predictivo de una prueba se puede expresar como una función de la sensibilidad, especificidad y prevalencia de enfermedad, o la proporción de individuos en la población que tienen la enfermedad:

$$\text{PV}^+ = \frac{\text{prevalencia} \times \text{sensibilidad}}{(\text{prevalencia})(\text{sensibilidad}) + (1 - \text{prevalencia})(1 - \text{especificidad})} \quad (\text{Ec. 3-18})$$

El PV^+ para PSA para varias prevalencias y un límite de 4.0 ng/ml (sensibilidad =, especificidad =) se muestran en el cuadro 3-4. Se puede observar que, incluso en la situación en que la enfermedad tiene una prevalencia alta (0.2,

CUADRO 3-3. CÁLCULO DE MUESTRA DE SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, PV⁺, PV⁻ Y EFICIENCIA CALCULADA PARA VALORES DE PSA DE >4.0 NG/ML

	NÚMERO DE PACIENTES CON PSA POSITIVO (>4.0 ng/ml)	NÚMERO DE PACIENTES CON PSA NEGATIVO (4.0 ng/ml)
Número de pacientes con cáncer de próstata	TP (151)	FN (41)
Número de pacientes sin cáncer de próstata	FP (313)	TN (265)

Sensibilidad = $100 \times TP/(TP + FN) = 100 \times 151/192 = 79\%$.
 Especificidad = $100 \times TN/(TN + FP) = 100 \times 265/578 = 46\%$.
 PV⁺ = $100 \times TP/(TP + FP) = 100 \times 154/464 = 33\%$.
 PV⁻ = $100 \times TN/(TN + FN) = 100 \times 265/306 = 87\%$.

o una quinta parte de la población), la probabilidad de que una prueba indique en verdad carcinoma es 27%.

Debido a que la selección de un nivel límite para definir ha sido con mucha frecuencia arbitrario, es preferible calcular y graficar la sensibilidad y la especificidad para todos los valores de una prueba. Esto permite la comparación de sensibilidades de dos o más pruebas a especificidades definidas o la comparación de especificidades para ciertas sensibilidades. Las curvas características de operación del receptor (COR), que son gráficas de sensibilidad (tasa positiva verdadera) contra 1- especificidad (tasa positiva falsa), han sido usadas para comparar diferentes pruebas de laboratorio.¹⁸ En la figura 3-14 se ilustran dos curvas de COR distintas. La curva A es una curva COR para una prueba en la cual hay una separación amplia entre los valores de prueba de pacientes con la enfermedad y sin ésta. La curva B ilustra la curva COR obtenida de una prueba para la cual hay poca separación entre pacientes enfermos y no. La parte inferior izquierda de la curva, donde la tasa positiva falsa está cerca de 0 (100% de especificidad) y la tasa positiva verdadera está cerca de 0 (0% de sensibilidad), corresponde a valores de prueba extremos en la población enferma. La parte superior derecha de la curva, en la cual tanto la tasa positiva verdadera como la positiva falsa son altas, corresponde a valores de prueba representativos en la población no enferma. Para valores de prueba intermedios, una buena prueba debe tener una sensibilidad alta

(tasa positiva verdadera alta) y una especificidad alta (tasa positiva falsa baja) y formará una curva COR con puntos cerca de la esquina superior izquierda de la gráfica. La curva A corresponde a tal prueba. La prueba representada mediante la curva B, en la cual la tasa positiva falsa es igual a la tasa positiva verdadera, no transmite información de diagnóstico útil. Cada vez más evaluaciones clínicas de pruebas diagnósticas se presentan en la forma de curvas COR. La NCCLS ha publicado normas para pruebas de laboratorio de evaluación clínica, incluso una guía completa para curvas COR.¹⁹

En la figura 3-15 se muestra la curva COR de los datos de PSA de la figura 3-13. También las concentraciones de PSA a las que se calculó la sensibilidad y especificidad. Se puede ver que ningún valor de PSA ofrece tanto sensibilidad alta como especificidad alta. En la actualidad los urólogos recomiendan una variante más específica de la prueba de PSA: el porcentaje de PSA libre.²⁰

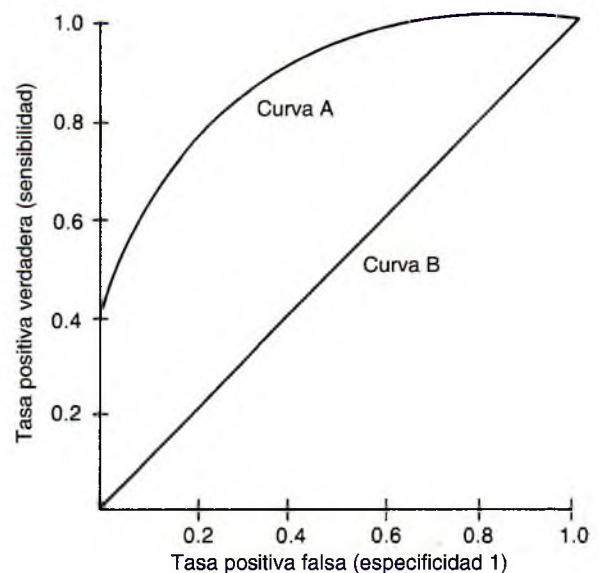


FIGURA 3-14. Curvas COR. La curva A corresponde a una prueba con separación entre los pacientes enfermos y no enfermos. La curva B corresponde a una prueba que no proporciona más información.

CUADRO 3-4. DEPENDENCIA DEL VALOR PREDICTIVO EN LA PREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD*

PREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD	PV ⁺
0.001	0.1%
0.01	1.5%
0.10	14.0%
0.2	26.8%
0.5	59.4%

*Sensibilidad = 79%; especificidad = 46%.

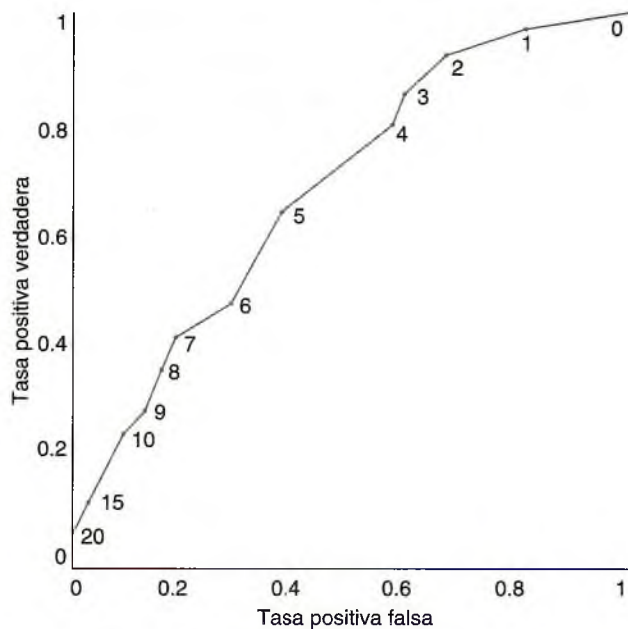


FIGURA 3-15. Curva COR para PSA (ensayo Hybritech Tandem) para el diagnóstico de cáncer de próstata. (Adaptada de Catalona WJ, Richie JP, deKernion JB y col. Comparación de la concentración de antígeno prostático específico contra densidad de antígeno prostático específico en la detección temprana de cáncer de próstata: curvas características de operación del receptor. *J Urol* 1994;152:2031.)

MÉTODO DE SELECCIÓN Y EVALUACIÓN

Método de selección

Antes de que se introduzca al laboratorio una nueva prueba o metodología, se debe reunir y considerar de manera cuidadosa la información administrativa y técnica. La información se debe recopilar de muchas fuentes distintas, incluso del fabricante y los representantes de ventas, colegas, presentaciones científicas y publicaciones. La información administrativa debe incluir costo del instrumento, rendimiento, volumen de muestra, requisitos de personal, costo por prueba, tipos de muestras, tamaño del instrumento y requisitos de energía y ambientales. La información técnica debe incluir sensibilidad analítica, especificidad analítica, límite de detección, alcance lineal, sustancias interferentes y estimaciones de imprecisión e inexactitud.

La *sensibilidad analítica* o *límite de detección* se refiere a la concentración más pequeña que se puede medir con exactitud. Un grupo profesional ha definido el *límite de detección* como igual a tres veces la desviación estándar del blanco, o bien como el lugar localizado tres desviaciones estándar arriba del blanco medido.²¹ La *especificidad* se refiere a la capacidad del método para medir sólo el analito de interés. El *alcance lineal* (denominado a veces *alcance analítico* o *dinámico*) es el intervalo de concentración en el que la concentración medida es igual a la concentración real sin modificación del método. Mientras más amplio sea el alcance lineal, menos frecuentes serán las diluciones de

la muestra. Las estimaciones de la inexactitud de los instrumentos se puede obtener estudiando los resúmenes de programas de análisis de capacidad que usan plasma nuevo o suero (se pueden hacer comparaciones engañosas a partir de programas de capacidad que analizan producto liofilizado reconstituido). Las estimaciones de imprecisión intrainstrumento están disponibles de informes de resumen que proporcionan los vendedores de productos de control de calidad.

Método de evaluación

Cuando se lleva un método o instrumento al interior de la organización, el laboratorista debe volverse hábil en su uso. Con antelación a la evaluación completa, se debe practicar una evaluación inicial, breve. Esta evaluación preliminar debe incluir el análisis de una serie de *estándares* para comprobar el alcance lineal y el análisis de duplicado (por lo menos 8 instrumentos) de dos controles para obtener estimaciones de imprecisión de corto plazo. Si algunos resultados no alcanzan las especificaciones publicadas en la hoja de información de producto del método (prospecto), se debe consultar a quién elaboró el método. Sin mejora en éste, carecen de sentido evaluaciones más amplias.²² En la figura 3-16 se muestra una forma simple de introducción de datos que se puede usar para simplificar la recolección de datos de evaluación del método.

Cuando se reúnen datos de evaluación de método, la imprecisión e inexactitud de un método se estiman y comparan con el error máximo permisible, el cual por lo común se basa en criterios médicos. Si la imprecisión o inexactitud excede este error máximo permisible, se considera que el método es inaceptable, y se debe modificar y evaluar de nuevo o rechazar. La *imprecisión*, la dispersión de mediciones repetidas respecto de la media, se debe a la presencia de error analítico aleatorio. La imprecisión se estima a partir de estudios en los que las alícuotas de una muestra con una concentración constante de analito se examinan de manera repetida. La *inexactitud*, la diferencia entre un valor medido y su valor verdadero, se debe a la presencia de error analítico sistemático, que puede ser constante o proporcional. La inexactitud se puede estimar a partir de tres estudios: recuperación, interferencia y un estudio de métodos de comparación.

Medición de la imprecisión

El primer paso en la evaluación del método es el estudio de *precisión*. Este estudio estima el error aleatorio relacionado con el método de prueba y señala algunos problemas que afectan la reproducibilidad. Se recomienda que este estudio se realice en un período de 10 a 20 días, incorporando una o dos ejecuciones analíticas por día.^{23,24} Una *ejecución analítica* se define como un grupo de muestras de pacientes y materiales de control que son analizados, evaluados y descritos juntos. La imprecisión se debe medir a más de una concentración, con materiales de control que abarcan el intervalo de concentraciones con sentido clínico. Por

COMPARACIONES ENTRE PACIENTES:

MÉTODO COMPARATIVO: _____

MÉTODO DE PRUEBA _____

ALCANCE MEDIO				ALCANCE BAJO				ALCANCE ALTO			
	FECHA	COMP.	PRUEBA		FECHA	COMP.	PRUEBA		FECHA	COMP.	PRUEBA
1				31				61			
2				32				62			
3				33				63			
4				34				64			
5				35				65			
6				36				66			
7				37				67			
8				38				68			
9				39				69			
10				40				70			
11				41				71			
12				42				72			
13				43				73			
14				44				74			
15				45				75			
16				46				76			
17				47				77			
18				48				78			
19				49				79			
20				50				80			
21				51				81			
22				52				82			
23				53				83			
24				54				84			
25				55				85			
26				56				86			
27				57				87			
28				58				88			
29				59				89			
30				60				90			

LINEALIDAD

	A	B	C	D	E
OBJETIVO					
1					
2					
3					
MEDIDA					

PRECISIÓN:

	BAJA	MEDIA	ALTA
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
X			
SD			
CV			

PRODUCTO DE CONTROL: _____

I: _____

II: _____

III: _____

	FECHA	I	II	III
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
X				
DE				
CV				

FIGURA 3-16. Formulario de introducción de datos para el experimento de evaluación de métodos. (Cortesía de Kristen Lambrecht.)

ejemplo, la glucosa se debe estudiar en los hipoglucémicos (~50 mg/dl) e hiperglucémicos (~150 mg/dl).

Una vez que se reúnen los datos de precisión, se calcula la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación. El error aleatorio, o imprecisión, relacionado con el procedimiento de prueba se indica mediante la desviación estándar y el coeficiente de variación. La imprecisión dentro de la ejecución se indica mediante la desviación estándar de los controles analizados dentro de una ejecución. La imprecisión total se puede obtener de la desviación estándar de datos de control con uno o dos puntos de datos acumulados por día. Se puede usar una técnica estadística, análisis de varianza, para analizar todos los datos de precisión disponibles para proveer estimaciones de la

imprecisión dentro de la ejecución, entre ejecuciones y total.²⁵

Medición de la inexactitud

Cuando se estima y considera adecuada la imprecisión de corto plazo del método, pueden empezar los experimentos de exactitud.²⁴ La *exactitud* se puede estimar de tres maneras: recuperación, interferencia y estudios de comparación de muestras de pacientes. El fabricante debe llevar a cabo y documentar los estudios de recuperación e interferencia. Debido a que estos dos tipos de estudios pueden ser prohibitivos en términos de esfuerzo y materiales, por lo general se realizan en laboratorios clínicos más grandes. Los expe-

rimentos de recuperación mostrarán si un método mide todo o sólo parte del analito. En un experimento de recuperación, se prepara una muestra de prueba añadiendo una alícuota pequeña de analito concentrado en diluyente a la muestra del paciente. Otra muestra del paciente se diluye añadiendo el mismo volumen de diluyente solamente. Ambas muestras diluidas se analizan entonces mediante el método de prueba. La cantidad recuperada es la diferencia entre los dos valores medidos. Se debe tener cuidado de asegurar que las muestras originales del paciente se diluyan no más de 10%; de esta manera, la matriz de disolución de las muestras es afectada en forma mínima. El método comparativo se puede usar también para medir las muestras diluidas²⁴ y, por tanto, asegurar la preparación apropiada de la muestra. En el cuadro 3-5 se da un ejemplo de un cálculo de recuperación para la muestra; los resultados se expresan como porcentaje recuperado.

El experimento de interferencia se usa para medir errores sistemáticos debidos a sustancias distintas del analito. Un material interferente puede causar varios errores sistemáticos en varias formas. El interferente puede reaccionar con el reactivo analítico o puede modificar la reacción entre el analito y los reactivos analíticos. La hemólisis y la turbidez pueden oscurecer la absorbancia del analito medido. En el experimento de interferencia,²⁶ el interferente potencial se agrega a la muestra del paciente. En el cuadro 3-6 se muestra un cálculo de interferencia. La concentración del material en potencia interferente debe estar en el intervalo de máxima concentración. Si se observa un efecto, su concentración se debe disminuir para descubrir la concentración a la que los resultados de prueba se invalidan primero. Los materiales por probar se deben seleccionar de revisiones de publicaciones y referencias recientes específicas del

método. Young¹⁷ y Siest y Galteau²⁸ han publicado listados extensos de los efectos de fármacos en pruebas de laboratorio. Las interferencias comunes (como hemoglobina, lípidos, bilirrubina, anticoagulantes y conservadores) también deben ser probados por el fabricante. Glick y Ryder^{29,30} han presentado “interferogramas” para varios instrumentos de química, estas gráficas relacionan la concentración medida del analito contra la concentración interferente. Ellos han demostrado que decenas de miles de dólares de corrección del trabajo se pueden ahorrar mediante la adquisición de instrumentos que reducen al mínimo la interferencia de hemoglobina, triglicérido y bilirrubina.³¹

Experimento de comparación de métodos

En un estudio de comparación de métodos, las muestras del paciente se analizan mediante el método que está siendo evaluado (método de prueba) y uno comparativo. La calidad del método comparativo afectará la interpretación de los resultados experimentales. El mejor método comparativo es el *método de referencia*; un método con inexactitud insignificante en comparación con su imprecisión. Los métodos de referencia pueden ser laboriosos y tardados (como el método de referencia para colesterol). Debido a que la mayor parte de los laboratorios carecen del personal y equipo para llevarlos a cabo, los resultados del método de prueba se comparan por lo general con los del método de uso rutinario. El método rutinario tendrá ciertas inexactitudes, tanto conocidas como desconocidas, dependiendo de cuán bien las haya estudiado el laboratorio o qué tan bien esté documentado el método en las publicaciones. Si el método de prueba va a reemplazar al comparativo, se deben caracterizar bien las diferencias entre los dos métodos.

CUADRO 3-5. EJEMPLO DE UN ESTUDIO DE RECUPERACIÓN

Preparación de la muestra

Muestra 1: 2.0 ml de suero + 0.1 ml de H₂O

Muestra 2: 2.0 ml de suero + 0.1 ml de estándar de calcio de 20 mg/dl

Muestra 3: 2.0 ml de suero + 0.1 ml de estándar de calcio de 50 mg/dl

Concentración

	CALCIO MEDIDO	CALCIO AGREGADO	CALCIO RECUPERADO	% RECUPERACIÓN
Muestra 1	7.50 mg/dl			
Muestra 2	8.35 mg/dl	0.95 mg/dl	0.85 mg/dl	89
Muestra 3	9.79 mg/dl	2.38 mg/dl	2.29 mg/dl	96

Cálculo de recuperación

$$\text{Concentración agregada} = \text{concentración del estándar} \times \frac{\text{ml de estándar}}{\text{ml de estándar} + \text{ml de suero}}$$

$$\text{Concentración recuperada} = \text{concentración (prueba diluida)} - \text{concentración (base)}$$

$$\text{Recuperación} = \frac{\text{concentración recuperada}}{\text{concentración añadida}} \times 100\%$$

CUADRO 3-6. EJEMPLO DE UN ESTUDIO DE INTERFERENCIA**Preparación de la muestra***Muestra 1:* 1.0 ml de suero + 0.1 ml de H₂O*Muestra 2:* 1.0 ml de suero + 0.1 ml de estándar de magnesio de 10 mg/dl*Muestra 3:* 1.0 ml de suero + 0.1 ml de estándar de magnesio de 20 mg/dl

	CALCIO MEDIDO	MAGNESIO AGREGADO	INTERFERENCIA
<i>Muestra 1</i>	9.80 mg/dl		
<i>Muestra 2</i>	10.53 mg/dl	0.91 mg/dl	0.73 mg/dl
<i>Muestra 3</i>	11.48 mg/dl	1.81 mg/dl	1.68 mg/dl

Cálculo de interferencia

$$\text{Concentración agregada} = \text{concentración del estándar} \times \frac{\text{ml de estándar}}{\text{ml de estándar} + \text{ml de suero}}$$

$$\text{Interferencia} = \text{concentración (prueba diluida)} - \text{concentración (base)}$$

Westgard y col.²⁴ y la NCCLS³² recomendaron que con ambos métodos se ejecuten entre 40 y 100 muestras, pero se deberá abarcar el alcance clínico y representar muchas condiciones patológicas diferentes. Se recomiendan análisis por duplicado de cada muestra con cada método. Las muestras duplicadas se analizarán en ejecuciones distintas y en orden de análisis distinto en las dos ejecuciones. El análisis mediante ambos métodos se debe efectuar el mismo día, de preferencia dentro de 4 horas.

Si no se analizan los duplicados, la validez de los resultados experimentales se debe comprobar al comparar los resultados de los métodos de prueba y comparativo después del análisis, identificando las muestras con diferencias grandes y, si es necesario, repitiendo el análisis. Si se comparan 40 muestras, dos a cinco se deben analizar diario durante un mínimo de 8 días. Si se comparan 100 muestras, el estudio de comparación se debe llevar a cabo durante el estudio de replicación de 20 días.

Una gráfica de los datos del método de prueba (graficados en el eje y) contra los datos del método comparativo (graficados en el eje x) ayuda a ver los datos de comparación de métodos (fig. 3-5). Los datos se deben graficar diario y además es necesario inspeccionar la linealidad y los valores atípicos. De esta manera, las muestras originales pueden estar disponibles para volver a analizarlas. La confirmación visual de la linealidad suele ser adecuada; sin embargo, tal vez en algunos casos sea necesario evaluar la linealidad de manera más cuantitativa.³³ Muchos analistas han empleado la prueba *F*, la prueba *t* por pares y el coeficiente de correlación para la interpretación de los datos experimentales. La prueba *F* se usa para comparar la magnitud de la imprecisión del método comparativo. La prueba *t* por pares se emplea para comparar la magnitud del sesgo (la diferencia entre las medias de la prueba y la del método comparativo) con la del error aleatorio. Tanto la prueba *F* como la prueba *t* indican sólo si existe una diferencia estadística significativa entre las dos desviaciones estándar o medias, de manera respectiva. Las pruebas

no proporcionan información acerca de la magnitud del error existente en relación con los límites de error clínicamente permisibles.⁶

A pesar de las advertencias regulares acerca del mal uso del coeficiente de correlación *r*, los laboratoristas lo siguen usando como un indicador de la aceptabilidad del método de prueba. El valor de *r* se puede incrementar si aumenta el alcance de las muestras de pacientes. La aplicación principal del coeficiente de correlación en estudios de evaluación de métodos debe ser para determinar el tipo de análisis de regresión que se usará. Si el coeficiente de correlación es 0.99 o mayor, el alcance de muestras de pacientes es adecuado para el análisis de regresión lineal estándar descrito en la sección de estadísticas. Si *r* es menor que 0.99, entonces se debe usar otro análisis de regresión.^{1,34,35} El análisis de regresión lineal es por mucho más útil que la prueba *t* o la prueba *F* para evaluar datos de comparación de métodos.⁶ El error sistemático constante se puede estimar a partir de la ordenada al origen y, el error sistemático proporcional de la pendiente, y el error aleatorio del error sistemático de la estimación ($s_{y/x}$). Si hay una relación no lineal entre los valores de prueba y comparativo, entonces la relación lineal sólo se puede usar en el alcance lineal. Debido a que los puntos atípicos son ajustados en gran medida en una regresión lineal, es importante asegurar que estos puntos atípicos sean genuinos y no resultado de error de laboratorio.

Cuando se calculan todas las estimaciones de imprecisión e inexactitud, se comparan con límites predefinidos o error analítico médicamente permisible.¹⁶ Si el error aleatorio y el error sistemático son más pequeños que el error permisible, el desempeño se considera aceptable. Si el error es más grande que el error permisible, se deben reducir los errores o rechazar el método.

El error analítico permisible representa el error total e incluye componentes del error aleatorio y del sistemático. Se han empleado muchos métodos para estimar el error médicamente permisible, incluso usar múltiplos del inter-

CUADRO 3-7. ESTÁNDARES DE DESEMPEÑO PARA ANALITOS DE QUÍMICA CLÍNICA COMUNES SEGÚN LA DEFINICIÓN CLIA⁴¹

Calcio, total	Objetivo ± 1.0 mg/dl
Cloruro	Objetivo ± 5%
Colesterol, total	Objetivo ± 10%
Colesterol, HDL	Objetivo ± 30%
Glucosa	Mayor que el objetivo ± 6 mg/dl o ± 10%
Potasio	Objetivo ± 0.5 mmol/L
Sodio	Objetivo ± 4 mmol/L
Proteínas totales	Objetivo ± 10%
Triglicéridos	Objetivo ± 25%
Nitrógeno ureico	Mayor que el objetivo ± 2 mg/dl o ± 9%
Ácido úrico	Objetivo ± 17%

valo de referencia,¹² emplear opiniones de patólogos,³⁸ y variación fisiológica.^{39,40} Bajo la ley federal, las enmiendas de 1988 para el mejoramiento del laboratorio clínico (*Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, CLIA 88*), la Administración de financiamiento de atención de la salud (*Health Care Financing Administration, HCFA*) ha publicado errores permisibles para una serie amplia de pruebas de laboratorio clínico.⁴¹ Aunque los límites de error permisible CLIA se emplean para especificar el error máximo permisible en *pruebas de competencia* por orden federal, estos límites se utilizan ahora como guías para determinar la aceptabilidad de analizadores de química clínica.^{42,43} En el cuadro 3-7 se muestran los límites CLIA para pruebas de química clínica comunes. Westgard y col³⁶ han recomendado dos conjuntos distintos de criterios para la evaluación del error: criterios de *intervalo de confianza* y de un solo valor. Como resultado de la complejidad de los criterios de intervalo de confianza, se refiere al lector a la descripción original.⁴⁴ Los criterios de un solo valor se encuentran en el cuadro 3-8. Al usar los criterios de un solo valor, las estimaciones del error

CUADRO 3-8. CRITERIOS DE VALOR SIMPLE DE WESTGARD Y COL⁵⁸

ERROR ANALÍTICO	CRITERIO
Error aleatorio (EA)	$2.58 s < E_A$
Error proporcional (EP)	$ (\text{Recuperación} - 100) \times X_0/100 < E_A$
Error constante (EC)	$ \text{Sesgo} < E_A$
Error sistemático (ES)	$ (y_0 + mX_c) - X_0 < E_A$
Error total (ET = EA + ES)	$2.58 s + (y_0 + mX_c) - X_c < E_A$

E_A = error médicamente permisible.
 X_c = concentración crítica.

aleatorio y el sistemático se calculan y luego se comparan con el permisible. Las estimaciones del error dependen de la concentración medida del analito y, por lo general, se calculan a concentraciones críticas del analito. Al aplicar estos criterios de desempeño, los errores analítico y aleatorio deben ser menores que el permisible para que un método se juzgue como aceptable. De lo contrario, se debe rechazar o modificar el método analítico para reducir el error. Como un último criterio, Westgard y col³⁶ sugieren un criterio de error total, que combina los componentes aleatorio y sistemático del error, para estimar la magnitud del error que se puede esperar cuando se mide una muestra del paciente. El uso de los criterios de un solo valor se ilustra en el cuadro 3-9, en el cual el potasio de sangre completa medido mediante un método de lugar de atención se compara con el potasio plasmático del laboratorio central. El experimento de evaluación de métodos para esta comparación se grafica en la figura 3-5. El límite de error CLIA para el potasio es 0.5 mmol/L.

En la actualidad, hay desacuerdo en relación con la selección del multiplicador de la desviación estándar en el cálculo del error aleatorio. Westgard y col, sugirieron al principio 1.96, que permite que 5% de observaciones queden fuera de los límites de error permisible. La elección de un multiplicador un poco más grande permitiría considerar pocos valores atípicos; por ejemplo, si el multiplicador fuera 2.58, no más de 1% de las observaciones podrían quedar fuera de los límites de error permisible. Las reglamentaciones CLIA obligaron a los laboratoristas a reevaluar la proporción de valores atípicos aceptables que ellos aceptarían, los cuales caen fuera de los límites CLIA. Los laboratorios clínicos están en alto riesgo de no pasar la prueba de competencia si emplean analizadores que producen 5% de resultados que se desvían en más que los límites CLIA. Se recomienda a los laboratorios usar un multiplicador de por lo menos 2.58 para calcular el error aleatorio. Aunque algunos autores han propuesto multiplicadores tan altos como 4.0, la mayor parte de los instrumentos actuales no logran tal desempeño. Antes de que el uso de un método se vuelva rutinario, es necesario validar o incluso restablecer el intervalo de referencia del fabricante, escribir o actualizar el procedimiento y capacitar al personal en el uso del método. Se debe poner en práctica un programa de control de calidad para el procedimiento, usando los datos de control acumulados para establecer límites de control de calidad. Podría ser necesario ajustar los límites de control una vez que el procedimiento está en servicio rutinario.

Como resultado de las restricciones de personal, tiempo y presupuesto, un laboratorio podría ser incapaz de llevar a cabo experimentos completos de comparación de métodos en cada nuevo método introducido. Comprender los principios de evaluación del método y estar familiarizado con las pruebas estadísticas permitirá al supervisor del laboratorio elegir un método que es probable que se ajustaría a los criterios de desempeño del laboratorio.⁴⁵ Se podría emprender entonces una serie de experimentos abreviados para estimar la imprecisión y la inexactitud.³

El NCCLS publicó en fechas recientes normas para tal aplicación abreviada. Este protocolo, Demostración de

CUADRO 3-9. EJEMPLO DE LA APLICACIÓN DE LOS CRITERIOS DE VALOR SIMPLE DE WESTGARD Y COL³⁶ PARA DATOS DE EVALUACIÓN DE POTASIO*

1. Error aleatorio (EA) = 2.58 s.

El error aleatorio se estima de analizar un producto de control una vez al día durante 20 días.

$$\begin{aligned} X &= 5.5 \text{ mmol/L}, s = 0.07 \text{ mmol/L} \\ RE &= 2.58 \times s \\ &= 2.58 \times 0.07 \text{ mmol/L} \\ &= 0.18 \end{aligned}$$

Debido a que el $EA < E_A$, el EA es aceptable.

2. Error proporcional (EP) = $|(\text{Recuperación} - 100) \times (X_c/100)|$.

El error proporcional se estima de una serie de experimentos de recuperación, después de los cuales se calcula la recuperación promedio.

$$\begin{aligned} \text{Recuperación promedio de potasio} &= 99\% \\ EP &= |(99 - 100) \times (5.5/100)| \\ &= 0.05 \text{ mmol/L} \end{aligned}$$

3. Error constante (EC) = sesgo.

El error constante se estima del sesgo $|Y - X|$, derivado del experimento de comparación de métodos.

$$\begin{aligned} EC &= |Y - X| \\ &= |5.31 - 5.28| \\ &= 0.03 \text{ mmol/L} \end{aligned}$$

Debido a que $EC < E_A$, EC es aceptable.

4. Error sistemático (ES) = $|Y_o + mX_c - X_c|$.

El error sistemático se estima de la ecuación anterior en la cual Y_o y m se derivan de experimentos de comparación de métodos (fig. 3-5).

$$\begin{aligned} Y_o &= -0.057, m = 1.02 \\ ES &= |(-0.057 + 1.02 \times 5.5) - 5.5| \\ &= |5.55 - 5.5| \\ &= 0.05 \end{aligned}$$

Debido a que $ES < E_A$, ES es aceptable.

5. Error total (ET) = EA + ES.

El error total se estima a partir de la suma de EA y ES como se calculó antes.

$$\begin{aligned} ET &= 0.18 + 0.05 \\ &= 0.23 \text{ mmol/L} \end{aligned}$$

Debido a que $ET < E_A$, el método es aceptable.

*El error permisible (E_A) para el potasio, definido según las regulaciones CLIA, es 0.5 mmol/L.

precisión y exactitud para el usuario, se puede usar para demostrar que un laboratorio puede obtener desempeño de precisión y exactitud coherente con las afirmaciones del fabricante. Debido a que estos estudios de precisión y exactitud se pueden completar en cinco días de trabajo, es probable que muchos laboratorios utilicen las normas para preparar nuevos métodos.

ASEGURAMIENTO Y CONTROL DE LA CALIDAD

El sistema de control de calidad es el sistema de laboratorio para reconocer y reducir al mínimo errores analíticos.^{46,47} El control de calidad es un componente del sistema de aseguramiento de la calidad, que ha sido definido como las acciones sistemáticas necesarias para proveer la confianza adecuada de que los servicios de laboratorio satisfarán necesidades médicas para la atención del paciente.⁴⁸ El sistema de aseguramiento de la calidad abarca factores preanalíticos, analíticos y posanalíticos. Las monografías *Laboratory Quality Management* (Cembrowski y Carey),⁴⁹ *Cost-Effective Quality Control* (Westgard y Barry)⁵⁰ y *Basic QC Practices* (Westgard)¹ proporcionan información detallada acerca de prácticas de control de calidad y aseguramiento de la calidad en el laboratorio de química clínica.

Hay muchos factores preanalíticos que pueden influir en los resultados analíticos, incluso la preparación del paciente, la recolección de la muestra, el manejo de ésta y el almacenamiento. Young proporciona las revisiones más completas de factores preanalíticos en pruebas de química.^{27,51} Los factores preanalíticos son difíciles de monitorear y controlar debido a que la mayor parte ocurren fuera del laboratorio. Los profesionales de la atención de la salud, en particular médicos y enfermeras, deben volverse más conscientes de la importancia de la preparación del paciente y cómo ésta puede afectar las pruebas de laboratorio. El laboratorio debe proveer instrucciones, en forma de un manual de procedimiento,⁵² para la preparación adecuada del paciente y la adquisición de la muestra. Este manual de procedimiento debe encontrarse en todas las unidades de enfermería y, por tanto, estar disponible para todo el personal médico. Además, para los pacientes externos deben estar disponibles folletos fáciles de entender.

Los procedimientos de recolección de muestras deben seguir normas específicas como las que establece la NCCLS.^{53,56} Los equipos de recolección de sangre deben ser instruidos de manera periódica acerca de las normas para la duración de aplicación de torniquetes y tipos de tubos de recolección de muestras y anticoagulantes que se emplearán. Los métodos de transporte de muestras, separación, preparación de alícuotas y almacenamiento son muy importantes.^{57,58} El tiempo transcurrido entre la extracción y la separación del suero o plasma de las células puede ser un factor en la prueba analítica. Por ejemplo, los leucocitos y eritrocitos metabolizan glucosa y causan una disminución estable en la concentración de glucosa en sangre coagulada no centrifugada. La centrifugación y la adición de alícuotas a recipientes secundarios podría ser muy importante.^{55,58} La contaminación de la muestra puede ocurrir en este punto, lo cual la hace subóptima para prueba analítica. Por ejemplo, los recipientes secundarios para muestras enviados para análisis de plomo deben ser limpiados de forma escrupulosa debido a la presencia ubicua del plomo y las bajas concentraciones de este elemento que se deben medir con exactitud.

El almacenamiento de la muestra puede originar errores en los resultados descritos. Para cada analito se deben establecer normas sobre los requisitos para muestras. Éstas podrían verse afectadas por la evaporación (p. ej., electrólitos), exposición a la luz (bilirrubina), refrigeración (lactato deshidrogenasa [LD]) y congelamiento. Los errores de copiado podrían ocurrir en cualquier etapa del procesamiento de las muestras. Aunque el uso de computadoras ha simplificado las tareas administrativas, una muestra podría ser confundida por otra. Es obvio que tales errores se deben reducir al mínimo.

El laboratorista puede al menos controlar los factores analíticos, que en primer lugar dependen de la instrumentación y los reactivos. Un programa de mantenimiento preventivo diario y mensual es esencial para cada pieza de equipo. Las comprobaciones de funcionamiento del instrumento efectuadas de modo rutinario deben ser detalladas en el manual de procedimiento y se debe documentar su desempeño. La NCCLS ha elaborado estándares para monitorear variables como la calidad del agua,⁵⁹ la calibración de balanzas analíticas, la calibración de material de vidrio volumétrico y pipetas, la estabilidad de la energía eléctrica,⁶⁰ y la temperatura de instrumentos controlados termostáticamente.⁶¹ Se debe anotar la fecha de cuándo se reciben los reactivos y cajas de accesorios, y también cuándo fueron abiertos. Los lotes nuevos de reactivos deben ser probados junto con los lotes de reactivos viejos antes de ser usados para el análisis.

Si los reactivos se van a usar como estándares o calibradores, es necesario emplear productos químicos de la más alta pureza, grado reactivo o grado *American Chemical Society* (ACS). Diferentes tipos de estándares están disponibles. Un *estándar primario* es una sustancia no higroscópica de alta pureza que puede ser secada, de preferencia a 104° a 110°C sin un cambio de composición. Así, los estándares primarios se pueden secar y después pesar para preparar soluciones de concentraciones seleccionadas. Cuando se compran, los estándares primarios son suministrados con un registro de análisis para elementos contaminantes, que no deben exceder 5% en peso. Algunos estándares han sido certificados como puros por varios cuerpos oficiales como el *National Institute for Standardization and Technology* (NIST) y el *College of American Pathologists* (CAP).

Un *estándar primario* es la sustancia de más alta pureza disponible en la actualidad que puede ser pesada con exactitud de manera analítica. Un *estándar secundario* es aquél cuya concentración suele determinarse mediante análisis por medio de un método de referencia aceptable que se calibra con un estándar primario. Su concentración no se puede determinar de manera directa a partir del peso del soluto y el volumen de la solución. Los calibradores se emplean en los procesos de calibración para establecer concentraciones de muestras de pacientes. Los materiales de calibración deben satisfacer los requisitos de identidad, etiquetado y desempeño de la norma NCCLS *Tentative Guideline for Calibration Materials in Clinical Chemistry* (C22).⁶² Siempre que sea posible, los calibradores deben tener sus concentraciones asignadas por el uso de méto-

dos de referencia u otros muy específicos. La respuesta analítica comparativa del calibrador y las muestras provee la base para calcular valores para muestras de pacientes. El mismo material no debe servir como calibrador y control.

El error de laboratorio se puede reducir al mínimo si se presta atención a los procedimientos y técnicas de laboratorio adecuados. El sistema de control de calidad para metodologías de prueba individuales se puede enfocar en el control de variables específicas de prueba. Los factores posanalíticos consisten en el registro e informe de datos del paciente al médico dentro del intervalo de tiempo apropiado. Con la automatización e informes de pacientes generados por computadora, la incidencia de errores en la fase posanalítica ha disminuido en gran medida.

Control de calidad

El propósito del sistema de control de calidad es monitorear procesos analíticos, detectar errores analíticos durante el análisis y evitar informar valores incorrectos del paciente. Los métodos analíticos se monitorean de forma normal al medir materiales de control estables y comparar después los valores medidos con su valor esperado. El presupuesto de laboratorio debe reflejar la importancia del control de calidad. El compromiso momentáneo es importante a fin de asegurar un sistema adecuado para el monitoreo y mejoramiento del desempeño del laboratorio. El sistema estadístico usado para interpretar las concentraciones medidas de controles se llama *sistema de control de calidad estadística*. A principios del siglo pasado Shewhart⁶³ estableció los principios de control de calidad estadísticos. En 1950, Levey y Jennings⁶⁴ emplearon estos mismos principios básicos cuando introdujeron el control de calidad estadístico al laboratorio clínico. Desde 1950, los sistemas de control de calidad estadístico en el laboratorio han experimentado muchas modificaciones.

El error analítico puede ser separado en componentes de error aleatorio y error sistemático (fig. 3-27). El *error aleatorio* afecta la precisión y es la base para variar diferencias entre mediciones repetidas. Los incrementos de error aleatorio pueden ser causados por variaciones en la técnica. El *error sistemático* surge de factores que contribuyen a una diferencia constante, ya sea positiva o negativa. El error sistemático puede ser causado por varios factores, incluso estándares o reactivos mal preparados, instrumentación defectuosa y procesos escritos de manera deficiente.

Los materiales de *control de calidad* se deben comportar como muestras reales, estar disponibles en cantidad suficiente para durar por lo menos un año, ser estables durante ese período, estar disponibles en volúmenes de viales convenientes y tener una variación mínima en concentración y composición de un vial a otro.⁶⁵ El material de *control* debe parecerse mucho a la muestra que está simulando tanto en el aspecto físico como químico. El material de control se debe probar de la misma manera que las muestras de pacientes. Los materiales de control deben abarcar el alcance clínicamente importante de las concentraciones de analitos. Los niveles de control deben estar en los niveles de decisión apropiados; por ejemplo,

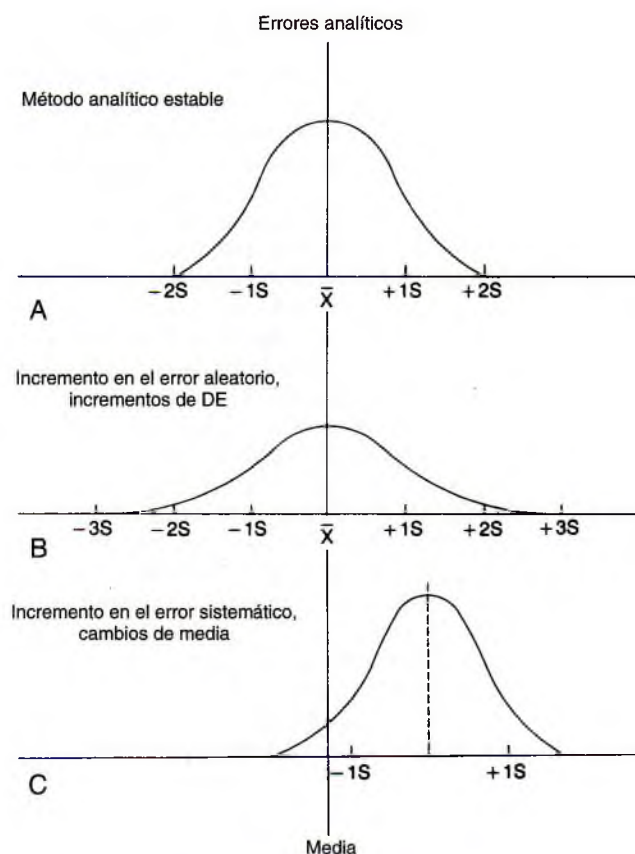


FIGURA 3-17. Representación esquemática de distribuciones de datos de control. (A) Situación sin ningún error analítico; (B) error incrementado aleatorio; (C) desplazamiento sistemático.

para el sodio, podrían estar en 130 y 150 mmol/L, niveles que definen hiponatremia e hipernatremia. Para control de calidad de química general, suelen emplearse dos niveles de control; para inmunoquímica, tres. El fabricante de controles puede evaluar sus controles con varios instrumentos y metodologías; luego, elaborar alcances objetivo disponibles para sus productos de control. Si bien estos controles “probados” son más caros, se pueden usar como comprobaciones externas para la exactitud.

Casi todos los materiales de control preparados de forma comercial son liofilizados y requieren reconstitución antes de usarse. En la reconstitución, el diluyente se debe agregar con cuidado y mezclar. El mezclado incompleto produce una partición del líquido sobrenadante y el sedimento subyacente, y dará como resultado valores de control incorrectos. Con frecuencia, el material reconstituido será más turbio que la muestra real del paciente. Los controles congelados estabilizados no requieren reconstitución pero pueden comportarse de manera diferente a las muestras de pacientes en algunos sistemas analíticos. Es importante evaluar con cuidado estos controles estabilizados con cualquier sistema de instrumentos nuevo.

En un tiempo, los laboratorios de química preparaban sus materiales de control.⁶⁶ Comparados con los controles

comerciales, estos materiales de control “hechos en casa” son más susceptibles a deterioro y contaminación. Es difícil reducir el riesgo de enfermedad infecciosa de esta clase de materiales. De vez en cuando, es necesario preparar mezclas de control para analitos seleccionados, como por ejemplo fármacos probados rara vez. Se deben seguir los procedimientos adecuados,⁶⁶ pero la tarea es más manejable porque se requieren cantidades mucho más pequeñas que para una mezcla para todo el laboratorio.

La mayor parte de los materiales de control se producen a partir de suero. Con mayor énfasis en la contención de costos, más laboratorios están usando materiales de control de bovino, que cuestan menos que los materiales de humano. La estabilidad de los materiales de control de bovino es similar a la de los materiales de humano. Para la mayor parte de los analitos, los materiales de bovino satisfacen los requisitos necesarios para monitorear la imprecisión.⁶⁷ Debido a que las proteínas de bovino difieren en gran medida de las proteínas humanas, el material de bovino es inapropiado para ensayos inmunoquímicos de proteínas específicas; también es inapropiado para algunos procedimientos de enlace con colorantes para albúmina y ciertos métodos de bilirrubina. El material de bovino se puede usar como un control en la electroforesis, pero su patrón electroforético difiere del de un suero de control humano y se asemeja a una gammapatía policlonal.

Operación general de un sistema de control de calidad estadístico

El sistema de control de calidad estadístico en el laboratorio clínico se emplea para monitorear y controlar las variaciones analíticas que ocurren durante la prueba. En ciertos casos, estas variaciones pueden ser sistemáticas y son causadas por errores de procedimiento debidos a la técnica, instrumentación o fallas de reactivos u otros materiales. En otros casos, sin embargo, podrían aparecer cada vez más variaciones aleatorias a pesar de métodos analíticos bien calibrados, controlados de manera estricta.

El programa de control de calidad estadístico se puede considerar como un proceso de tres etapas:

1. Establecer límites estadísticos permisibles de variación para cada método analítico.
2. Usar estos límites como criterios para evaluar los datos de control de calidad generados para cada prueba.
3. Tomar la acción correctiva cuando sea indicado (como hallar causas de errores, rectificarlos y reanalizar datos de control y del paciente).

Para establecer el control de calidad estadístico en un nuevo instrumento o nuevos lotes de material de control, los distintos niveles de material de control se deben analizar entre 5 y 20 días. Para ensayos que son muy precisos ($CV \leq 1\%$) como los gases sanguíneos, 5 días son adecuados; para ensayos menos precisos se necesitan 10 a 20 días. Después, se calculan las medias (\bar{x}) y las desviaciones estándar (s) de estos datos de control. Debido al pequeño número de observaciones y posibles valores

atípicos en los nuevos datos de control, estas estimaciones iniciales podrían no ser del todo confiables y se deben revisar a medida que se tienen más datos. Al cambiar a un nuevo lote de material similar, muchos laboratoristas utilizan la media recién obtenida como el objetivo pero retienen la desviación estándar previa empleada. Conforme se obtienen más datos, todos se deben promediar para derivar las mejores estimaciones de la media y la desviación estándar.⁶⁸

Los valores de control pueden ser comparados de forma numérica o visual con límites estadísticos en una gráfica de control. Esta gráfica es simplemente una extensión de la curva de distribución gaussiana (fig. 3-18), con el tiempo expresada en el eje x. El eje y por lo general se gradúa para proveer concentraciones hechas de $\bar{x} - 3s$ a $\bar{x} + 3s$. Las líneas horizontales que corresponden a múltiplos de s se trazan alrededor del eje x. Las líneas $2s$ corresponden a los límites de 95.5% para el control. Si el proceso analítico está bajo control, casi 95% de los puntos estarán dentro de estos límites y alrededor de 5% de los puntos estarán fuera de estos límites. Los límites $3s$ corresponden a casi los límites de 99.7%. Si el proceso está bajo control, no más de 0.3% de los puntos estarán fuera de los límites $3s$. Se considera que un método analítico está bajo control cuando hay distribución simétrica de valores de control respecto de la media y hay pocos valores de control fuera de los límites de control $2s$. Algunos laboratorios definen que un método analítico está fuera de control si un valor de control cae fuera de sus límites $2s$. Otros laboratorios han empleado los límites $2s$ como límites de advertencia y los $3s$ como límites de error. Para estos laboratorios, un valor de control entre $2s$ y $3s$ alertaría al tecnólogo de un posible problema. Un punto fuera de los límites $3s$ requeriría acción correctiva.

Se han empleado criterios diferentes para juzgar si los resultados de control indican situaciones fuera de control. Westgard y Grothave estudiaron las capacidades de detección de errores de la mayor parte de estos criterios.⁶⁹ Ellos emplearon el término *regla de control* para indicar el criterio para juzgar si el proceso analítico está fuera de control. Para simplificar la comparación de los distintos valores de control, Westgard y asociados emplearon abreviaciones para las diferentes reglas de control. En el cuadro

3-10 se emplearon de manera frecuente reglas de control y sus abreviaturas. Las abreviaturas tienen la forma A_L , donde A es un símbolo para una estadística o es el número de observaciones de control por ejecución analítica y L es el límite de control.⁷⁰ por ejemplo, una violación de regla 1_{2s} indica la situación en la cual una observación de control está fuera de los límites $\bar{x} \pm 2s$. Una *ejecución analítica* se define como un conjunto de muestras de control, y del paciente, probadas, evaluadas y descritas juntas.

De manera ideal, si un método está bajo control, ninguna de las reglas de control debe ser violada y no debe haber rechazo de la ejecución analítica. Desafortunadamente, algunas ejecuciones analíticas serán rechazadas como fuera de control aun cuando no haya error analítico adicional. Por ejemplo, cuando se usa la regla de control 1_{2s} con un solo control que se analiza por ejecución analítica, entonces 5% de las ejecuciones estarán fuera de los límites $2s$ cuando sólo la variación analítica está presente. Cuando más de un control es analizado por ejecución analítica y no se presenta un error adicional, existe una probabilidad alta de que por lo menos un control estará fuera de los límites $2s$. Cuando se usan dos controles, hay casi una probabilidad de 10% de que por lo menos un control quede fuera de los límites $2s$; cuando se usan cuatro controles, hay una probabilidad de 17%. Por esta razón, muchos analistas no investigan el método analítico si un solo control excede los límites $2s$ cuando se usan dos o más controles. Ellos sólo reanalizan los controles o toda la ejecución analítica.

Desafortunadamente, este método intuitivo para el control de calidad logra un nivel desconocido de calidad. Lo que se necesita es un sistema que señale de manera confiable la presencia de error analítico significativo pero que responda a errores pequeños. Definir tal sistema de control requiere comprender la respuesta de las reglas de control al error analítico.

Respuesta de las reglas de control al error

Westgard y asociados⁶⁹ han estudiado la respuesta de la reglas de control, ya sea por separado o en grupos, a la presencia de error sistemático o aleatorio. Los diferentes procedimientos de control (grupos de reglas de control) tienen

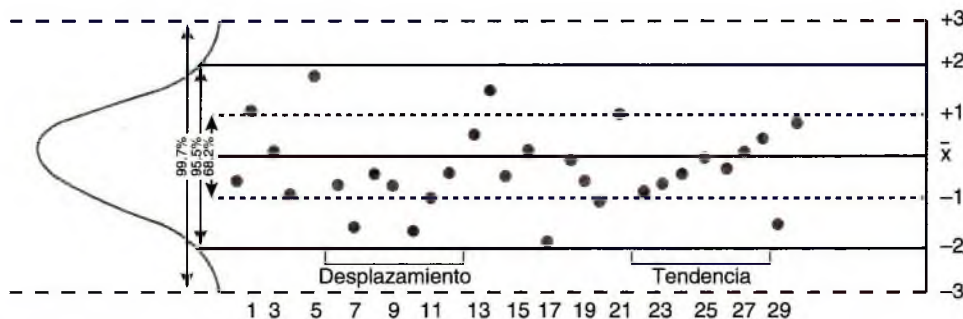


FIGURA 3-18. Gráfica de control que muestra la relación de límites de control con la distribución gaussiana. Se grafican los valores de control diarios, y muestran ejemplos de un desplazamiento, un cambio abrupto en el proceso analítico y una *tendencia*, un cambio gradual en el proceso analítico.

CUADRO 3-10. REGLAS DE CONTROL COMUNES

1_{2s}	Empléela como un rechazo o advertencia cuando una observación de control excede los límites de control $\bar{x} \pm 2s$; por lo regular se emplea como una advertencia	Se emplea en exceso. Sólo se debe usar con ensayos manuales con pocos analitos o materiales de control.
1_{3s}	Rechace una ejecución cuando una observación de control excede los límites de control $\bar{x} \pm 3s$	Detecta el error aleatorio y errores sistemáticos grandes
2_{2s}	Rechace una ejecución cuando dos observaciones de control consecutivas están del mismo lado de la media y exceden los límites de control $\bar{x} + 2s$ o $\bar{x} - 2s$	Detecta error sistemático
4_{1s}	Rechace una ejecución cuando cuatro observaciones de control consecutivas están del mismo lado de la media y exceden los límites de control $\bar{x} + 1s$ o $\bar{x} - 1s$	Detecta error sistemático pequeño; muy pocas aplicaciones
$10_{\bar{x}}$	Rechace una ejecución cuando diez observaciones de control consecutivas están del mismo lado de la media	Detecta errores muy pequeños; no se use
R_{4s}	Rechace una ejecución si el alcance o diferencia entre la observación de control máxima y mínima de entre las 4 a 6 observaciones de control excede $4s$	Detecta errores aleatorios; empléela dentro de la ejecución
$\bar{x}_{0.01}$	Rechace una ejecución si la media de por lo menos N observaciones de control excede los límites de control que dan una frecuencia de 1% de rechazo falso ($P_{fr} = 0.01$)	Subutilizada
$R0.01$	Rechace una ejecución si el rango de por lo menos N observaciones de control excede los límites de control que dan una frecuencia de 1% de rechazo falso ($P_{fr} = 0.01$)	Subutilizada

s, desviación estándar; \bar{x} , media.

respuestas distintas, dependiendo de las reglas de control y el número de observaciones de control (n) empleadas. Westgard y Groth⁷¹ simularon el análisis de materiales de control mediante instrumentos con distintos niveles de error. Se realizaron un gran número de simulaciones en cada nivel de error, con la proporción de situaciones fuera de control tabuladas y graficadas después contra el tamaño del error. Las gráficas resultantes, que ilustran la probabilidad de rechazo contra el tamaño del error analítico, se llaman *funciones exponenciales*. De manera ideal, una regla de control debe tener una probabilidad de 0% de detectar errores pequeños y una probabilidad de 100% de detectar error significativo. En la figura 3-19A se muestra una gráfica de una familia de funciones exponenciales para la detección de error sistemático mediante la regla de control 1_{2s} . La probabilidad de rechazo se grafica contra el tamaño del error sistemático. El tamaño del error sistemático varía de 0 a $5s$, donde s es la desviación estándar. Las diferentes líneas corresponden a distintos números de controles analizados. Cuando se emplea un control y no hay error, la probabilidad de rechazo en ausencia de error es casi de 5%. La probabilidad de rechazo cuando no está presente ningún error se llama probabilidad de rechazo falso (P_{fr}). La probabilidad de detección de error (P_{ed}) es la probabilidad de rechazar una ejecución analítica como fuera de control cuando existe un error. La P_{ed} se puede determinar para cualquier tamaño de error al rechazar el tamaño del error en un eje y erigir una línea vertical que interseca la curva de función exponencial para la n deseada. De esta intersección, se traza una línea horizontal hasta el eje y . El valor de

la probabilidad en el eje y es la P_{ed} . En la figura 3-19A, P_{ed} para la regla de control 1_{2s} y un error sistemático de $2s$ es 0.5 si se analiza un control. Las gráficas de función exponencial se pueden usar para determinar la efectividad de varios procedimientos de control en la detección de errores analíticos. Se requieren dos conjuntos de funciones exponenciales, uno para el error sistemático (desplazamiento de la media) y uno para el error aleatorio (incremento en la imprecisión). En la figura 3-19B se muestra una familia de funciones exponenciales para la detección de error aleatorio mediante la regla de control 1_{2s} . Debido a que los procesos analíticos siempre contienen error aleatorio, el eje x se origina en $1s$. En la figura 3-19B, P_{ed} para la regla de control 1_{2s} y una duplicación del error aleatorio es 0.3 si se analiza un control. El mejor procedimiento de control es el que tiene la menor P_{fr} y la mayor P_{ed} para detectar errores analíticos de un tamaño que puede comprometer la calidad de los resultados analíticos. En la figura 3-19 se muestra la función exponencial para procedimiento ideal. Aunque la regla de control 1_{2s} da como resultado una alta detección de errores sistemáticos de tamaño moderado, su P_{fr} es tan alta que resulta inaceptable. La figura 3-20A y B muestra las funciones exponenciales para la regla de control 1_{3s} para error sistemático y aleatorio, respectivamente. La regla de control 1_{3s} da menor respuesta a incrementos moderados en el error sistemático pero tiene una P_{fr} baja.

Westgard y asociados han sugerido una aplicación manual de una combinación de reglas de control con por lo menos dos observaciones de control por ejecución analítica.⁶⁸ Además de usar la regla 1_{2s} como una regla de

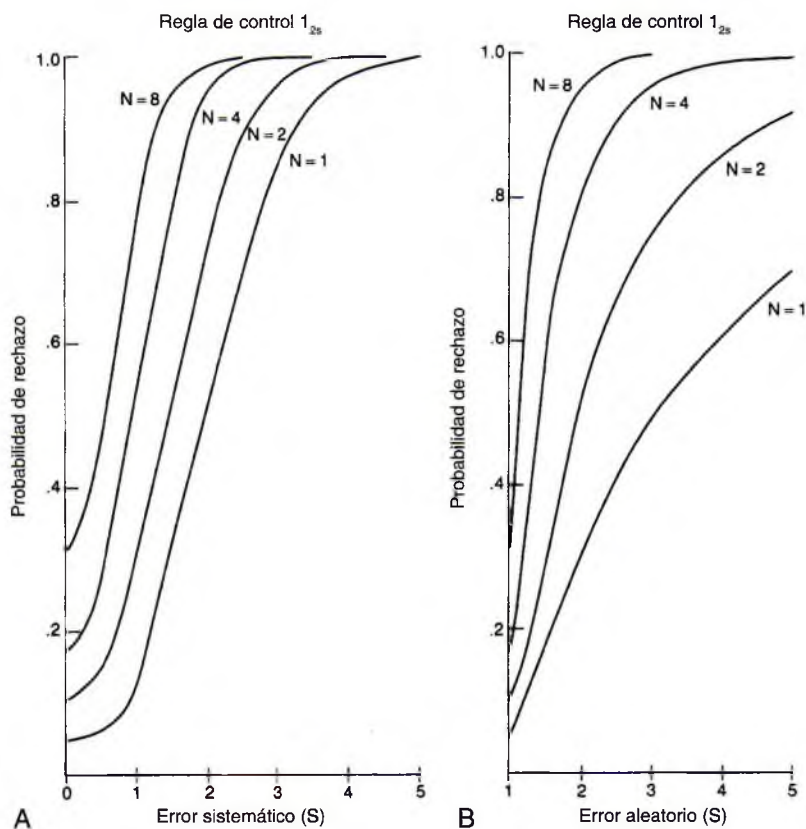


FIGURA 3-19. Curvas de función exponencial para la regla de control $1_{.25}$ para el error sistemático (A) y error aleatorio (B). (Proporcionada por P. Douville.)

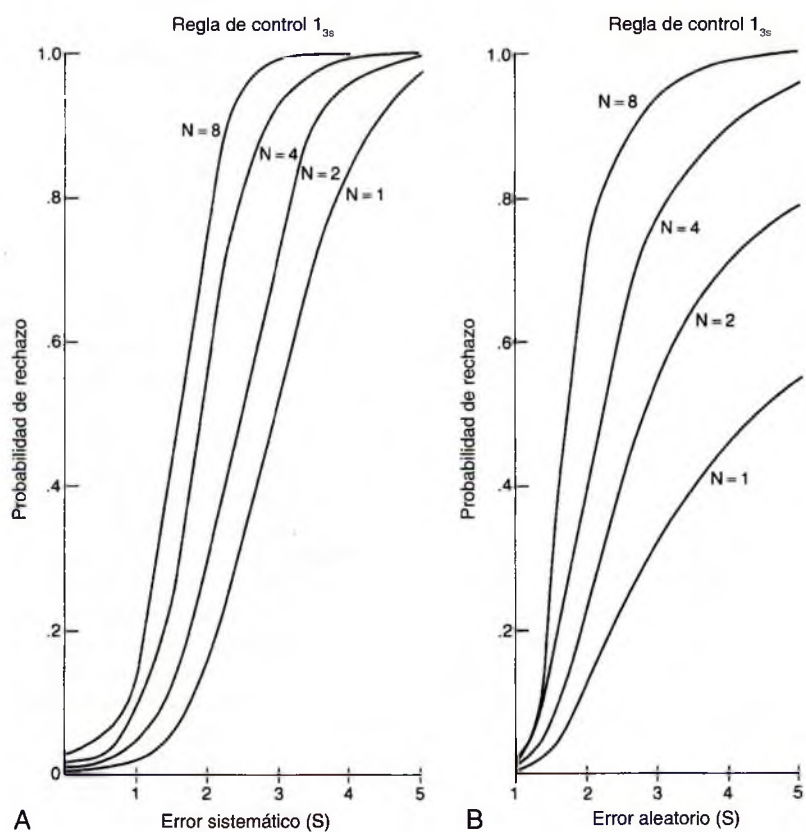


FIGURA 3-20. Curvas de función exponencial para la regla de control $1_{.35}$ para el error sistemático (A) y error aleatorio (B). (Proporcionada por P. Douville.)

advertencia y la regla 1_{3s} para rechazo, este sistema también incluyó las reglas 2_{2s} , R_{4s} , 4_{1s} y $10_{\bar{x}}$. Las reglas de conteo (las reglas 2_{2s} , 4_{1s} y $10_{\bar{x}}$) son efectivas en la detección de error sistemático. Como las reglas 4_{1s} y $10_{\bar{x}}$ detectan cambios pequeños que suelen carecer de importancia clínica, exhibidos por la mayor parte de los analizadores, no se recomienda su uso. Las reglas R_{4s} y 1_{3s} son efectivas en la detección de error aleatorio. La regla 1_{3s} también puede detectar error sistemático. Los ejemplos de violaciones de las reglas anteriores se muestran en la figura 3-21.

Para aplicar de forma manual el procedimiento de control multirreglas clásico de Westgard, se evalúan los nuevos resultados de control para asegurar que están dentro de sus límites $\pm 2s$. Si es así, no se requiere más inspección. De lo

contrario, se aplican las otras reglas en este orden: 2_{2s} , 4_{1s} , $10_{\bar{x}}$ y R_{4s} . La regla 2_{2s} se invoca siempre que dos observaciones de control consecutivas del mismo lado de la media excedan los límites de control $\bar{x} + 2s$ o $\bar{x} - 2s$. Esta regla responde en la mayor parte de los casos a errores sistemáticos. La regla 2_{2s} se aplica al inicio a las observaciones de control dentro de la ejecución analítica más reciente (en los materiales y dentro de la ejecución). La regla se puede aplicar entonces a las dos últimas observaciones en el mismo material de control pero de ejecuciones consecutivas (dentro de los materiales y en las ejecuciones) o se puede aplicar a las dos últimas observaciones consecutivas de los diferentes materiales de control (en los materiales y en las ejecuciones).

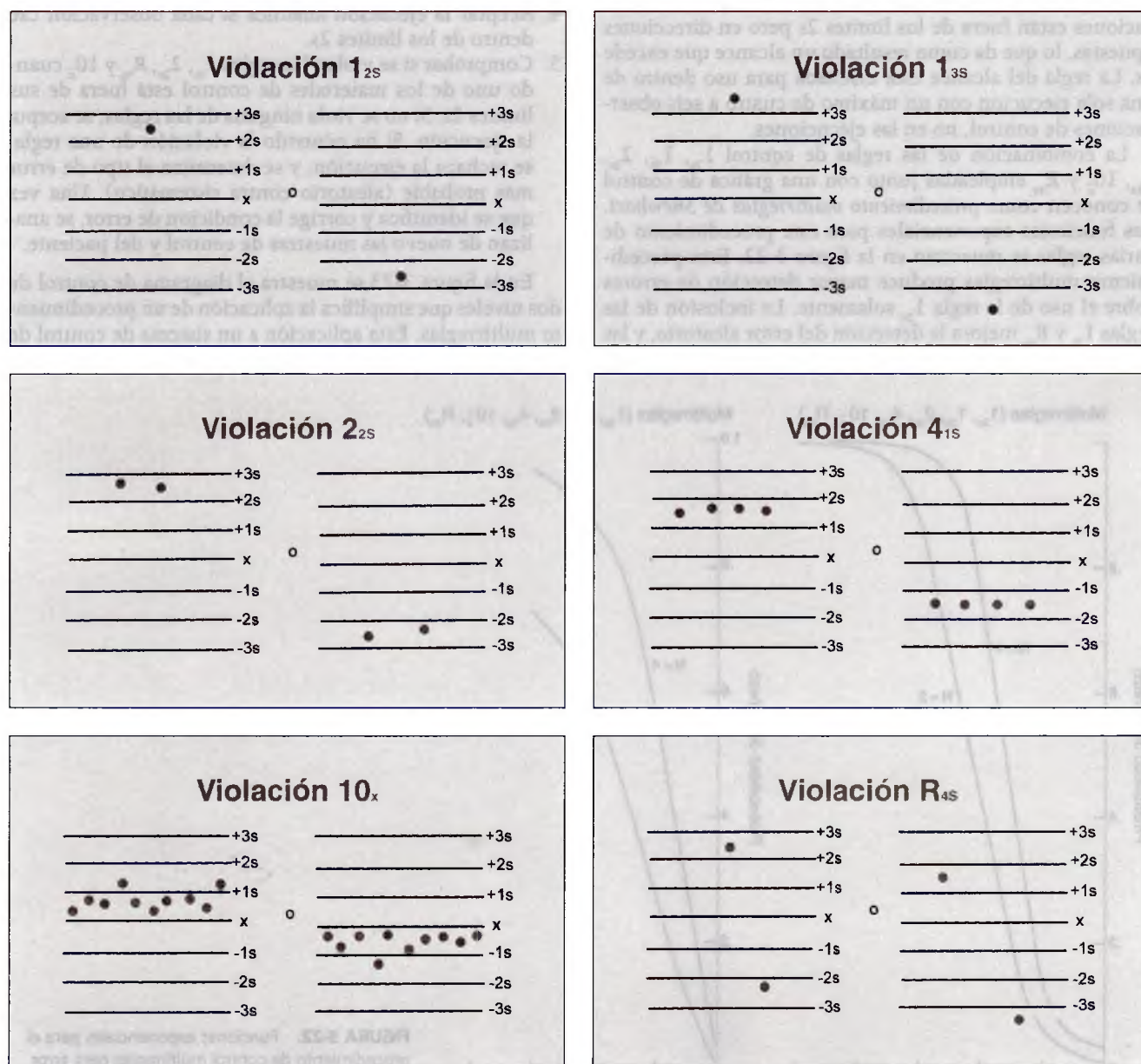


FIGURA 3-21. Ejemplos de violaciones de las seis reglas que comprenden el procedimiento de control multirreglas de Westgard.

La regla 4_{1s} se viola cuando cuatro observaciones de control consecutivas del mismo lado de la media exceden los límites de control $\bar{x} + 1s$ o $\bar{x} - 1s$. Tiene una mayor respuesta a errores sistemáticos. Estas reglas se aplican dentro los materiales y las ejecuciones, y en los materiales y las ejecuciones. La regla $10_{\bar{x}}$ es sensible a error sistemático y se viola cuando 10 observaciones de control consecutivas caen en un lado de la media. Esta regla se aplica dentro de los materiales y en las ejecuciones, así como en los materiales y en las ejecuciones.

La regla R_{4s} se viola cuando el alcance o diferencia entre las observaciones de control superior e inferior dentro de la ejecución pasa de $4s$. Esta regla es más sensible a error aleatorio o mayor imprecisión. La regla se invoca cuando una observación de control material excede un límite $+2s$ y la otra observación excede un límite $-2s$. Las dos observaciones están fuera de los límites $2s$ pero en direcciones opuestas, lo que da como resultado un alcance que excede $4s$. La regla del alcance está diseñada para uso dentro de una sola ejecución con un máximo de cuatro a seis observaciones de control, no en las ejecuciones.

La combinación de las reglas de control 1_{2s} , 1_{3s} , 2_{2s} , 4_{1s} , $10_{\bar{x}}$ y R_{4s} empleadas junto con una gráfica de control se conocen como *procedimiento multirreglas de Shewhart*. Las funciones exponenciales para este procedimiento de varias reglas se muestran en la figura 3-22. Este procedimiento multirreglas produce mayor detección de errores sobre el uso de la regla 1_{3s} solamente. La inclusión de las reglas 1_{3s} y R_{4s} mejora la detección del error aleatorio, y las reglas 2_{2s} , 4_{1s} y $10_{\bar{x}}$ incrementan la detección de error sis-

temático. Cuando se emplea con sistemas imprecisos, este procedimiento de múltiples reglas ofrece al laboratorio una mejor detección de errores y menor rechazo falso de ejecuciones analíticas. Se adapta con facilidad a procedimientos de control existentes y se ha vuelto muy popular desde su descripción inicial en 1981.

La aplicación del procedimiento multirreglas conlleva lo siguiente:

1. El cálculo de las medias y las desviaciones estándar de las diferentes concentraciones de materiales de control.
2. La construcción de gráficas de control, con líneas que indican los límites de desviación estándar $0, \pm 1, 2$ y 3 .
3. Análisis de diferentes niveles de material de control en cada ejecución analítica, con la graficación de los datos de control en la gráfica apropiada.
4. Aceptar la ejecución analítica si cada observación cae dentro de los límites $2s$.
5. Comprobar si se violan las reglas 1_{3s} , 2_{2s} , R_{4s} y $10_{\bar{x}}$ cuando uno de los materiales de control está fuera de sus límites $2s$. Si no se viola ninguna de las reglas, se acepta la ejecución. Si ha ocurrido la violación de una regla, se rechaza la ejecución, y se determina el tipo de error más probable (aleatorio contra sistemático). Una vez que se identifica y corrige la condición de error, se analizan de nuevo las muestras de control y del paciente.

En la figura 3-23 se muestra el diagrama de control de dos niveles que simplifica la aplicación de un procedimiento multirreglas. Esta aplicación a un sistema de control de dos niveles se ilustra en la figura 3-24. La interpretación

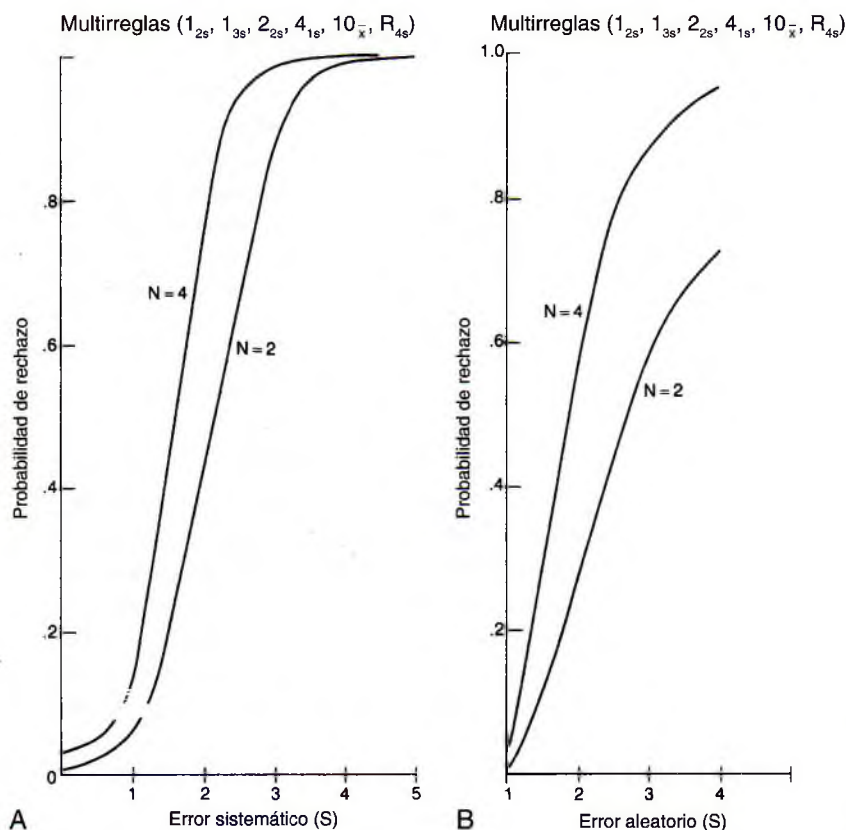


FIGURA 3-22. Funciones exponenciales para el procedimiento de control multirreglas para error sistemático (A) y error aleatorio (B). (Proporcionada por P. Douville.)

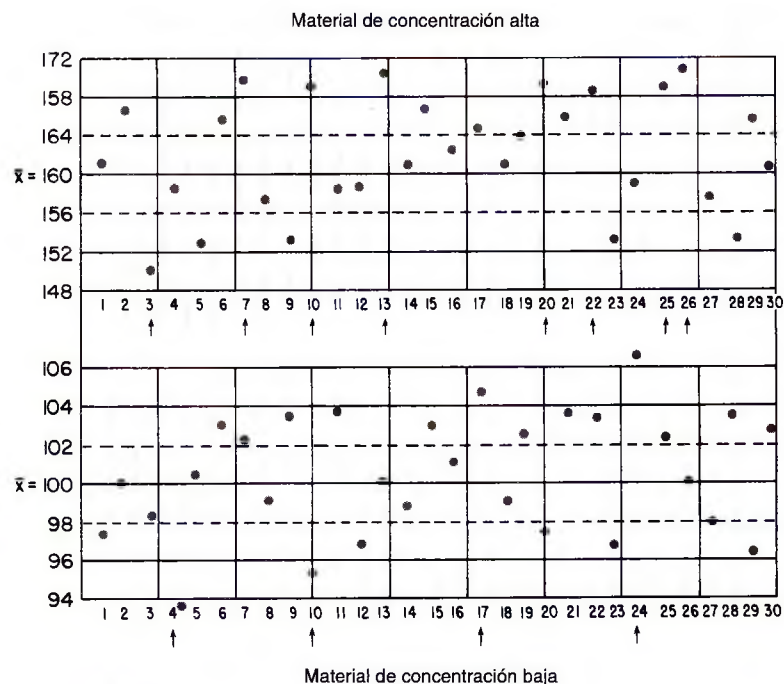


FIGURA 3-24. Datos de control para ilustrar el uso del procedimiento multirreglas. Las flechas corresponden al día en los que hay violaciones de por lo menos una regla.

de los datos de control se resume en el cuadro 3-11. Cabe hacer notar que la regla R_{4s} no se aplica en las ejecuciones. El lector sagaz notará que el procedimiento multirreglas detectará las violaciones de las reglas $10_{\bar{x}}$ o 4_{1s} sólo si hay una violación de la regla 1_{2s} . A veces, las reglas $10_{\bar{x}}$ y 4_{1s} pueden ser violadas sin la activación de la regla de advertencia 1_{2s} . Tales sucesos serán poco frecuentes e indicarían errores sistemáticos pequeños que en algún momento detectaría el procedimiento multirreglas.

Las aplicaciones automatizadas del procedimiento multirreglas no deben usar la regla de selección 1_{2s} . Westgard al

principio recomendó la regla de selección 1_{2s} para reducir el número de observaciones de control que el tecnólogo médico tenía que evaluar con las otras reglas de control. Así, la regla de selección 1_{2s} redujo la labor del tecnólogo. En la actualidad, el análisis de un solo producto de control en un analizador grande multianalito producirá 20 a 30 diferentes resultados de control, uno para cada analito. Incluso en ausencia de error analítico incrementado, hay una probabilidad mayor de 50% de que por lo menos uno de los analitos quede fuera de los límites $+2s$. Como los instrumentos actuales son más precisos que aquéllos

CUADRO 3-11. INTERPRETACIÓN DE LAS GRÁFICAS DE CONTROL DE SHEWHART MULTIRREGLAS (FIG. 3-22) PARA MATERIALES DE CONCENTRACIÓN ALTA Y BAJA

MATERIAL DE CONTROL	DÍA	VIOLACIÓN DE LA REGLA
Alta	Día 3	Violación de la regla 1_{2s} , advertencia, acepte la ejecución
Baja	Día 4	Violación de la regla 1_{3s} , rechace la regla
Alta + baja	Día 7	Violación de la regla 4_{1s} , rechace la ejecución, en ejecuciones y materiales
Alta + baja	Día 10	Violación de la regla R_{4s} , rechace la ejecución, dentro de la ejecución, en los materiales
Alta	Día 13	Violación de la regla 1_{2s} , precaución, acepte la ejecución
Baja	Día 17	Violación de la regla 1_{2s} , precaución, acepte la ejecución
Baja	Día 20	Violación de la regla 1_{2s} , precaución, acepte la ejecución
Alta	Día 22	Violación de la regla $10_{\bar{x}}$, rechace la ejecución, dentro de los materiales, en las ejecuciones
Baja	Día 24	Violación de la regla 1_{3s} , rechace la ejecución
Alta	Día 25	Violación de la regla 1_{2s} , precaución, acepte la ejecución
Alta	Día 26	Violación de la regla 2_{2s} , rechace la corrida, dentro de los materiales, en las ejecuciones

que se empleaban cuando se describió primero el procedimiento de control multirreglas, la violación de la regla 1_{2s} debe ser ignorada, a menos que se relacione con una violación de regla 2_{2s} o 1_{3s} . Con frecuencia la detección del valor atípico 1_{2s} se deduce al analizar de nuevo el analito fuera de control, un procedimiento dilatorio con ningún valor agregado. Se recomienda no usar la regla 1_{2s} siempre que los datos de control de calidad sean interpretados por un programa de computadora.

Las funciones exponenciales de la figura 3-22 muestran que cuando se emplea el procedimiento multirreglas con cuatro observaciones, detectará errores de tamaño moderado (p. ej., un cambio $2s$ o una duplicación del error aleatorio) con una probabilidad de casi 50%. Los errores más pequeños no se pueden detectar de manera confiable. Los procedimientos de control más sensibles se requieren para ensayos en los que un desplazamiento $2s$ o una duplicación de la desviación estándar causará clasificaciones erróneas del estado clínico. Por ejemplo, la desviación estándar de muchos análisis de calcio es 0.15 mg/dl para un calcio de alcance normal. Un desplazamiento positivo de 0.30 mg/dl fácilmente puede colocar a muchos pacientes normocalcémicos en la categoría hipercalcémica. La sensibilidad del procedimiento multirreglas se puede incrementar para detectar errores sistemáticos más pequeños al aumentar el número de observaciones consideradas. Se pueden usar otros procedimientos de control. El procedimiento de control de media y alcance⁷² tiene una capacidad bastante mayor para la detección de error si cada material de control se analiza por duplicado en cada ejecución analítica. Prácticamente, este procedimiento requiere la aplicación de computadoras porque con cada ejecución analítica se necesitan la media y el alcance.

La *técnica de suma acumulada (cusum)* ha sido descrita para uso rutinario en el laboratorio;⁷³ también requiere la aplicación de computadoras. El procedimiento cusum es sensible a error sistemático y se puede usar con la regla 1_{3s} . Cusum es sensible a cambios persistentes pequeños que ocurren por lo general en el moderno analizador de frecuencias de calibración baja. Hay otros procedimientos de control que emplean promedios y desviaciones estándar aliados de forma exponencial.^{71,74} Estos procedimientos han sido puestos en práctica en sistemas de control de calidad de información de laboratorio disponibles comercialmente.

Muchos de los analizadores actuales logran exactitud y precisión muy alta. La magnitud de la desviación estándar analítica puede ser pequeña cuando se compara con la del error permisible desde el punto de vista médico (p. ej., la desviación estándar de la glucosa en ciertos analizadores se aproxima a 1-2 mg/dl, que es mucho más pequeña que el error médicamente permisible de 10 mg/dl). Sólo se requiere detectar errores muy grandes cuando estos analizadores miden analitos como la glucosa. La sensibilidad del procedimiento de control se debe reducir en vez de incrementar. Una forma de hacer esto es mediante la incorporación de pocas observaciones; por ejemplo, usar la regla de control 1_{3s} o incluso expandir los límites de control (p. ej., usar los límites de control $\pm 3.5s$ [es decir, la regla de control $1_{3.5s}$]).⁷⁵ Koch y col mostraron que la

aplicación de las prácticas de control de calidad optimizadas, específicas del analito, redujeron la frecuencia de las ejecuciones rechazadas falsamente, los gastos de control de calidad, e incrementaron la eficiencia de su analizador químico de alto volumen.⁷⁶ Su programa de control de calidad actual, específico del analito, comprende la regla $1_{3.5s}$ para el sodio, potasio, glucosa y nitrógeno ureico sanguíneo; la regla $1_{2.5s}$ para albúmina, cloruro y dióxido de carbono, y la regla $1_{2.5s}$ para pruebas de calcio, que se ejecutan por duplicado y se promedian.

Distintos métodos se pueden usar para deducir estas reglas de control (fig. 3-25). Un programa de computadora disponible a nivel comercial⁷⁷ permite al laboratorista especificar un analito, su imprecisión y el error permisible médicamente (de ordinario los límites de prueba de competencia según lo especificado por CLIA 88). El programa propone entonces procedimientos de control de calidad óptimos para ese analito. En la actualidad, la mayor parte de los laboratorios emplean el mismo subconjunto de procedimiento de control multirreglas para todos sus analitos: la regla 1_{3s} para la detección de error aleatorio y la regla 2_{2s} para la detección de error sistemático. Esta combinación de dos reglas es quizá el procedimiento de control más común empleado en los laboratorios clínicos de Estados Unidos.

Uso de datos del paciente para control de calidad

Varios algoritmos han sido propuestos para manejar datos del paciente a fin de determinar si han ocurrido errores de proceso o preanalíticos. Esta sección se centra en dos procedimientos de control distintos que usan datos del paciente: el promedio de datos del paciente y comprobaciones delta. Otros procedimientos de control de calidad que emplean datos del paciente incluyen la revisión de resultados lejanos individuales para identificar errores de copiado íntegros (llamados a veces *comprobaciones límite*) y el análisis de rutina de muestras duplicadas, como se hace con frecuencia en estudios de endocrinología. Algunos laboratorios usan análisis por duplicado de otro tipo: comparaciones paciente-muestra. Estas comparaciones requieren el análisis regular de muestras divididas en instrumentos que miden el mismo analito. Las diferencias entre instrumentos que exceden los límites predeterminados se investigan y corrigen.

Hoffman y Waid, en 1965, describieron el uso de promedios de datos del paciente.⁷⁸ En su método "promedio de normales", se señaló una condición de error cuando el promedio de datos consecutivos del paciente, con distribución central, estaba más allá de los límites de control establecidos para el promedio de los datos del paciente. La hipótesis que sustenta el promedio de normales es que la población de pacientes es estable. Cualquier cambio sería, por consiguiente, secundario a un error analítico sistemático. Cembrowski, Chandler y Westgard estudiaron el uso del promedio de pacientes con simulaciones de computadora y encontraron que sus capacidades de detección de errores dependían de varios factores.⁷⁹ Los más importantes fueron el número de resultados del paciente promediados y la relación entre la desviación estándar de la población de pacientes (s_p) y la desviación estándar del

Cuadrícula de selección de CC multirreglas de Westgard		Estabilidad de proceso (frecuencia de errores, f)		
		>10%	2% – 10%	<2%
Capacidad de proceso (magnitud de errores, SEC)	<2.0s	1 _{3s} / 2 _{2s} / R _{4s} / 4 _{1s} / 12 _x N = 6	1 _{3s} / 2 _{2s} / R _{4s} / 4 _{1s} / 8 _x N = 4	1 _{3s} / 2 _{2s} / R _{4s} / 4 _{1s} N = 2
	2.0s a 3.0s	1 _{3s} / 2 _{2s} / R _{4s} / 4 _{1s} / 8 _x N = 4	1 _{3s} / 2 _{2s} / R _{4s} / 4 _{1s} N = 2	1 _{3s} / 2 _{2s} / R _{4s} / (4 _{1s} W) N = 2
	>3.0s	1 _{3s} / 2 _{2s} / R _{4s} / 4 _{1s} N = 2	1 _{3s} / 2 _{2s} / R _{4s} / (4 _{1s} W) N = 2	1 _{3s} / (4 _{1s} W) N = 2

FIGURA 3-25. Cuadrícula de selección de CC para el algoritmo multirreglas de Westgard. (Reproducida con autorización de J.O. Westgard.)

método analítico (s_p). Otros factores importantes incluyeron los límites para evaluar la media (límites de control), los límites para determinar qué datos del paciente se promediaban (límites de truncamiento) y la magnitud de la población que yace fuera de los límites de truncamiento. Cembrowski y col recomendaron que las ejecuciones de computadora de la técnica se emplearan para complementar el control de calidad de la muestra de referencia y la aplicación de computadora recomendada. Douville, Cembrowski y Strauss evaluaron los promedios de datos endocrinos del paciente y demostraron capacidades altas de detección de errores para la prueba del tiroides.⁸⁰

Cembrowski y col investigaron el uso del intervalo aniónico para control de calidad y encontraron que la práctica de reanalizar especies simples con intervalos aniónicos anormalmente altos o bajos daban como resultado la repetición innecesaria de analizar muestras de pacientes.⁸¹ Con frecuencia, estas muestras simples tenían intervalos aniónicos anormales. Un procedimiento de control mejorado consiste en promediar ocho intervalos aniónicos de paciente consecutivos y comparar el promedio con los límites de control para el promedio de intervalos aniónicos.⁸²

En otro método de control de calidad se emplean datos del paciente, la *comprobación delta*, en el que el resultado más reciente de un paciente se compara con el valor previo. La diferencia entre datos de laboratorio consecutivos (deltas) se calcula y se compara con los límites establecidos de manera anticipada.^{83,84} Se investiga una diferencia que excede estos límites; esta diferencia es el resultado de mezclar la muestra o de cambios reales en los resultados de prueba del paciente. La diferencia se calcula por lo común de dos maneras: como una diferencia numérica (valor actual menos el último valor) y como una diferencia porcentual (diferencia numérica por 100 dividida entre el valor actual). Wheeler y Sheiner evaluaron el desempeño de varios métodos de comprobación delta y clasificaron a cada comprobación investigada como un positivo verdadero o falso.⁸⁵ Encontraron que el porcentaje de positivos verdaderos iba de 5 a 29%, y concluyeron que los métodos de comprobación delta podían detectar errores que de otro modo se omitían, pero a costa de investigar muchos falsos positivos. En su población de hospital de atención terciaria, hubo muchos falsos

positivos a causa de desviaciones grandes en los valores de laboratorio secundarias a enfermedad o terapia.

Control de calidad externo

Los programas de prueba de competencia proveen de forma periódica muestras de concentraciones desconocidas de analitos a laboratorios participantes. La participación en estos programas es por orden del gobierno de EUA bajo CLIA 88. El CAP y la *American Association of Bioanalysts* son los dos proveedores más grandes de programas de prueba de competencia en Estados Unidos. Proporcionan muestras para las principales áreas de química cualitativa y cuantitativa, incluso química general, química de proteínas, análisis de orina, toxicología y endocrinología. Las muestras para análisis cuantitativo contienen múltiples analitos y suelen proporcionarse como materiales liofilizados. Una vez que el laboratorio recibe sus muestras, debe analizar y devolver sus resultados dentro de un tiempo específico a un centro de computadoras para recopilación y comparación con los resultados de otros laboratorios participantes. El centro de computadoras establece valores objetivo y alcances de resultados aceptables con base en el promedio de valores de participantes o valores de laboratorios de referencia.

Para el programa de competencia del CAP, se calculan las medias y desviaciones estándar de los resultados de laboratorios semejantes (instrumentos y metodologías similares). Entonces se descartan los valores más allá de tres desviaciones estándar de la media, y se calculan de nuevo la media y la desviación estándar. Un resultado participante se clasifica como aceptable si la diferencia entre el resultado y la respuesta objetivo (normalmente la media semejante) es menor que el error permisible. CLIA 88 ha definido errores permisibles para un gran número de analitos regulados;⁴¹ algunos se muestran en el cuadro 3-7. Estos errores permisibles se denominan a veces "límites fijos" y se expresan en unidades de medición del analito (como ± 0.5 mmol/L de la media para el potasio) o como porcentajes (como $\pm 10\%$ para colesterol total).

Para un número mucho más pequeño de analitos (como la hormona estimuladora de la tiroides), CLIA 88 tiene límites definidos de forma estadística para la aceptabili-

dad. Para estos analitos, el resultado participante es aceptable si cae dentro de ± 3 índices de desviación estándar (IDE) de la media del grupo. La comparación con los límites estadísticos requiere el cálculo de la desviación de los resultados de estudio respecto de la media, que se expresa en números de IDE arriba o abajo de la media. El IDE es la diferencia numérica entre los resultados de un laboratorio y la media, dividida entre la desviación estándar. Una desviación fuera de ± 3 IDE suele considerarse inaceptable porque tales desviaciones ocurrirán sólo 0.3% de las veces como resultado de la probabilidad.

En comparación con los límites estadísticos, las violaciones de los criterios de límites fijos con frecuencia demostrarán la necesidad de reemplazar instrumentación anticuada o poco confiable. Ehrmeyer y Laessig han empleado simulación con computadora con el fin de evaluar la capacidad de diferentes esquemas de prueba de competencia para detectar laboratorios cuyo desempeño es deficiente. El desempeño de todos estos esquemas es imperfecto, y algunos buenos laboratorios son juzgados deficientes, y ciertos malos laboratorios escapan a la detección.^{86,87}

Cembrowski y col y Cembrowski, Hackney y Carey han propuesto un sistema multirreglas para evaluar el resultado de la prueba de competencia ordenada por HCFA.⁸⁸⁻⁹⁰ El sistema se ilustra en la figura 3-26. Cuando se detectan desviaciones importantes en un conjunto de de cinco resultados de estudio (una o más observaciones que exceden ± 3 IDE, el alcance de las observaciones que exceden 4 IDE o la media de los 5 resultados que exceden ± 1.5 IDE), los registros de laboratorio, incluso los resultados de

control de calidad internos, se deben revisar. Las mezclas de muestras de competencia o de muestras de competencia y clínicas se deben descartar. Siempre que sea posible, las alícuotas de muestras de estudio se deben congelar y guardar. Si los resultados del estudio difieren de forma importante de instrumentos semejantes, estas alícuotas se deben volver a analizar. Los resultados que aún se desvían significativamente después de repetir el análisis indican un sesgo de largo plazo. Si las desviaciones son variables en magnitud y dirección, puede haber un problema con la imprecisión (error aleatorio). En el caso de que el análisis repetido produzca resultados satisfactorios, el error quizá represente un error aleatorio o sesgo transitorio encontrado durante el período de prueba. En la figura 3-27 se muestra una forma de estudio que el tecnólogo químico puede usar para revisar estudios de competencia.

La prueba de competencia externa se emplea también para determinar estimaciones del estado presente del desempeño entre laboratorios. El CAP publica de manera regular resúmenes de sus comparaciones entre laboratorios en los *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*.

Prueba en el lugar de la atención: la dificultad más reciente

La prueba en el lugar de la atención (PLDA) se define como la prueba analítica llevada a cabo fuera de los confines del laboratorio central, por lo común por personal ajeno al laboratorio (p. ej., enfermeras, terapeutas respiratorios). Los sinónimos de la PLDA son prueba cerca del paciente, prueba descentralizada, exploración al lado de cama y examen de sitio alterno. La PLDA más común conlleva el uso de medidores portátiles de glucosa sanguínea completa para el manejo de pacientes con diabetes.¹⁹ Muchos analitos distintos se pueden medir en la actualidad con exactitud y rapidez cerca del paciente, ya sea que el paciente esté en un hospital, una ambulancia o incluso en un avión. Parte del éxito de la PLDA surge de la incapacidad del laboratorio clínico centralizado para responder a las demandas del especialista clínico en relación con tiempos de respuesta más rápidos (TR).^{92,93} La rápida disponibilidad de resultados de prueba puede incrementar la salida de pacientes de áreas consideradas cuello de botella, como los departamentos de urgencia, y podría incluso disminuir la estancia del paciente y reducir el costo total de la atención.⁹⁴

Un programa exitoso de PLDA requiere planeación cuidadosa, ejecución y evaluación continua del equipo, educación y control de calidad. El primer paso para poner en práctica un programa de PLDA es formar un comité directivo de PLDA. El comité debe incluir al director de medicina del laboratorio (presidente); al coordinador de la PLDA (por lo regular un tecnólogo de laboratorio), y al médico, enfermera y representantes de atención respiratoria. Si es posible, los sistemas de información y personal de finanzas también deben asistir. La asistencia a la reunión dependerá de los puntos de la agenda. Esta colaboración establece la etapa para comunicación y resolución de problemas de PLDA. Antes de que el comité directivo pueda recomendar cualquier dispositivo de PLDA, debe evaluar los sistemas disponibles y elegir después el que mejor se

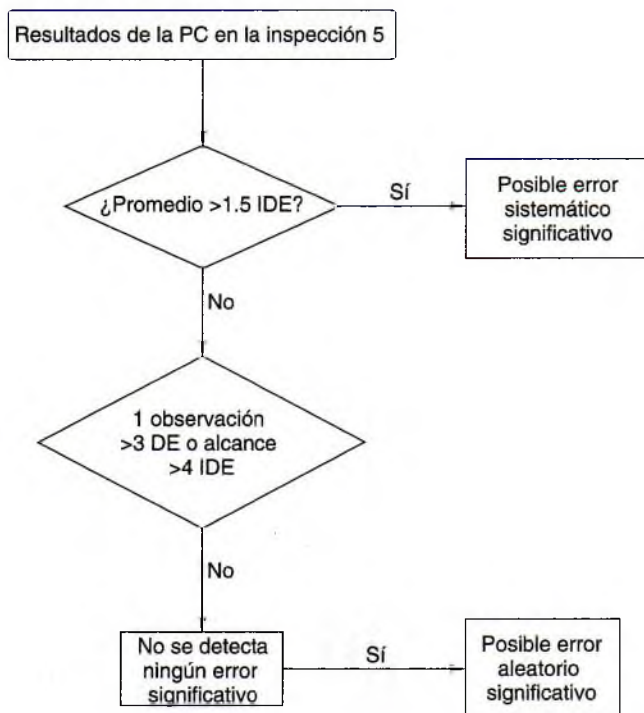


FIGURA 3-26. Resultados de PC de selección. Diagrama de flujo para investigar grupos de cinco resultados de competencia para error sistemático y aleatorio significativo.

REVISIÓN DE RESULTADOS DE COMPETENCIA

Lab: ☐ central ☐ Muestra inv. ☐ HDIP ☐ Tox.

Nombre de la muestra de competencia: _____

Ciclo _____ Muestra _____

Fecha de análisis: _____

No. de ID de la muestra: _____

Núm. acred. lab.: _____

Analito	1-2 muestras/analito Regla violada	3-5 muestras/analito Regla violada	Media (IDE)	Investigación Fuentes de errores	Comentarios y acción correctiva	Comentarios del cuerpo administrativo superior
	<input type="checkbox"/> 1 >2.5 IDE <input type="checkbox"/> X >1.5 IDE <input type="checkbox"/> 2 consecutivas >2 IDE	<input type="checkbox"/> Regla de selección: 2/5 > ±1.0 DE Error sistemático: <input type="checkbox"/> Media >1.5 IDE Error aleatorio: <input type="checkbox"/> 1-3 IDE <input type="checkbox"/> R-4 IDE		<input type="checkbox"/> Deriva de calibración <input type="checkbox"/> Sesgo del método <input type="checkbox"/> Descripción del error de alcance <input type="checkbox"/> Inestabilidad <input type="checkbox"/> Suceso aleatorio <input type="checkbox"/> Otro		
	<input type="checkbox"/> 1 >2.5 IDE <input type="checkbox"/> X >1.5 IDE <input type="checkbox"/> 2 consecutivas >2 IDE	<input type="checkbox"/> Regla de selección: 2/5 > ±1.0 DE Error sistemático: <input type="checkbox"/> Media >1.5 IDE Error aleatorio: <input type="checkbox"/> 1-3 IDE <input type="checkbox"/> R-4 IDE		<input type="checkbox"/> Deriva de calibración <input type="checkbox"/> Sesgo del método <input type="checkbox"/> Descripción del error de alcance <input type="checkbox"/> Inestabilidad <input type="checkbox"/> Suceso aleatorio <input type="checkbox"/> Otro		
	<input type="checkbox"/> 1 >2.5 IDE <input type="checkbox"/> X >1.5 IDE <input type="checkbox"/> 2 consecutivas >2 IDE	<input type="checkbox"/> Regla de selección: 2/5 > ±1.0 DE Error sistemático: <input type="checkbox"/> Media >1.5 IDE Error aleatorio: <input type="checkbox"/> 1-3 IDE <input type="checkbox"/> R-4 IDE		<input type="checkbox"/> Deriva de calibración <input type="checkbox"/> Sesgo del método <input type="checkbox"/> Descripción del error de alcance <input type="checkbox"/> Inestabilidad <input type="checkbox"/> Suceso aleatorio <input type="checkbox"/> Otro		
	<input type="checkbox"/> 1 >2.5 IDE <input type="checkbox"/> X >1.5 IDE <input type="checkbox"/> 2 consecutivas >2 IDE	<input type="checkbox"/> Regla de selección: 2/5 > ±1.0 DE Error sistemático: <input type="checkbox"/> Media >1.5 IDE Error aleatorio: <input type="checkbox"/> 1-3 IDE <input type="checkbox"/> R-4 IDE		<input type="checkbox"/> Deriva de calibración <input type="checkbox"/> Sesgo del método <input type="checkbox"/> Descripción del error de alcance <input type="checkbox"/> Inestabilidad <input type="checkbox"/> Suceso aleatorio <input type="checkbox"/> Otro		
	<input type="checkbox"/> 1 >2.5 IDE <input type="checkbox"/> X >1.5 IDE <input type="checkbox"/> 2 consecutivas >2 IDE	<input type="checkbox"/> Regla de selección: 2/5 > ±1.0 DE Error sistemático: <input type="checkbox"/> Media >1.5 IDE Error aleatorio: <input type="checkbox"/> 1-3 IDE <input type="checkbox"/> R-4 IDE		<input type="checkbox"/> Deriva de calibración <input type="checkbox"/> Sesgo del método <input type="checkbox"/> Descripción del error de alcance <input type="checkbox"/> Inestabilidad <input type="checkbox"/> Suceso aleatorio <input type="checkbox"/> Otro		

Deriva de calibración: error sistemático significativo, la recalibración resuelve el error**Sesgo del método:** error sistemático significativo, sesgo inherente del método identificado**Descripción del error de alcance:** sesgo analítico significativo cerca de los límites de alcance declarable para el método, no lineal**Inestabilidad:** error aleatorio, un componente (es decir, sonda muestral, células, reactivos) no se desempeña de manera óptima, aceptable en la repetición**Suceso aleatorio:** no se puede reproducir el error o identificar posibles fuentes

Revisó:

	Firma	Fecha		Firma	Fecha
Central:			Dr. C.P		
Tox.:			Dr. D.L		
HDIP:			Dr. F.B		
Muestra inv.:					

Revisado por el director del laboratorio: Dr. G. C. _____ Fecha _____

Revisado: 2 de mayo de 2001 por T H

FIGURA 3-27. Forma para revisar resultados de estudio de competencia.

CUADRO 3-12. REQUISITOS DE CALIDAD DE ANALIZADORES EMPLEADOS EN EL LUGAR DE ATENCIÓN

Velocidad (las pruebas se deben completar dentro de minutos de introducción de la muestra)
La exactitud y la precisión se aproximan a la del analizador del laboratorio central
Equipo pequeño y portátil
Capacidad para analizar una "muestra no preparada" (como sangre completa)
Tamaño de muestra pequeño
Menú de prueba flexible
Alcance dinámico amplio para reducir al mínimo las repeticiones, diluciones y pruebas confirmatorias
Facilidad de uso para el personal que no es del laboratorio
Capacidad de bloqueo
Para evitar que personas no autorizadas realicen la prueba
Cuando no se introduce la identificación del paciente
Cuando no se introduce el control de calidad
El costo por prueba se aproxima al que proporciona el laboratorio principal
Desembolso bajo de capital para equipo
Lectura cuantitativa (ninguna subjetividad de parte del observador)
Calibración automática
Interpretación de control de calidad automatizada
Interfase homogénea con el sistema de información del laboratorio u hospital (comunicación por sistema inalámbrico; infrarrojo o radiofrecuencia)
Poco mantenimiento
Requisitos mínimos de solución de problemas
Confiabilidad alta con tiempo muerto mínimo
Capacidad de respaldo
Capacidades de lectura de código de barras
Uso de ningún reactivo o reactivos listos para usarse
Producción de desechos mínima
Desechables mínimos y reciclables

Fuente: Cembrowski GS, Kiechle FL. Point-of-care testing: Critical analysis and practical application. Adv Pathol Lab Med 1994;7:3-26.

ajuste a las necesidades del área solicitante. Los requisitos de calidad de los analizadores de PLDA se resumen en el cuadro 3-12. Se deben considerar muchos criterios antes de poder aprobar un programa de PLDA, incluso la necesidad percibida para PLDA; potencial para mejoras en el resultado del paciente; así como frecuencia de pruebas, confiabilidad del método y requisitos de capacitación y personal. Es importante elegir un analizador que sea rela-

tivamente simple de operar y controlar. Es casi imposible ajustar programas extensos de capacitación para PLDA en programas ya ajetreados de especialistas clínicos. También se deben considerar las capacidades de manejo de datos. La conexión de analizadores de PLDA con el sistema de información del laboratorio puede proveer acceso a los datos del paciente a toda la institución.

El costo total de la PLDA depende del volumen de muestras y del personal que lleva a cabo la prueba (enfermera contra técnico).⁹⁵ Al calcular el costo por prueba en el lugar de atención o el laboratorio central, es importante incluir costos de mano de obra, de instrumentación, suministros, capacitación y de depreciación e indirectos (es decir, costos de informe o gastos generales de hospital). En la mayor parte de los casos, la prueba del laboratorio central será la menos cara en una base de costo por prueba que la prueba de sitio alterno. Aunque podría parecer menos caro llevar a cabo el análisis en el laboratorio central, se debe considerar el impacto de los TR en la eficiencia de pacientes atendidos y el tiempo de estancia. El uso selectivo de la PLDA en áreas de atención críticas puede producir ahorros de costos de largo plazo para el centro de atención de la salud.

Hacia la atención de calidad del paciente

Gran parte de este capítulo se ha centrado en la entrega de resultados de prueba de laboratorio *exactos*. La exactitud en análisis de laboratorio es sólo una característica de calidad que se requiere del laboratorio de química clínica.⁴⁹ Otras características de calidad igual de importantes incluyen formas efectivas de petición de prueba; instrucciones claras para la preparación del paciente y manejo de la muestra; tiempos de respuesta apropiados para el procesamiento de la muestra, análisis e informe de resultados; alcances de referencia apropiados, e informes de resultados comprensibles. La mayor parte de los laboratorios clínicos proveen análisis de laboratorio exacto. Apenas se comienza a apreciar que la mayor parte de fallas de laboratorio ocurren en el dominio preanalítico o posanalítico.

Por ejemplo, Ross y Boone revisaron 363 incidentes que ocurrieron en un gran hospital de atención terciaria en 1987.⁹⁶ En los 336 registros médicos investigados, se encontró que los errores pre y posanalíticos daban cuenta de 46 y 47% de los incidentes totales, respectivamente. Los errores preanalíticos incluyeron órdenes de laboratorio extraviadas o mal interpretadas, preparación inadecuada e identificación incorrecta del paciente, recipiente de muestra equivocado y muestra mal etiquetada o mal manejada. Los errores posanalíticos incluyeron resultados retrasados, no disponibles o incompletos. El personal ajeno al laboratorio fue responsable de 29% de los errores.

La mayor parte de estos errores fueron interdepartamentales; la prevención de esta clase de errores requiere un enfoque de grupo coordinado, interdepartamental. La representación comprometida de los participantes importantes es un prerrequisito para el éxito, ya sea el médico, la enfermera, el administrativo de la sala del hospital, el flebotomista o el analista. Estos individuos pueden formar un *equipo de calidad* o *equipo de mejoramiento* que se

reuniría de manera regular para definir el problema y, con el tiempo, hacer recomendaciones para su solución. El grupo debe usar varias técnicas estadísticas y de grupo. Para que estos *procesos de grupo* tengan éxito, debe haber un compromiso total de la administración. La administración se debe capacitar en este "proceso de mejoramiento

de la calidad"^{97,98} y debe soportar su crecimiento en la institución. Esta clase de métodos han sido transferidos con éxito a negocios estadounidenses e incluso al ambiente clínico y del hospital.^{99,100} Es sólo a través de tales esfuerzos de mejoramiento de la calidad que se puede mejorar de manera importante la atención total del paciente.

PROBLEMAS DE PRÁCTICA

Problema 3-1: cálculo de la sensibilidad y especificidad

Los obstetras emplean concentraciones de fetoproteína alfa (AFP) para ayudar a diagnosticar defectos del tubo neural (DTN) al inicio del embarazo. Para los siguientes datos, calcule la sensibilidad, especificidad y eficiencia de la AFP para detectar DTN, así como el valor predictivo de una AFP positiva.

NÚMERO DE INTERPRETACIÓN DE EMBARAZOS DE HALLAZGOS DE AFP

RESULTADO DEL EMBARAZO	POSITIVO (DTN)	NEGATIVO (NINGÚN DTN)	TOTAL
DTN	5	3	8
Ningún DTN	4	843	847
Total	9	846	855

Problema 3-2: decisión administrativa en control de calidad

Usted está a cargo del laboratorio clínico cuando un tecnólogo se presenta con la hoja de trabajo. Ha ocurrido una violación de la regla 2_σ en las ejecuciones y dentro de los materiales en el material de alta concentración. Usted pide ver los datos del paciente y los datos de control previos, que son los siguientes:

HOJA DE TRABAJO PARA LA GLUCOSA, ENERO 8

MUESTRAS	RESULTADOS	FECHA	VALORES DE CONTROL DE GLUCOSA DE ENERO	
			BAJO	ALTO
Control -alto	224	1/1	86	215
Paciente	117	1/2	82	212
Paciente	85	1/3	83	218
Paciente	98	1/4	87	214
Paciente	74	1/5	85	220
Paciente	110	1/6	81	217
Control -bajo	83	1/7	88	223
Paciente	112	1/8	83	224
Paciente	120			
Paciente	97			
Paciente	105			

1. Grafique estos datos de control.
2. ¿Qué observa acerca de estos datos de control?
3. ¿Cuál podría ser un problema potencial?
4. ¿Debe informar los datos del paciente para hoy? ¿Por qué sí o por qué no?

Véase la figura 3-28.

Problema 3-3: comunicación interdepartamental

Se tiene un problema con la unidad médica de cuidado intensivo (UMCI) y las muestras de gas sanguíneo arterial que enviaron al laboratorio. En las últimas tres semanas, no se ha querido llevar a cabo un análisis de gases sanguíneos en seis muestras diferentes de la UMCI debido a pequeños coágulos encontrados en las muestras. El personal de la UMCI está furioso con la política de rechazo, pero se cree que los análisis serían incorrectos si se emplean estas muestras.

1. Describa dónde radica el problema.
2. ¿Qué se puede hacer para remediar este problema?
3. ¿Por qué el presente sistema de control de calidad no detecta esta clase de error?

Los siguientes problemas representan los pasos en un estudio de evaluación del método. Se emplea un conjunto de datos abreviado para motivar al alumno a hacer los cálculos a mano. Lleve a cabo los cálculos para los siguientes datos experimentales, que se obtuvieron de un estudio de glucosa. Este método de prueba es un procedimiento

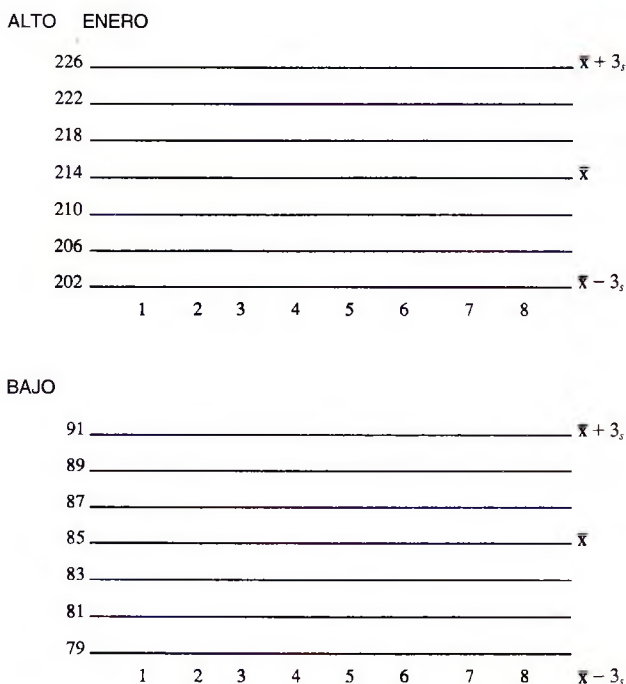


FIGURA 3-28. Gráfica de control en blanco para el problema de práctica 3-2.

de oxidasa de glucosa acoplada. El método comparativo es el método de hexocinasa actualmente en uso.

Problema 3-4: precisión (replicación)

Para los siguientes datos de precisión, calcule la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada una de las dos soluciones de control A y B. Estas soluciones de control se eligieron debido a que sus concentraciones fueron cercanas a niveles de decisión médicos (X_c) para la glucosa: 120 mg/dl para la solución de control A y 300 mg/dl para la solución de control B. La solución de control A se analizó diario, y se obtuvieron los siguientes valores:

118, 120, 121, 119, 125, 118, 122, 116, 124, 123, 117, 117, 121, 120, 120, 119, 121, 123, 120 y 122 mg/dl

La solución de control B se analizó diario y dio los siguientes resultados:

295, 308, 296, 298, 304, 294, 308, 310, 296, 300, 295, 303, 305, 300, 308, 297, 297, 305, 292 y 300 mg/dl

Problema 3-5: recuperación

Para los datos de recuperación siguientes, calcule la recuperación porcentual para cada uno de los experimentos y el promedio de los experimentos de recuperación. Los experimentos se efectuaron añadiendo dos niveles de estándar a cada una de cinco muestras del paciente (A a la E) con los siguientes resultados:

MUESTRA	0.9 ml DE SUERO + 0.1 ml DE AGUA	0.9 ml DE SUERO + 0.1 ml DE EST. DE 500 mg/dl	0.9 ml SERUM + 0.1 ml DE EST. DE 1000 mg/dl
A	59	110	156
B	63	112	160
C	76	126	175
D	90	138	186
E	225	270	320

¿Qué indican los resultados de este estudio?

Problema 3-6: interferencia

Para los datos de interferencia que siguen, calcule la concentración de ácido ascórbico agregado, la interferencia para cada una de las muestras y la interferencia promedio para el grupo de muestras del paciente. Los experimentos se llevaron a cabo añadiendo 0.1 ml de un estándar de ácido ascórbico de 150 mg/dl a 0.9 ml de cinco muestras distintas del paciente (A a E). Se preparó una dilución similar para cada muestra de paciente con agua como diluyente. Los resultados son los siguientes:

MUESTRA	0.9 ml DE SUERO + 0.1 ml DE AGUA	0.9 ml DE SUERO + 0.1 ml DE EST. DE 150 mg/dl
A	54	46
B	99	91
C	122	112
D	162	152
E	297	286

¿Qué indican los resultados de este estudio?

Problema 3-7: regresión lineal

Se obtuvieron los siguientes datos de comparación de métodos (mg/dl):

MUESTRA	POR HEXOCINASA (mg/dl)	POR OXIDASA DE GLUCOSA ACOPLADA (mg/dl)
1	191	192
2	97	96
3	83	85
4	71	72
5	295	299
6	63	61
7	127	131
8	110	114
9	320	316
10	146	141

1. Grafique estos resultados. De la inspección de la gráfica, determine su error constante o proporcional significativo.
2. Calcule las estadísticas de regresión lineal como sigue:
 - a) Prepare una tabla con los siguientes encabezados de columna: x_i , y_i , x_i^2 , y_i^2 , $x_i y_i$, Y_i
 - b) Introduzca los datos x_i y y_i en la tabla (recuerde que x es el método comparativo y y el método de prueba) y calcule Σx_i , Σy_i , Σx_i^2 , Σy_i^2 y $\Sigma x_i y_i$. Introduzca estos datos en la tabla.
 - c) De las sumas en (b), calcule \bar{x} y \bar{y} . Emplee las ecuaciones 3-8 y 3-9 para calcular la pendiente m y la ordenada al origen (y_0), respectivamente.
 - d) Con la ecuación de regresión $Y = mx + y_0$, calcule y_i para cada x_i , introduzca los valores de Y_i en la columna Y_i y luego calcule: $(y_i - Y_i)$, $(y_i - Y_i)^2$ y $\Sigma(y_i - Y_i)^2$

Introduzca estos datos en la tabla.

- e) De la suma en (d) y la ecuación 3-10, calcule $s_{y/x}$.
 - f) De las sumas en (b) y la ecuación 3-11, calcule r .
3. Informe las siguientes estadísticas para el experimento de comparación de métodos: m , y_0 , $s_{y/x}$ y r .

Problema 3-8: interpretación

Use las estadísticas calculadas en el problema 3-7 para contestar las siguientes preguntas. Explique sus respuestas en relación con el valor estadístico que usó para llegar a su respuesta. Cuando sea apropiado, calcule los errores en los dos niveles de decisión médica $X_{c1} = 120$ mg/dl y $X_{c2} = 300$ mg/dl.

1. ¿Cuál es el error aleatorio (EA) de este método? ¿Cuál es la magnitud de la estadística que cuantifica el EA entre estos métodos?
2. ¿Cuáles son el error constante (EC) y el error proporcional (EP)?
3. Calcule el error sistemático (ES) en ambas X_c . ¿Cuál es la naturaleza predominante del ES (refiérase al número 2)?

4. ¿Cuál es el error total ($ET = EA + ES$) del método?

Nota: las estadísticas de regresión lineal se deben usar para estimaciones de error sólo dentro del intervalo de concentración estudiado; se deben haber reunido datos hasta 300 mg/dl en el experimento de métodos de comparación.

5. a) ¿Cuál es la estadística que cuantifica al error aleatorio entre métodos? b) ¿Qué valor calculó para esta estadística?

6. Juzgue la aceptabilidad del desempeño del método de prueba. Para llegar al juicio, aplique los siguientes criterios:

a) Para que el método sea aceptado, todos los errores deben ser menores que el error permisible (E_a) para una X_c dada.

b) Los siguientes son los errores E_a para la glucosa:

$$X_{c1} = 120 \text{ mg/dl } E_{a1} = 10 \text{ mg/dl}$$

$$X_{c2} = 300 \text{ mg/dl } E_{a2} = 25 \text{ mg/dl}$$

Problema 3-9: prueba en el lugar de atención

- Se comisiona a una persona como laboratorista clínico para un equipo de trabajo en el lugar de atención (LDA). ¿Qué otra persona podría servir en este equipo?
- ¿Qué debe existir antes de poner en práctica un protocolo de prueba en el lugar de atención para asegurar resultados exactos y precisos del paciente?
- Una vez que se decide proveer a los médicos y pacientes con la prueba en el LDA, ¿cuáles son características o requisitos importantes de los analizadores LDA?

Problema 3-10: etiquetado de muestras

Se recibe una muestra de orina en el laboratorio con una solicitud de análisis de orina completo. Se etiqueta el recipiente y se da inicio al análisis. Al terminar el análisis se envía un informe de los resultados a la sala del hospital. Varios minutos después, se recibe una llamada telefónica de la sala con la noticia de que el análisis de orina no corresponde al paciente. Lo que sucedió es que el recipiente fue marcado de manera incorrecta antes de ser llevado al laboratorio.

- ¿Cuál es el problema en este caso y dónde ocurrió?
- ¿El sistema de control de calidad (CC) del laboratorio podría detectar o evitar este tipo de problema?

Problema 3-11: programa para examen de PLDA

Su laboratorio está a cargo de supervisar el programa de CC para los glucómetros (PLDA) en uso en su hospital. Usted observa que el personal de la sala del hospital no está siguiendo el procedimiento adecuado para ejecutar el CC. Por ejemplo, en este caso, el CC del glucómetro se ejecutó tres veces seguidas en un esfuerzo por tener los resultados bajo control. Las dos primeras ejecuciones fueron 1_{35} . La última ejecución volvió a menos de 3 DE. Explique el procedimiento correcto de seguimiento para tratar con los resultados fuera de control.

Problema 3-12: interpretación de la regla de CC

Explique la regla R_{4s} , incluso qué tipo de error detecta.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Una distribución gaussiana suele ser

- Rectangular.
- En forma de campana.
- Uniforme.
- Sesgada.

2. Los siguientes resultados de cloruro (mmol/ml) se obtuvieron por medio de un analizador de lugar de atención en el departamento de urgencias:

106	111	104	106	112	110
115	127	85	110	108	109
83	119	105	106	108	114
120	100	107	110	109	102

¿Cuál es la media?

- 105.
- 108.
- 109.
- 107.

¿Cuál es la mediana?

- 105.
- 108.
- 109.
- 107.

3. El coeficiente de correlación se debe usar

- Para determinar la aceptabilidad del método.
- Para determinar el tipo de regresión usado para derivar la pendiente y la ordenada al origen y.
- Expresado siempre como R_2 .
- Para expresar la imprecisión del método.

4. Al hacer un estudio de correlación, el método de prueba y el de referencia generan puntos de datos iguales. Cuando se grafican, la pendiente es igual a ____ y la ordenada al origen y es igual a ____.

- 0.0, 1.0
- 1.0, 1.0
- 1.0, 0.0
- 0.0, 0.0

5. Con la siguiente curva COR, ¿cuál es la mejor prueba?
 - a) Prueba A.
 - b) Prueba B.
 - c) Prueba C.
 - d) Prueba D.
6. Los estudios de interferencia suelen usar ____ como un interferente.
 - a) Eritrocitos bemozados.
 - b) Intralípido.
 - c) Muestras muy ictericas.
 - d) Todo lo anterior.
7. ¿Cuál regla de Westgard detecta el error aleatorio?
 - a) 1_{3s} .
 - b) 4_{1s} .
 - c) 2_{2s} .
 - d) 10_0 .
8. ¿Cuál(es) de las siguientes reglas es probable que detecten errores sistémicos pequeños y difícilmente se debe(n) usar?
 - a) R_{4s} .
 - b) 10_x .
 - c) 2_{2s} , 4_{1s} .
 - d) 1_{3s} .
9. ¿Cuáles reglas se pueden usar para evaluar conjuntos de cinco resultados de prueba de competencia?
 - a) Media >1.0 IDE.
 - b) 1 resultado >2 IDE.
 - c) 5/5 resultados $>\pm 1.0$ IDE y media >1.5 IDE.
 - d) 1 resultado >3 IDE.
10. La razón principal para poner en práctica la PLDA es
 - a) El costo de prueba reducido.
 - b) Resultados mejorados de atención del paciente.
 - c) Disminuir la carga de trabajo del laboratorio central.
 - d) Emplear a no laboratoristas como analistas.
11. Verdadero o falso (si la respuesta es falsa, explique por qué)
 - a) Una tendencia ocurre cuando los resultados de CC caen en un lado de la media o el otro en un periodo de 6 a 7 días consecutivos.
 - b) La sensibilidad diagnóstica se refiere a la probabilidad de que sólo las personas que no tienen la enfermedad den un resultado de prueba negativo para la enfermedad.
 - c) El error aleatorio se relaciona con la precisión del método y el error sistemático con la exactitud del método.

REFERENCIAS

1. Westgard JO. Precision and accuracy: concepts and assessment by method evaluation testing. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1981;13:28c.
2. Westgard, JO. Basic QC Practices, 2nd ed. Madison, WI: Westgard Quality Corporation, 2002.
3. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986;1(8476):307-310.
4. Waakkers PJM, Hellendoorn HBA, Op De Weegh GH, et al. Applications of statistics in clinical chemistry: a critical evaluation of regression lines. *Clin Chem Acta* 1975;64:173.
5. Westgard JO, deVos DJ, Hunt MR, et al. Concepts and practices in the evaluation of clinical chemistry methods: III. Statistics. *Am J Med Tech* 1978;44:552.
6. Westgard JO, Hunt MR. Use and interpretation of common statistical tests in method-comparison studies. *Clin Chem* 1973;19:49.
7. Harris EK, Cooil BK, Shakarji G, et al. On the use of statistical models of within person variation in long-term studies of healthy individuals. *Clin Chem* 1980;26:383.
8. Grasbeck R, Siest G, Wilding P, et al. Provisional recommendation on the theory of reference values: I. The concept of reference values. *Clin Chem* 1979;25:1506.
9. Author's Web site available at: www.mylaboratoryquality.com
10. Fleisher GA, Eickelberg ES, Elveback LR. Alkaline phosphatase activity in the plasma of children and adolescents. *Clin Chem* 1977;23:469.
11. Winsten S. The ecology of normal values in clinical chemistry. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1976;6:319.
12. Soldin WJ, Hicks JM, Gunter KC, et al. Pediatric Reference Ranges, 2nd ed. Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry, 1997.
13. Meites S, ed. Pediatric Clinical Chemistry: Reference (Normal) Values. Washington, D.C.: American Association of Clinical Chemistry, 1989.
14. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved guideline for how to define and determine reference intervals in the clinical laboratory. Document C28-A2. Villanova, PA: NCCLS, 2000.
15. Martin HF, Gudzinowicz BJ, Driscoll JL. An algorithm for the selection of proper group intervals for histograms representing clinical laboratory data. *Am J Clin Pathol* 1975;64:327.
16. Catalona WJ, et al. Comparison of prostate specific antigen concentration versus prostate specific antigen density in the early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves. *J Urol* 1994;152:203.
17. Galen RS, Gambino SR. Beyond Normality: The Predictive Value and Efficacy of Medical Diagnoses. New York: Wiley, 1975.
18. Robertson EA, Zweig MH, Van Steirteghem AC. Evaluating the clinical efficacy of laboratory tests. *Am J Clin Pathol* 1983;79:78.
19. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved guideline for assessment of clinical sensitivity and specificity of laboratory tests using receiver operating characteristic (ROC) plots. Document GP10-A. Villanova, PA: NCCLS, 1995.
20. Catalona WJ, et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease. *JAMA* 1998;279:1542-1547.
21. American Chemical Society, Committee on Environmental Improvement, Subcommittee on Environmental Analytic Chemistry. Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry. *Anal Chem* 1980;52:2242.
22. Westgard JO, deVos DJ, Hunt MR, et al. Concepts and practices in the evaluation of clinical chemistry methods: I. Background and approach. *Am J Med Tech* 1978;44:290.

23. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved guideline for precision performance of clinical chemistry devices. Document EP05-A. Villanova, PA: NCCLS, 1999.
24. Westgard JO, deVos DJ, Hunt MR, et al. Concepts and practices in the evaluation of clinical chemistry methods: II. Experimental procedures. *Am J Med Tech* 1978;44:420.
25. Krouwer JS, Rabinowitz R. How to improve estimates of imprecision. *Clin Chem* 1984;30:290.
26. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Proposed guideline for interference testing in clinical chemistry. Document EP07-A. Villanova, PA: NCCLS, 1986 (www.nccls.org).
27. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 4th ed. Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry, 1995.
28. Siest G, Galteau MM. *Drug Effects on Laboratory Test Results*. Littleton, MA: PSG Publishing, 1988.
29. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470.
30. Glick MR, Ryder KW. Analytical systems ranked by freedom from interferences. *Clin Chem* 1987;33:1453.
31. Ryder KW, Glick MR. Erroneous laboratory results from hemolyzed, icteric, and lipemic specimens. *Clin Chem* 1993;39:175-176.
32. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved guideline for method comparison and bias estimation using patient samples. Document EP09-A2. Villanova, PA: NCCLS, 2002.
33. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Proposed guideline for evaluation of linearity of quantitative analytical methods. Document EP6-P2. Villanova, PA: NCCLS, 2001.
34. Cornbleet PJ, Gochman N. Incorrect least-squares regression coefficients in method-comparison analysis. *Clin Chem* 1979;25:432.
35. Feldman U, Schmeider B, Klinkers H. A multivariate approach for the biometric comparison of analytical methods in clinical chemistry. *Clin Biochem* 1981;19:121.
36. Westgard JO, deVos DJ, Hunt MR, et al. Concepts and practices in the evaluation of clinical chemistry methods: IV. Decisions of acceptability. *Am J Med Tech* 1978;44:727.
37. Tonks D. A study of the accuracy and precision of clinical chemistry determinations in 170 Canadian laboratories. *Clin Chem* 1963;9:217.
38. Barnett RN. Medical significance of laboratory results. *Am J Clin Pathol* 1968;50:671.
39. Fraser CG. Data on biological variation: essential prerequisites for introducing new procedures. *Clin Chem* 1994;40:1671-1673.
40. Fraser CG. *Biological Variation: From Principles to Practice*. Washington, D.C.: AACC Press, 2001.
41. U.S. Department of Health and Human Services. Medicare, Medicaid, and CLIA programs. Regulations implementing the clinical laboratory improvement amendments of 1988 (CLIA) final rule. *Federal Register* 1992;57:7002.
42. Ehrmeyer SS, et al. Medicare/CLIA final rules for proficiency testing: minimum intra-laboratory performance characteristics (CV and bias) need to pass. *Clin Chem* 1990;36:1736.
43. Westgard JO, Seehafer JJ, Barry PL. European specifications for imprecision and inaccuracy compared with operating specifications that assure the quality required by U.S. CLIA proficiency-testing criteria. *Clin Chem* 1994;40:1228.
44. Westgard JO, Carey RN, Wold S. Criteria for judging precision and accuracy in method development and evaluation. *Clin Chem* 1974;20:825.
45. Westgard JO, deVos DJ, Hunt MR, et al. Concepts and practices in the evaluation of clinical chemistry methods: V. Applications. *Am J Med Tech* 1978;44:803.
46. National Committee for Clinical Laboratory Standards. User demonstration of performance for precision and accuracy: proposed guideline. Document EP15-A. Wayne, PA: NCCLS, 2001.
47. Buttner J, Borth R, Boutwell JH, et al. Provisional recommendation on quality control in clinical chemistry. *Clin Chem* 1976;22:532.
48. Elin RJ. Elements of cost management for quality assurance. *Pathologist* 1980;34:182.
49. Cembrowski GS, Carey RN. *Laboratory Quality Management*. Chicago: ASCP Press, 1989.
50. Westgard JO, Barry PD. *Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Processes*. Washington, D.C.: AACC Press, 1986.
51. Young DS. *Effects of Pre-Analytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, 2nd ed. Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry, 1997.
52. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved guideline for clinical laboratory procedure manuals, 4th ed. Document GP02-A4. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
53. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved standard for procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture, 4th ed. Document H03-A4. Wayne, PA: NCCLS, 1998.
54. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved standard for procedures for the collection of diagnostic blood specimens by skin puncture, 4th ed. Document H04-A4. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
55. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved standard for the percutaneous collection of arterial blood for laboratory analysis, 2nd ed. Document H11-A2. Villanova, PA: NCCLS, 1992.
56. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved guideline for devices for collection of skin puncture specimens, 2nd ed. NCCLS Document H14-A2. Villanova, PA: NCCLS, 1990.
57. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved standard for procedures for the handling and transport of domestic diagnostic specimens and etiologic agents, 3rd ed. Document H5-A3. Villanova, PA: NCCLS, 1985.
58. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved guideline for procedures for the handling and processing of blood specimens. Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
59. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved guideline for preparation and testing of reagent water in the clinical laboratory, 3rd ed. Document C3-A3. Villanova, PA: NCCLS, 1997.
60. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved standard for power requirements for clinical laboratory instruments and for laboratory power sources. Document I5-A. Villanova, PA: NCCLS, 1980.
61. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved standard for temperature calibration of water baths, instruments, and temperature sensors, 2nd ed. Document I2-A2. Villanova, PA: NCCLS, 1990.
62. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Tentative guideline for calibration materials in clinical chemistry. Document C22-T. Villanova, PA: NCCLS, 1982.
63. Shewhart WA. *Economic Control of Quality of the Manufactured Product*. New York: Van Nostrand, 1931.
64. Levey S, Jennings ER. The use of control charts in the clinical laboratories. *Am J Clin Pathol* 1950;20:1059.
65. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Tentative guideline for control materials in clinical chemistry. Document C23-T. Villanova, PA: NCCLS, 1982.
66. Bowers GN, Burnett RW, McComb RB. Preparation and use of human serum control materials for monitoring precision in clinical chemistry. In: *Selected Methods for Clinical Chemistry*, Vol. 8. Washington, D.C.: American Association of Clinical Chemists, 1977;21.

67. Caputo MJ, et al. Bovine-based serum as quality control material: a comparative analytical study of bovine vs. human controls. Fullerton, CA: Hyland Diagnostics, 1981.
68. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, et al. A multirule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. *Clin Chem* 1981;27:493.
69. Westgard JO, Groth T. Power functions for statistical control rules. *Clin Chem* 1979;25:863.
70. Westgard JO, Groth T, Aronsson T, et al. Performance characteristics of rules for internal quality control: probabilities for false rejection and error detection. *Clin Chem* 1977;23:1857.
71. Westgard JO, Groth T. Design and evaluation of statistical control procedures: applications of a computer "quality control simulator" program. *Clin Chem* 1981;27:1536.
72. Hainline A Jr. Quality assurance: theoretical and practical aspects. In: *Selected Methods for the Small Clinical Chemistry Laboratory*. Washington, D.C.: American Association of Clinical Chemistry, 1982;17.
73. Westgard JO, Groth T, Aronsson T, et al. Combined Shewhart-cusum control chart for improved quality control in clinical chemistry. *Clin Chem* 1977;23:1881.
74. Cembrowski GS, Westgard JO, Eggert AA, et al. Trend detection in control data: optimization and interpretation of Trigg's technique for trend analysis. *Clin Chem* 1975;21:139.
75. Cembrowski GS, Carey RN. Considerations for the implementation of clinically derived quality control procedures. *Lab Med* 1989;20:400.
76. Koch DD, Oryall JJ, Quam EF, et al. Selection of medically useful quality control procedures for individual tests on a multi-test analytical system. *Clin Chem* 1990;36:230-233.
77. Westgard JO: Charts of operational process specifications ("OP-Specs charts") for assessing the precision, accuracy, and quality control needed to satisfy proficiency testing performance criteria. *Clin Chem* 1992;38:1226-1233.
78. Hoffman RG, Waid ME. The "average of normals" method of quality control. *Am J Clin Pathol* 1965;43:134.
79. Cembrowski GS, Chandler EP, Westgard J. Assessment of "average of normals" quality control procedures and guidelines for implementation. *Am J Clin Pathol* 1984;81:492.
80. Douville P, Cembrowski GS, Strauss J. Evaluation of the average of patients, application to endocrine assays. *Clin Chim Acta* 1987;167:173.
81. Cembrowski GS, Westgard JO, Kurtycz DFI. Use of anion gap for the quality control of electrolyte analyzers. *Am J Clin Pathol* 1983;79:688.
82. Bockelman HW, et al. Quality control of electrolyte analyzers: evaluation of the anion gap average. *Am J Clin Pathol* 1984;81:219.
83. Ladenson JH. Patients as their own controls: use of the computer to identify "laboratory error." *Clin Chem* 1975;21:1648.
84. Sheiner LB, Wheeler LA, Moore JK. The performance of delta check methods. *Clin Chem* 1979;25:2034.
85. Wheeler LA, Sheiner LB. A clinical evaluation of various delta check methods. *Clin Chem* 1981;27:5.
86. Ehrmeyer SS, Laessig RH, Schell K. Use of alternate rules (other than the 1_{2s}) for evaluating interlaboratory performance data. *Clin Chem* 1988;34:250.
87. Ehrmeyer SS, Laessig RH. External proficiency testing. In: Cembrowski GS, Carey RN, eds. *Laboratory Quality Management*. Chicago, IL: ASCP Press, 1989;227.
88. Cembrowski GS, Anderson PG, Crampton CA, et al. Pump up your PT IQ. *Med Lab Observer* 1996;28(1):46-51.
89. Cembrowski GS, Crampton C, Byrd J, et al. Detection and classification of proficiency testing errors in HCFA regulated analytes. Application to ligand assays. *J Clin Immunoassay* 1995;17:210.
90. Cembrowski GS, Hackney JR, Carey N. The detection of problem analytes in a single proficiency test challenge in the absence of the Health Care Financing Administration rule violations. *Arch Pathol Lab Med* 1993;117:437.
91. Emergency Care Research Institute. Portable blood glucose monitors. *Health Devices* 1992;21:43-79.
92. Cembrowski GS, Kiechle FL. Point of care testing: critical analysis and practical application. *Adv Pathol Lab Med* 1994;7:3.
93. Goldsmith BM. New POCT guide establishes testing uniformity. *MLO Aug* 1995;50-52.
94. Tsai WW, Nash DB, Seamonds B, et al. Point-of-care versus central laboratory testing: an economic analysis in an academic medical center. *Clin Therap* 1994;16:898-910.
95. Bailey TM, Topham TM, Wantz S, et al. Laboratory process improvement through point-of-care testing. *J Quality Improvement* 1997;23:363-380.
96. Ross JW, Boone DJ. Assessing the effect of mistakes in the total testing process on the quality of patient care. [Abstract] Presented at the 1989 Institute on Critical Issues in Health Laboratory Practice, sponsored by the Centers for Disease Control and the University of Minnesota. Minneapolis, MN: April 9-12, 1989.
97. Harrington HJ. *The Improvement Process*. New York: McGraw-Hill, 1987.
98. Westgard JO, Barry PL. Total quality control: evolution of quality management systems. *Lab Med* 1989;20:377.
99. Berwick DM. Continuous improvement as an ideal in health care. *N Engl J Med* 1989;320:53.
100. Laffel G, Blumenthal D. The case for using industrial quality management science in health care organizations. *JAMA* 1989;262:2869.

Técnicas analíticas e instrumentación

Alan H. B. Wu

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

■ ESPECTROFOTOMETRÍA Y FOTOMETRÍA

Ley de Beer

Instrumentos espectrofotométricos

Elementos de un espectrofotómetro

Aseguramiento de la calidad del espectrofotómetro

Espectrofotómetro de absorción atómica

Fotometría de flama

Fluorometría

Quimioluminiscencia

Turbidez y nefelometría

Aplicaciones láser

■ ELECTROQUÍMICA

Celdas galvánicas y electrolíticas

Semiceldas

Electrodos selectivos de iones (ESI)

Electrodos de PH

Electrodos detectores de gas

Electrodos de enzimas

Clorídometros coulométricos y voltametría de separación anódica

■ ELECTROFORESIS

Procedimiento

Materiales de soporte

Tratamiento y aplicación de la muestra

Detección y cuantificación

Electroendosmosis

Enfoque isoelectrico

Electroforesis capilar

■ CROMATOGRAFÍA

Modos de separación

Procedimientos cromatográficos

Cromatografía líquida de alta presión (CLAP)

Cromatografía de gases

■ INSTRUMENTACIÓN PARA PROTEÓMICA

Electroforesis bidimensional

Espectrometría de masas MADI-TOF y SELDI-TOF

■ OSMOMETRÍA

Osmómetro de punto de congelamiento

■ TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA PRUEBAS EN EL LUGAR DE LA ATENCIÓN (PLDA)

■ RESUMEN

■ PREGUNTAS DE REPASO

■ REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al terminar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Explicar los principios generales de cada método analítico.
- Analizar las limitaciones de cada técnica analítica.
- Comparar y contrastar las distintas técnicas analíticas.
- Analizar las aplicaciones clínicas existentes para cada técnica analítica.
- Explicar la operación y los elementos de los instrumentos siguientes: espectrofotómetro, espec-

trómetros de absorción atómica, fluorómetro, cromatógrafo de gases, osmómetro, electrodo selectivo de iones y electrodo para pH.

- Resumir los procedimientos de aseguramiento de calidad y mantenimiento preventivo que se relacionan con los instrumentos siguientes: espectrofotómetro, espectrómetro de absorción atómica, fluorómetro, cromatógrafo de gases, osmómetro, electrodo selectivo de iones y electrodo para pH.

TÉRMINOS CLAVE

Absorción atómica
Cromatografía de gases
Cromatografía de líquidos

Electrodos selectivos de iones
Electroforesis

Electroquímica
Espectrofotometría
Fluorometría

Pruebas en el lugar de atención (PLDA)
Quimiluminiscencia

Las técnicas analíticas y la instrumentación representan las bases de todas las mediciones hechas en un laboratorio moderno de química clínica. La mayor parte de las técnicas se ubican en una de las cuatro disciplinas básicas del campo de la química analítica: espectrometría (como espectrofotometría, absorción atómica y espectrofotometría de masa), luminiscencia (entre las que están fluorescencia, quimioluminiscencia y nefelometría); métodos electroanalíticos (como electroforesis, potenciometría y amperometría) y cromatografía (de gases, de líquidos y de capa fina). Debido a los adelantos en óptica, electrónica y en la fabricación de computadoras, los instrumentos ya se producen en miniatura. Esta miniaturización ha permitido la producción de dispositivos para efectuar pruebas en el lugar de atención, los cuales proporcionan resultados tan seguros como los instrumentos que se encuentran en un gran laboratorio.

ESPECTROFOTOMETRÍA Y FOTOMETRÍA

Los instrumentos para medir la radiación electromagnética comparten varios conceptos y partes en común. Los componentes comunes de los instrumentos se tratan con mayor profundidad en una sección posterior. Los instrumentos fotométricos miden la alta intensidad sin considerar la longitud de onda. En la actualidad, la mayor parte de instrumentos contienen filtros (fotómetros), prismas, o rejillas (espectrómetros) para seleccionar (aislar) pocos valores de la longitud de onda incidente. De la energía radiante que pasa a través de un objeto, una parte se reflejará, se absorberá y se transmitirá.

La radiación electromagnética se describe como fotones de energía que viajan en ondas. La relación entre longitud de onda y energía E se expresa mediante la fórmula de Planck:

$$E = h\nu \quad (\text{Ec. 4-1})$$

donde h = una constante (6.62×10^{-27} erg s), conocida como constante de Planck

ν = frecuencia

Como la frecuencia de una onda es inversamente proporcional a la longitud de onda, entonces la energía de la radiación electromagnética es inversamente proporcional a la longitud de onda. En la figura 4-1 se ilustra dicha relación. En la radiación electromagnética está contenido un espectro de energía de longitud de onda corta, rayos energéticos gamma y X a la izquierda de la figura 4-1B hasta frecuencias de radio de longitud de onda larga a la derecha. La luz visible queda entre la longitud de onda del color violeta a 400 nm y el rojo a 700 nm, que son casi los límites del espectro visible.

Los instrumentos que se estudian en esta sección miden la absorción o la emisión de la energía radiante para determinar la concentración de átomos o moléculas. Estos dos fenómenos, la absorción y la emisión, guardan una relación muy estrecha. Para que un rayo de radiación electromagnética sea absorbido debe tener la misma frecuencia que una rotacional o vibratoria del átomo o molécula contra la que choca. Los niveles de energía que son absorbidos se desplazan en etapas discretas, y cualquier tipo particular de molécula o átomo absorberá sólo ciertas energías y no otras. Cuando la energía es absorbida, los electrones de valencia se desplazan hacia un orbital de mayor nivel. Después de la absorción de energía, los electrones excitados regresan a su estado basal mediante la emisión de una cantidad discreta de energía en la forma de una longitud de onda característica de energía radiante.

La absorción o la emisión de energía por parte de los átomos dan como resultado un espectro de líneas. Debido a la complejidad relativa de las moléculas, éstas absorben o emiten una cantidad de energía comprendida en una gran región. La luz que emiten los sólidos incandescentes (tungsteno o deuterio) es un continuo. Los tres tipos de espectros se muestran en la figura 4-2.¹⁻³

Ley de Beer

Beer y col describieron la relación que hay entre la luz que absorbe una disolución y la concentración de esa misma disolución. La ley de Beer establece que la concentración de una sustancia es directamente proporcional a la cantidad

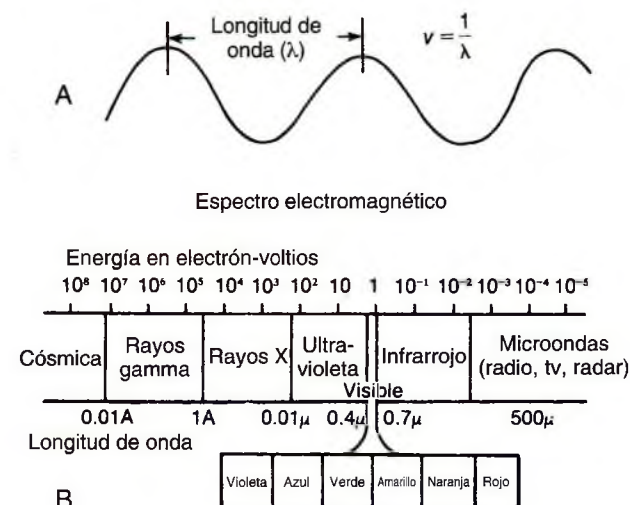


FIGURA 4-1. Radiación electromagnética—relación de la energía y la longitud de onda.

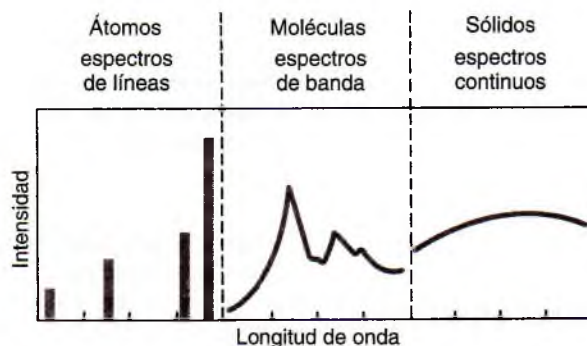


FIGURA 4-2. Espectros característicos de absorción y emisión. (Tomado de Coiner D. Basic Concepts in Laboratory Instrumentation. Bethesda, MD: ASMT Education and Research Fund, 1975-1979.)

de luz absorbida o inversamente proporcional al logaritmo de la luz transmitida. El porcentaje de transmitancia (% T) y absorbancia (A) son términos fotométricos relacionados que se estudian en esta sección.

En la figura 4-3A se ilustra un rayo de luz monocromática que penetra en una disolución. Una parte de la luz es absorbida. El resto sigue su curso, choca con un detector de luz y es convertida en una señal eléctrica. El *porcentaje de transmitancia* es la relación de la energía radiante transmitida (T) dividida entre la energía radiante que incide en la muestra (I). Si toda la luz es absorbida o bloqueada el resultado es 0% T . Un nivel de 100% T se obtiene si nada de la luz se absorbe. En la práctica, el disolvente sin el constituyente de interés se coloca en la trayectoria de la luz, como se muestra en la figura 4-3B. La mayor parte de la luz se transmite, pero el disolvente o el recipiente absorben una pequeña cantidad o se refleja lejos del detector. El dispositivo eléctrico de lectura del instrumento se fija en forma arbitraria en una transmitancia de 100%, mientras la luz pasa a través de un medio de referencia o blanco. La muestra que contiene moléculas absorbentes que se desea medir se coloca en la trayectoria de la luz. La diferencia en cantidad de luz transmitida por el

blanco y la que transmite la muestra se debe sólo a la presencia del compuesto que se está midiendo. El porcentaje de transmitancia que miden los espectrofotómetros comerciales es la relación del rayo que transmite la muestra dividido entre el rayo que transmite el medio de referencia.

Espesores iguales de un material absorbente absorberán una fracción constante de la energía que incide en las capas. Por ejemplo, en un conducto que contiene capas de disolución (fig. 4-4A), la primera capa transmite 70% de la luz que incide en ella. A su vez, la segunda capa transmitirá 70% de la luz que incide en ella. Por consiguiente, la segunda capa transmite 70% del 70% (49%). La tercera capa transmite 70% del 49%, es decir, 34% de la luz original. Si se continúa de esta manera, las capas sucesivas transmiten 24 y 17%, respectivamente. Los valores de % T , al ser graficados en papel para gráficas lineales, generan la curva que se presenta en la figura 4-4B. Si se considera que cada capa igual es como si fueran muchas capas monomoleculares, se puede traducir capas de material en concentración. Si se usa papel semilogarítmico para graficar los mismos valores, se obtiene una recta (fig. 4-4C), lo cual indica que a medida que la concentración aumenta, disminuye el % T en forma logarítmica.

La absorbancia A es la cantidad de luz que se absorbe. Un espectrofotómetro no la puede medir en forma directa, sino que se deriva en forma matemática a partir de % T como se indica a continuación:

$$\%T = \frac{I}{I_0} \times 100 \quad (\text{Ec. 4-2})$$

donde I_0 = luz incidente
 I = luz transmitida

La absorbancia se define como

$$A = -\log(I/I_0) = \log(100\%) - \log \%T = 2 - \log \%T \quad (\text{Ec. 4-3})$$

De acuerdo con la ley de Beer, la absorbancia es directamente proporcional a la concentración (fig. 4-4D):

$$A = \epsilon \times b \times c \quad (\text{Ec. 4-4})$$

donde ϵ = absorptividad molar, la fracción de una longitud de onda específica de luz absorbida por un tipo dado de molécula

b = longitud de la trayectoria de la luz a través de la disolución

c = concentración de las moléculas absorbentes

La absorptividad depende de la estructura molecular y de la manera en que las moléculas absorbentes reaccionan con energías diferentes. Para cualquier tipo de molécula particular, la absorptividad cambia cuando la longitud de onda de la radiación así lo hace. La cantidad de la luz que es absorbida a una longitud de onda particular depende de los tipos de moléculas y de iones que estén presentes y podría variar con la concentración, el pH o la temperatura.

Debido a que la longitud de la trayectoria y la absorptividad molar son constantes para una determinada longitud de onda,

$$A \propto C \quad (\text{Ec. 4-5})$$

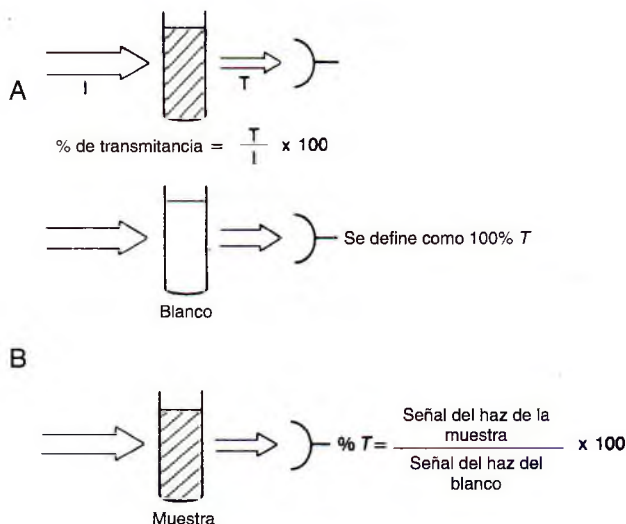


FIGURA 4-3. Porcentaje de transmitancia (% T).

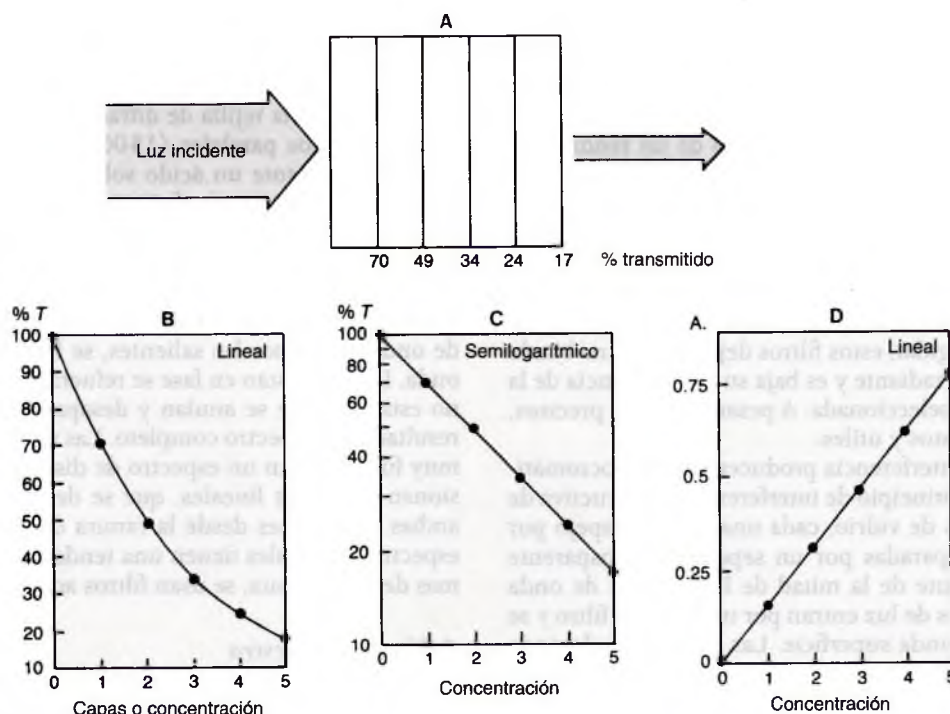


FIGURA 4-4. (A) Porcentaje de la luz incidente original transmitida por capas iguales de la disolución que absorbe luz; (B) porcentaje de transmitancia en función de la concentración en papel para gráficas lineales; (C) % T en función de la concentración en papel semilogarítmico; (D) A en función de la concentración en papel para gráficas lineales.

Las concentraciones desconocidas se determinan a partir de una curva de calibración en la que se grafica absorbancia a una longitud de onda específica en función de la concentración para estándares de concentración conocida. Por lo que se refiere a las curvas de calibración que son lineales y tienen una ordenada al origen y igual a cero, las concentraciones desconocidas se determinan a partir de un calibrador. Por otro lado, no todas las curvas de calibración son lineales. Las desviaciones de la linealidad se observan casi siempre a absorbancias altas. La luz parásita dentro de un instrumento limitará en última instancia la absorbancia máxima que puede alcanzar un espectrofotómetro; en general, 2.0 unidades de absorbancia.

Instrumentos espectrofotométricos

Con un espectrofotómetro se mide la luz transmitida por una disolución para determinar la concentración de la sustancia que absorbe luz y que está dentro de la disolución. Los componentes básicos de un espectrofotómetro de haz único se presentan en la figura 4-5, y se describen en las secciones siguientes.

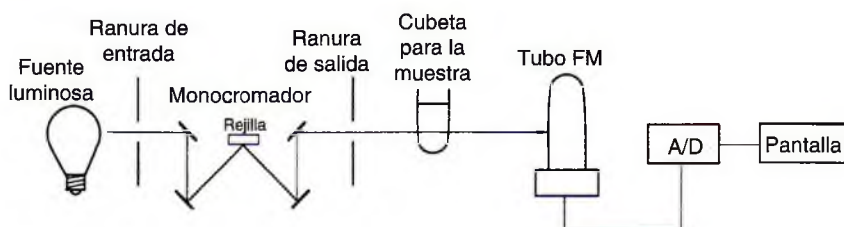


FIGURA 4-5. Espectrofotómetro de haz único.

Elementos de un espectrofotómetro

Fuente de luz

La fuente de luz más común para trabajar en la región visible y en la cercana al infrarrojo es la lámpara de tungsteno o de yoduro de tungsteno. Sólo alrededor de 15% de energía radiante emitida cae en la región visible; la mayor parte de la emisión es cercana al infrarrojo.¹⁻³ Con frecuencia se inserta un filtro que absorbe calor entre la lámpara y la muestra para absorber la radiación infrarroja.

Las lámparas que se utilizan más para trabajar con la luz ultravioleta son las de descarga de deuterio o la lámpara de arco de mercurio. El deuterio proporciona una emisión continua abajo de 165 nm. Las lámparas de mercurio de baja presión emiten un espectro de líneas nítidas, tanto con líneas ultravioleta como visibles. Las lámparas de mercurio de presión media y alta emiten un continuo desde la región ultravioleta hasta la media visible. Los factores más importantes en lo que se refiere a la fuente de luz son el alcance, la distribución espectral dentro del alcance, la fuente de producción radiante, la estabilidad de la energía radiante y la temperatura.

Monocromadores

El aislamiento de longitudes particulares de onda de luz es una función importante y necesaria de un monocromador. El grado de aislamiento de la longitud de onda es una función del tipo de dispositivo y el ancho de las rendijas de entrada y salida. El paso de banda de un monocromador define la amplitud de las longitudes de onda transmitidas y se calcula como ancho a más de la mitad de la transmitancia máxima (fig. 4-6).

Se utilizan numerosos dispositivos para obtener luz monocromática. Los menos caros son los filtros de vidrio de color. Por lo regular, estos filtros dejan pasar una banda amplia de energía radiante y es baja su transmitancia de la longitud de onda seleccionada. A pesar de no ser precisos, son sencillos, baratos y útiles.

Los filtros de interferencia producen luz monocromática con base en el principio de interferencia constructiva de ondas. Dos piezas de vidrio, cada una con un espejo por un lado, están separadas por un separador transparente que es precisamente de la mitad de la longitud de onda deseada. Las ondas de luz entran por un lado del filtro y se reflejan en la segunda superficie. Las longitudes de onda que son del doble del espacio entre las dos superficies de vidrio se reflejarán de un lado al otro, reforzando a otras de las mismas longitudes de onda y, para finalizar, continuar su paso. Otras longitudes de onda se anularán entre sí debido a las diferencias de fase (interferencia destructiva). Puesto que los filtros de interferencia transmiten también múltiplos de las longitudes de onda deseadas, requieren filtros accesorios para eliminar estas longitudes de onda armónicas. Los filtros de interferencia se construyen para que pasen en forma efectiva unas longitudes de onda de un margen estrecho de valores.

El prisma es otro tipo de monocromador. Un haz angosto de luz enfocado sobre un prisma se refracta a medida que entra al vidrio más denso. Las longitudes de onda cortas se refractan más que las longitudes de onda largas, lo que ocasiona dispersión de la luz blanca en un espectro continuo. El prisma se puede hacer girar, lo que permite

que sólo pase la longitud de onda deseada a través de la ranura de salida.

Se usan más las rejillas de difracción que los monocromadores. Una rejilla de difracción consta de gran cantidad de surcos paralelos (15 000 o 30 000 por pulgada) grabadas mediante un ácido sobre una superficie pulida. La difracción, que es la descomposición de la luz en sus longitudes de onda constituyentes, se basa en el principio que establece que las longitudes de onda se curvan cuando pasan por una esquina puntiaguda. El grado de flexión depende de la longitud de onda. Cuando las longitudes de onda pasan por las salientes, se forman los frentes de onda. Los que están en fase se refuerzan entre sí, y los que no están en fase se anulan y desaparecen. Esto da como resultado un espectro completo. Las rejillas con un rayado muy fino generan un espectro de dispersión amplia. Ocasionan espectros lineales, que se denominan *órdenes*, en ambas direcciones desde la ranura de entrada. Como los espectros múltiples tienen una tendencia a causar problemas de luz parásita, se usan filtros accesorios.

Celda de la muestra

El siguiente elemento del espectrofotómetro básico es la celda de la muestra o cubeta, la cual puede ser redonda o cuadrada. Se debe conservar constante la trayectoria de la luz con el objeto de que la absorbancia sea proporcional a la concentración. Lo anterior se verifica con facilidad mediante la preparación de una disolución de color para leer la escala media cuando se usa la longitud de onda de máxima absorción. Se tiene que llenar cada cubeta que se someterá a prueba, se toma la lectura y se conservan las que se mantienen dentro de una tolerancia aceptable (p. ej., $\pm 0.25\%$ T). Como es difícil fabricar tubos redondos de diámetro uniforme, se tienen que marcar con ácido para indicar la posición de uso. Las cubetas se venden por juegos. Las cubetas cuadradas tienen superficies ópticas en planos paralelos y una trayectoria de luz constante. En comparación con las cubetas redondas, las cuadradas tienen a su favor que hay menos error por el efecto de las lentes, la orientación en el espectrofotómetro y la refracción. Las cubetas con superficies ópticas rayadas dispersan la luz y se deben desechar. Las cubetas de vidrio baratas se pueden usar en aplicaciones en la región visible, pero absorben luz en la región ultravioleta. Por tanto, se deben usar cubetas de cuarzo en el caso de que se requiera utilizar radiación ultravioleta.

Fotodetectores

El objetivo de los detectores es transformar la energía radiante transmitida en una cantidad equivalente de energía eléctrica. El dispositivo menos caro se conoce como *celda de capa-barrera* o *fotocelda*. Ésta está compuesta de una película de material sensible a la luz, casi siempre selenio, sobre una placa de hierro. Sobre el material sensible a la luz está una capa fina y transparente de plata. Cuando se expone a la luz, los electrones del material sensible a la luz se excitan y se liberan para fluir hacia la plata altamente conductora. En comparación con la plata, una resistencia moderada se opone al flujo de electrones hacia el hierro, lo

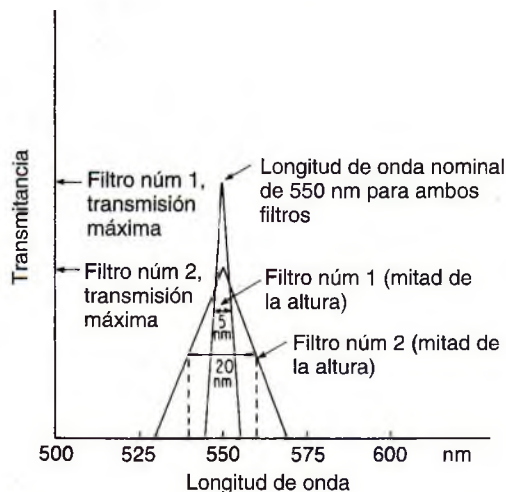


FIGURA 4-6. Transmitancia espectral de dos monocromadores con paso de banda a la mitad de la altura de 5 y 20 nm.

que forma una barrera hipotética al flujo en esa dirección. Por consiguiente, esta celda genera su propia fuerza electromotriz, la cual se puede medir. La corriente producida es proporcional a la radiación incidente. Las fotoceldas no requieren un voltaje externo, sino que se apoyan en la transferencia interna de electrones para producir una corriente en un circuito externo. Debido a su resistencia interna baja, la salida de energía eléctrica no se amplifica con facilidad. Por tanto, este tipo de detectores se usa principalmente en los fotómetros para filtros, con paso de banda amplio, lo que produce un nivel alto de iluminación, de modo que no hay necesidad de amplificar la señal. La fotocelda es barata y durable, pero es sensible a la temperatura y no lineal a niveles de iluminación muy bajos o muy altos.

Un *fototubo* (fig. 4-7) es similar a una celda de capa barrera, ya que tiene material fotosensible que emite electrones cuando lo golpea la energía luminosa. La diferencia es que se requiere un voltaje externo para su operación. Los fototubos constan de un cátodo con carga negativa y un ánodo con carga positiva acomodados en un recipiente de vidrio. El cátodo está compuesto de un material (como rubidio o litio) que actúa como una resistencia en la oscuridad, pero emite electrones cuando está expuesto a la luz. Los electrones liberados saltan al ánodo con carga positiva, donde se agrupan y retornan por un circuito externo y mensurable. Por lo común, el cátodo posee una gran área superficial. Si varía el material del cátodo cambia la longitud de onda a la cual el fototubo proporciona su respuesta más alta. La fotocorriente es lineal con la intensidad de la luz que choca con el cátodo, siempre que el voltaje entre el cátodo y el ánodo permanezca constante. La dispersión de los fotoelectrones por los choques con las moléculas de gas se evita con un vacío dentro de los tubos.

El tercero de los principales tipos de detectores de luz es el *tubo fotomultiplicador* (FM), el cual detecta y amplifica la energía radiante. Como se ilustra en la figura 4-8, la luz incidente choca con el cátodo revestido, lo cual genera la emisión de electrones. Una serie de ánodos, conocida como *dínodos*, atraen a los electrones; cada dínodo tiene un voltaje sucesivamente más alto. Estos dínodos son de

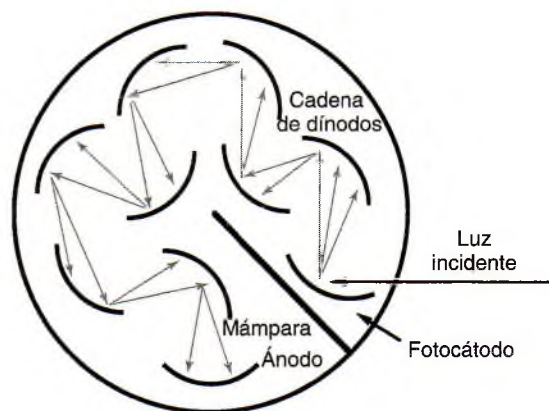


FIGURA 4-8. Cadena de dínodos en un tubo fotomultiplicador.

un material que emite muchos electrones secundarios cuando electrones solos chocan contra él. La emisión inicial de electrones en el cátodo desencadena una cascada de electrones dentro del tubo fotomultiplicador. A causa de esta amplificación, el tubo FM es 200 veces más sensible que el fototubo. Los tubos FM forman parte de instrumentos cuyo diseño los hace en extremo sensibles a niveles de luz muy bajos y destellos de luz de muy corta duración. La acumulación de electrones que golpean el ánodo genera una señal de corriente, que se mide en amperes, que es proporcional a la intensidad inicial de la luz. La señal analógica se convierte primero en un voltaje y luego en una señal digital por medio de un convertidor analógico-a-digital (A/D). Las señales digitales se procesan en forma electrónica para producir lectura de absorbancia.

En un *fotodiodo*, la absorción de energía radiante por medio de un diodo polarizado inversamente de unión positiva-negativa genera una fotocorriente que es proporcional a la potencia radiante incidente. Aunque los fotodiodos no son tan sensibles como los tubos FM debido a la falta de amplificación interna, su excelente linealidad (6 a 7 décadas de potencia radiante), velocidad y pequeñas dimensiones los hacen útiles en aplicaciones donde los niveles de luz son adecuados.⁴ Está disponible un *conjunto de fotodiodos* (CFD) en circuitos integrados que contienen 256 a 2048 fotodiodos en una disposición lineal. Un acomodo lineal se muestra en la figura 4-9. Cada fotodiodo responde a una longitud de onda específica, y, como resultado, se obtiene un espectro completo UV/visible en menos de un segundo. La resolución es 1 a 2 nm y depende de la cantidad de elementos discretos. En los espectrofotómetros que contienen detectores CFD, la rejilla se coloca *después* de la cubeta para la muestra y dispersa la radiación *transmitida* sobre el detector CFD (fig. 4-9).

En el caso de los espectrofotómetros de haz único, la lectura de absorbancia de la muestra se debe efectuar por medio de un blanco, usando una disolución de referencia apropiada que no contenga el compuesto de interés. Los espectrofotómetros de doble haz permiten la corrección automática de la absorbancia de la muestra y de la disolución de referencia, como se muestra en la figura 4-10.

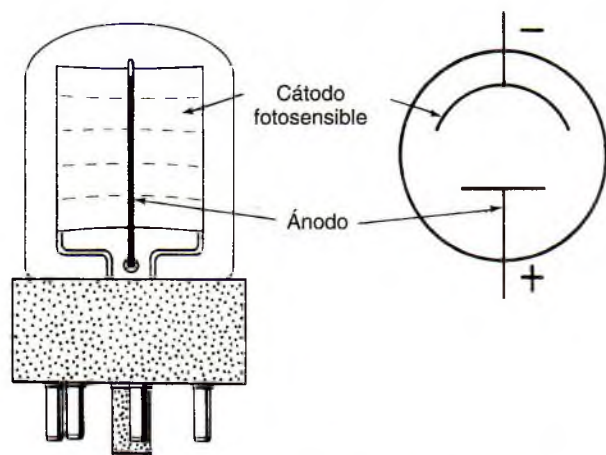


FIGURA 4-7. Dibujo y esquema de un fototubo.

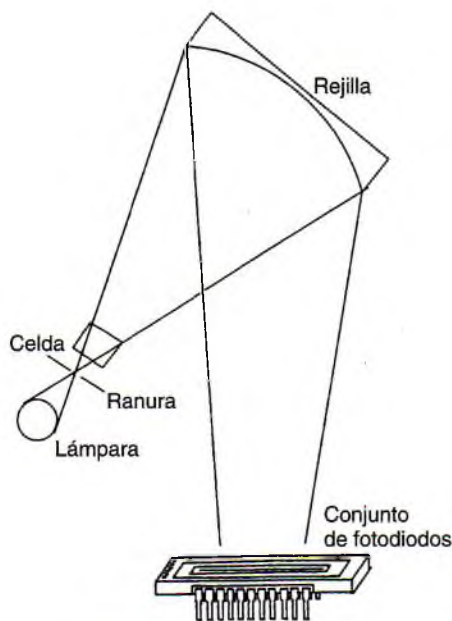


FIGURA 4-9. Espectrofotómetro de conjunto de fotodiodos, se ilustra la ubicación de la cubeta de la muestra ante el monocromador.

Puesto que las intensidades de las fuentes de luz varían en función de la longitud de onda, los espectrofotómetros de doble haz son necesarios cuando se debe obtener el espectro de absorción de una muestra. Los espectrofotómetros de haz único, por computadora y de puesta en ceros en forma continua han reemplazado a la mayor parte de los espectrofotómetros de haz doble.

Aseguramiento de la calidad del espectrofotómetro

Al ejecutar por lo menos las siguientes comprobaciones valida la función del instrumento: exactitud de la longitud de onda, luz parásita y linealidad. *Exactitud de la longitud de onda* quiere decir que la longitud de onda que está indicada en la carátula es la longitud de onda real de la luz que pasa por el monocromador. Por lo común se comprueba usando disoluciones absorbentes normales o filtros con absorbancia máxima de longitud de onda conocida. El didimio u óxido de holmio en vidrio es estable y, a menudo, se usa como filtro. El filtro se ubica en la trayectoria de la luz y el control de la longitud de onda se fija

en la longitud de onda a la cual se espera la absorbancia máxima. El control de la longitud de onda se hace girar en una dirección u otra para localizar la longitud de onda real que tiene la absorbancia máxima. Si estas dos longitudes de onda no concuerdan, se debe ajustar el sistema óptico para calibrar correctamente el monocromador.

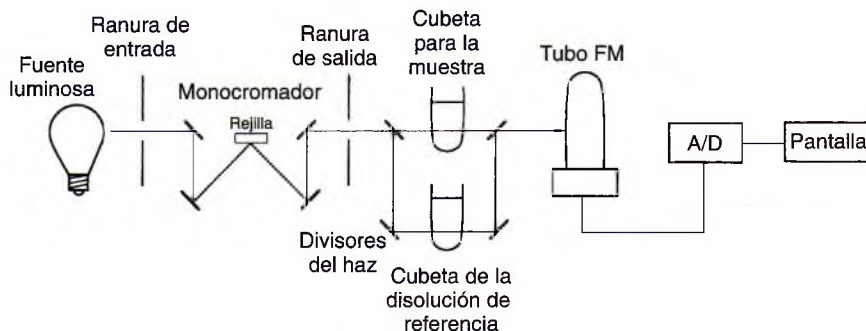
Algunos instrumentos con paso de banda angosto tienen una lámpara de vapor de mercurio para comprobar la exactitud de la longitud de onda. La fuente de luz común se sustituye por la lámpara de mercurio, y el espectro se barre para localizar las líneas de emisión de mercurio. La longitud de onda indicada en el control se compara contra los picos de la emisión de mercurio conocidos para determinar la exactitud del control del indicador de la longitud de onda.

La *luz parásita* se refiere a cualquier longitud de onda fuera de la banda que transmite el monocromador. Las causas más comunes de luz parásita son la luz que se refleja en rayaduras en las superficies ópticas o en las partículas de polvo que se encuentren en la trayectoria de la luz y a espectros de orden superior producidos por rejillas de difracción. El principal efecto es el error de absorbancia, sobre todo en el intervalo de alta absorbancia. La luz parásita se detecta usando filtros de corte, que eliminan toda la radiación a longitudes de onda más allá de la de interés. Para comprobar si hay luz parásita en la región ultravioleta cercana, por ejemplo, se instala un filtro que no transmita en la región de 200 a 400 nm. Si la lectura del instrumento es mayor que 0% T, hay luz parásita presente. Ciertos líquidos, como el NiSO_4 , NaNO_2 y la acetona son muy absorbentes a longitudes de onda cortas, por lo que se pueden usar de la misma manera para detectar luz parásita en la región UV.

La *linealidad* se demuestra cuando existe un cambio en la concentración en una curva de calibración recta, como se explica en la ley de Beer. Las soluciones coloreadas se podrían diluir con todo cuidado y emplear para comprobar la linealidad, utilizando la longitud de onda de absorbancia máxima para ese color. Juegos sellados de diferentes colores y concentraciones se encuentran en el comercio. Se les debe colocar un marbete con la absorbancia que se debe esperar en un instrumento de paso de banda dado. Una absorbancia menor que la esperada es un indicio de luz parásita o de un paso de banda más amplio que lo especificado. En el comercio se pueden encontrar juegos de filtros de densidad neutra para comprobar la linealidad sobre un intervalo de longitudes de onda.

Se debe planear un sistema de rutina para cada instrumento con el fin de verificar y registrar cada parámetro. La causa

FIGURA 4-10. Espectrofotómetro de doble haz.



probable de un problema y el mantenimiento requerido para eliminarlo se explican en el manual del instrumento.

Espectrofotómetro de absorción atómica

El espectrofotómetro de *absorción atómica* se emplea para medir la concentración mediante la detección de radiación electromagnética que absorben los átomos y no las moléculas. Las partes básicas se ilustran en la figura 4-11. La fuente de luz común, conocida como *lámpara de cátodo hueco*, consta de una cámara al vacío, hermética al gas, en la que se encuentra un ánodo, un cátodo cilíndrico y un gas inerte, que puede ser helio o argón. Cuando el voltaje se aplica, el gas del filtro se ioniza. Los iones atraídos al cátodo chocan contra el metal, desprenden a los átomos y hacen que se exciten. Cuando retornan a su estado basal, se emite energía luminosa que es característica del metal en el cátodo. En general, se requiere una lámpara separada para cada metal (p. ej., una lámpara de cátodo hueco de cobre se usa para medir Cu).

Las lámparas de descarga luminosa sin electrodo son una nueva fuente de luz para los espectrofotómetros de absorción atómica. Se llena un bulbo con argón y el elemento que se desea examinar. Un generador de radiofrecuencia alrededor del bulbo suministra la energía para excitar al elemento, lo cual causa la emisión característica del espectro del elemento.

La muestra analizada debe contener el metal reducido en el estado atómico vaporizado. Por lo regular, esto se logra utilizando el calor de una flama para romper los enlaces químicos y producir átomos libres y no excitados. La flama es la celda de la muestra en este instrumento, y ya no se usa una cubeta. Hay varios diseños, pero el quemador más común es el *quemador de premezcla de larga trayectoria óptica*. La muestra, en disolución, se introduce como una aspersión dentro de una cámara, donde se mezcla con aire y combustible. La mezcla pasa por placas desviadoras, en donde las gotas grandes caen y son desalojadas. Sólo las

gotas finas llegan hasta la flama. El quemador es una ranura larga y angosta que permite una longitud de la trayectoria mayor para absorber la radiación incidente. La luz que proviene de la lámpara de cátodo hueco atraviesa la muestra de átomos en estado basal que están en la flama. La cantidad de luz absorbida es proporcional a la concentración. Cuando un átomo en estado basal absorbe energía luminosa, se produce un átomo excitado. Éste regresa entonces a su estado basal, emitiendo luz de la misma energía que absorbió. Por consiguiente, la muestra de la flama contiene una población dinámica de átomos en estado basal y átomos excitados, que absorben y emiten energía radiante. La energía emitida proveniente de la flama se difundirá en todas direcciones, y será una emisión permanente. Puesto que el objetivo del instrumento es medir la cantidad de luz absorbida, el detector de la luz debe tener la aptitud de diferenciar entre el haz luminoso emitido por la lámpara de cátodo hueco y el emitido por los átomos excitados que se encuentran en la flama. Para lograrlo, el haz luminoso del cátodo hueco se modula insertando un interruptor giratorio mecánico entre la luz y la flama, o bien, pulsando el suministro eléctrico de la lámpara. Como el haz luminoso absorbido entra a la muestra en pulsos, la luz se transmite también en pulsos. Habrá menos luz en los pulsos transmitidos porque parte será absorbida. Por tanto, hay dos señales luminosas provenientes de la flama —una señal alternante de la lámpara de cátodo hueco y una directa de la emisión de la flama. El circuito de medición se sintoniza con la frecuencia modulada. La interferencia proveniente de la emisión de la flama constante se elimina electrónicamente al aceptar sólo la señal en forma de pulsos del cátodo hueco.

El monocromador se utiliza para aislar la línea de emisión deseada de las otras líneas de emisión de la lámpara. Además, funciona como protección del fotodetector contra la luz excesiva que emana de las emisiones de la flama. Un tubo FM es el detector de luz usual.

La absorción atómica sin flama requiere una modificación de instrumentos en la que se incluye un horno

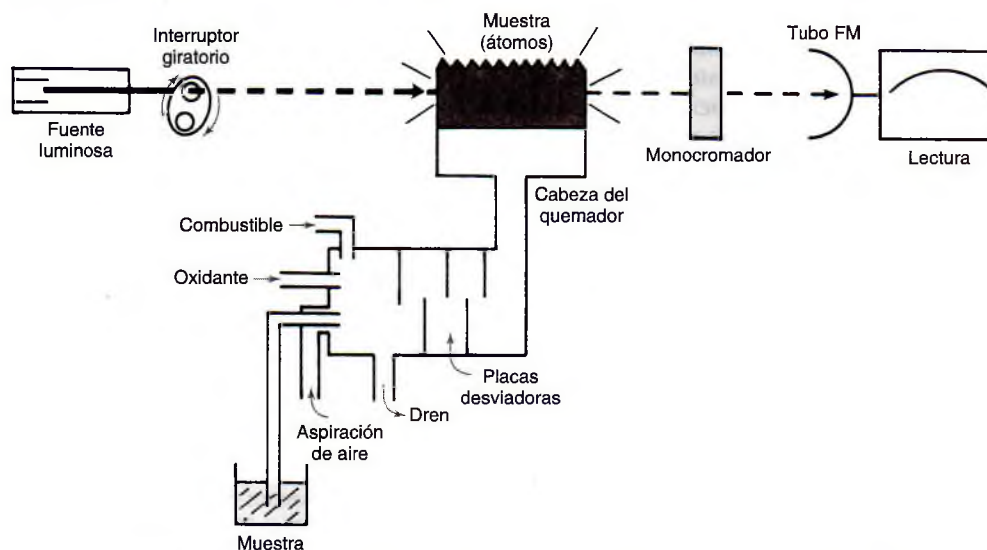


FIGURA 4-11. Elementos básicos de un espectrofotómetro de haz único y absorción atómica.

eléctrico para romper los enlaces químicos (atomización electrotérmica). La muestra, líquida o sólida, está contenida en un pequeñísimo cilindro de grafito. Se pasa una corriente eléctrica por las paredes del cilindro, se evapora el disolvente, se convierte la muestra en cenizas y, para terminar, se calienta la unidad hasta la incandescencia para atomizar la muestra. Este instrumento, al igual que el espectrofotómetro, se utiliza para determinar la cantidad de luz absorbida. Una vez más, la ley de Beer se aplica para calcular la concentración. Uno de los problemas principales es que la corrección elemental es en gran medida más necesaria y crítica para las técnicas electrotérmicas que para los métodos de absorción atómica basados en la flama. En la actualidad, el enfoque más común requiere una lámpara de deuterio como fuente secundaria, y se mide la diferencia entre las dos señales de absorbancia. Ha habido un gran adelanto en las técnicas de corrección elemental basada en el efecto Zeeman.¹ La presencia de un campo magnético intenso ocasionará que la longitud de onda de la radiación emitida se desplace ligeramente; este desplazamiento en la longitud de onda es el efecto Zeeman.

La espectrofotometría de absorción atómica es sensible y precisa. Se usa en forma rutinaria para medir la concentración de los oligometales que no se excitan con facilidad. Por lo general es más sensible que la emisión de flama porque la mayor parte de átomos producidos en la flama de propano o de aire y acetileno permanecen en el estado basal disponibles para la absorción luminosa. Es exacta, precisa y específica. Una desventaja es que la flama es incapaz de disociar las muestras en átomos libres. Por ejemplo, el fosfato podría interferir en el análisis del calcio porque se formaría fosfato de calcio. Esto se podría superar añadiendo cationes que compitieran contra el calcio por el fosfato. Como rutina, se añaden lantano o estroncio a las muestras para formar complejos estables con el fosfato. Otro problema posible es la ionización de los átomos después de la disociación por la flama, la cual se puede disminuir reduciendo la temperatura de la flama. Otra fuente de error puede ser la interferencia de la matriz a causa de la intensificación de la absorción de la luz por los átomos que se encuentran en los disolventes orgánicos o la formación de gotitas sólidas cuando el disolvente se evapora en la flama. Esta interferencia se podría superar sometiendo la muestra a un tratamiento de extracción previo.⁵

Hace poco tiempo se empezó a usar el plasma acoplado por inducción (PAI) para aumentar la sensibilidad con respecto a la emisión atómica. Se ha dado a conocer que el soplete, un plasma de argón mantenido por la interacción de un campo de radiofrecuencia y un gas de argón ionizado, proporciona temperaturas de entre 5 500°K y 8 000°K. La opinión es que la atomización completa de los elementos se presenta en estas temperaturas. Se recomienda el uso del plasma acoplado por inducción como una fuente para determinaciones en las que se emplean elementos refractarios como el uranio, circonio y boro. El plasma acoplado por inducción y detección con espectrómetro de masas es la técnica más sensible y específica para todos los elementos de la tabla periódica. La espectrofotometría de absorción atómica se usa con menor frecuencia a causa de esta nueva técnica.

Fotometría de flama

El fotómetro de emisión de flama, el cual mide la luz que emiten los átomos excitados, se usó de manera amplia para determinar la concentración de Na^+ , K^+ o Li^+ . Con el surgimiento de los electrodos selectivos de iones para estos analitos, este tipo de fotómetros ha dejado de usarse en forma rutinaria en los laboratorios de química clínica. Por tanto, esta técnica ya no se trata en esta edición. El lector debe consultar las ediciones anteriores de esta obra.

Fluorometría

Como se vio con el espectrofotómetro, la luz que entra a la solución puede pasar o ser absorbida en parte o por completo, lo cual depende de la concentración y la longitud de onda que entra a esa solución particular. Siempre que ocurre absorción, hay una transferencia de energía al medio. Cada tipo molecular posee una serie de niveles de energía electrónica, y puede pasar de un nivel de energía bajo a uno mayor sólo absorbiendo una unidad integral (cuanto) de luz que es igual en energía a la diferencia entre los dos estados de energía. Hay niveles de energía adicionales que se deben a la rotación o vibración de partes moleculares. El estado excitado dura cerca de 10^{-5} segundos antes de que el electrón pierda energía y vuelva al estado basal. La energía se pierde por colisión, pérdida de calor, transferencia a otras moléculas y emisión de energía radiante. Debido a que las moléculas son excitadas por absorción de energía radiante y pierden energía por múltiples interacciones, la energía radiante emitida es menor que la absorbida. La diferencia entre las longitudes de onda máximas, excitación y fluorescencia emitida se llama *desplazamiento de Stokes*. Tanto la energía de excitación (absorción) como la de fluorescencia (emisión) son características para un determinado tipo molecular; por ejemplo, en la figura 4-12 se muestran los espectros de absorción y fluorescencia de quinina en ácido sulfúrico al 0.1 N. La línea discontinua del lado izquierdo muestra la energía de excitación de longitud de onda corta máxima absorbida, mientras que la

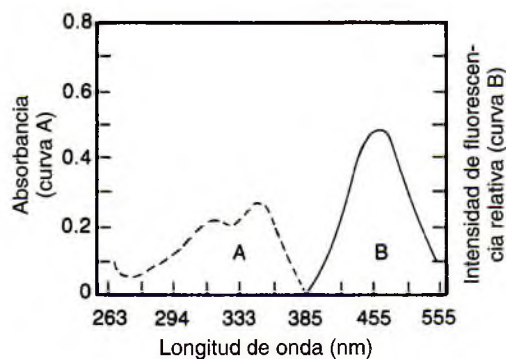


FIGURA 4-12. Espectros de absorción y fluorescencia de quinina en 0.1 N de ácido sulfúrico. (De Coiner D. Basic Concepts in Laboratory Instrumentation. Bethesda, MD: ASMT Education and Research Fund, 1975-1979.)

continúa del lado derecho es el espectro fluorescente de longitud de onda más grande (energía menor).

Instrumentación básica

Los fluorómetros de filtro miden las concentraciones de soluciones que contienen moléculas fluorescentes. Un instrumento básico se muestra en la figura 4-13. La fuente emite luz de alta energía de longitud de onda corta. Un atenuador mecánico controla la intensidad de luz. El filtro primario, colocado entre la fuente de radiación y la muestra, selecciona la longitud de onda que la solución por medir absorbe mejor. La muestra fluorescente en la cubeta emite energía radiante en todas direcciones. El detector (colocado en ángulos rectos con respecto a la celda de muestra) y un filtro secundario que pasa las longitudes de onda más largas de luz fluorescente evita que la luz incidente choque con el fotodetector. La salida eléctrica del fotodetector es proporcional a la intensidad de la energía fluorescente. En los espectrofluorómetros, los filtros son reemplazados por prismas o monocromadores de rejilla.

Las lámparas de descarga de gas (mercurio y arco de xenón) son las fuentes de energía radiante de excitación empleadas con más frecuencia. Las lámparas de tungsteno incandescentes se usan menos porque liberan poca energía en la región ultravioleta. Las lámparas de vapor de mercurio se emplean por lo general en fluorómetros de filtro. El mercurio emite un espectro de línea característico. Las líneas de resonancia de 365 a 366 nm son de uso común. La energía a longitudes de onda distintas a las líneas de resonancia se provee al cubrir la superficie interna de la lámpara con un material que absorbe la radiación del mercurio de 254 nm y emite una banda amplia de longitudes de onda más largas. La mayor parte de los espectrofluorómetros usan una lámpara de xenón de alta presión. El xenón tiene un buen continuo, que es necesario para determinar el espectro de excitación.

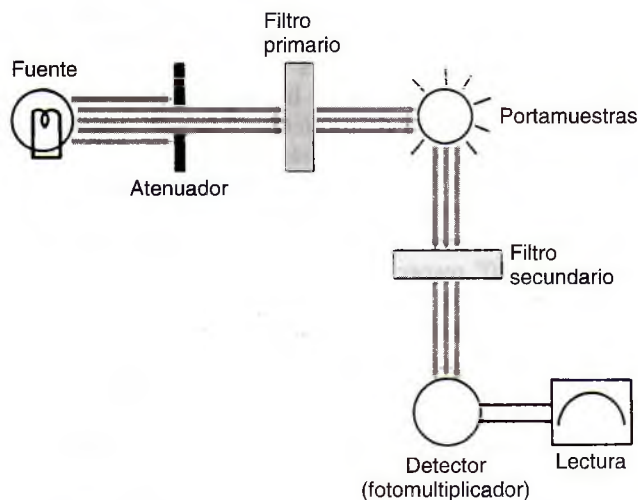


FIGURA 4-13. Fluorómetro de filtro básico. (De Coiner D. Basic Concepts in Laboratory Instrumentation. Bethesda, MD: ASMT Education and Research Fund, 1975-1979.)

Los fluorómetros de monocromador emplean rejillas, prismas o filtros para el aislamiento de la radiación incidente. Los detectores de luz son casi siempre tubos FM como resultado de su mayor sensibilidad a bajas intensidades de luz. Los instrumentos de doble haz se usan para compensar la inestabilidad debida a la fluctuación de energía eléctrica.

Las mediciones de concentración de fluorescencia se relacionan con la absorptividad molar del compuesto, la intensidad de la radiación incidente, la eficiencia del cuanto de la energía emitida por cuanto absorbido y la longitud de la trayectoria de luz. En disoluciones diluidas con los parámetros del instrumento mantenidos constantes, la fluorescencia es directamente proporcional a la concentración. En general, se obtendrá una respuesta lineal hasta que la concentración de la especie fluorescente sea tan alta que la muestra comience a absorber cantidades importantes de luz de excitación. Una curva que demuestra la no linealidad cuando se incrementa la concentración se ilustra en la figura 4-14. La solución debe absorber menos de 5% de la radiación excitante para que ocurra una respuesta lineal.⁶ Como con todas las mediciones cuantitativas, se debe preparar una curva estándar para demostrar que la concentración empleada cae en un intervalo lineal.

En la polarización de fluorescencia, la energía radiante se polariza en un solo plano. Cuando la muestra (fluoróforo) se excita, emite luz polarizada a lo largo del mismo plano como luz incidente si el fluoróforo está unido a una gran molécula. En contraste, una molécula pequeña emite luz despolarizada porque girará fuera del plano de polarización durante su tiempo de vida de excitación. Esta técnica se emplea mucho para la detección de fármacos terapéuticos y drogas. En el procedimiento, se permite que el analito de muestra compita con uno marcado con fluoróforo por un anticuerpo limitado para el analito. Mientras

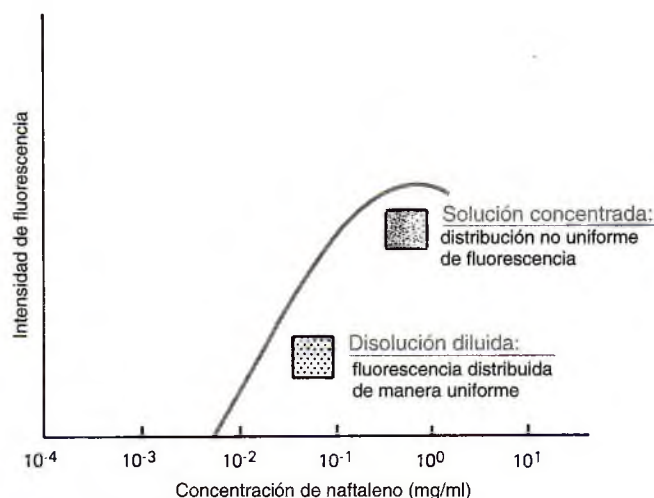


FIGURA 4-14. Dependencia de la fluorescencia en la concentración de fluoróforo. (De Guilbault GG. Practical Fluorescence, Theory, Methods and Techniques. Nueva York: Marcel Dekker, 1973.)

menor sea la concentración del analito de muestra, mayor es el anticuerpo-analito-fluoróforo macromolecular formado y menor es la despolarización de la luz radiante.

Ventajas y desventajas de la fluorometría

La *fluorometría* tiene dos ventajas sobre la espectrofotometría convencional: especificidad y sensibilidad. La fluorometría incrementa la especificidad al seleccionar la longitud de onda óptima para absorción y fluorescencia, en vez de sólo la longitud de onda de absorción vista con la espectrofotometría.

La fluorometría es casi mil veces más sensible que la mayor parte de los métodos de espectrofotometría.⁶ Una razón es porque la radiación emitida se mide de modo directo; se puede incrementar de manera simple aumentando la intensidad de la energía radiante de excitación. Además, la fluorescencia mide la cantidad de intensidad de luz presente sobre un fondo cero. En la absorbancia, sin embargo, la cantidad de luz absorbida se mide de forma indirecta como la diferencia entre los haces transmitidos. A concentraciones bajas, la diferencia pequeña entre 100% *T* y el haz transmitido es difícil de medir con exactitud y precisión, lo cual limita la sensibilidad.

La desventaja más grande es que la fluorescencia es muy sensible a cambios ambientales. Los cambios de pH afectan la disponibilidad de electrones, y la temperatura cambia la probabilidad de pérdida de energía por colisión en vez de fluorescencia. Las sustancias químicas contaminantes o un cambio de disolventes pueden cambiar la estructura. La luz ultravioleta empleada para excitación puede causar cambios fotoquímicos. Cualquier disminución en la fluorescencia que resulta de cualquiera de estas posibilidades se conoce como *extinción*. Debido a que muchos factores pueden cambiar la intensidad o espectros de fluorescencia, el cuidado extremo es obligatorio en la técnica analítica y mantenimiento del instrumento.

Quimioluminiscencia

En las reacciones de *quimioluminiscencia*, parte de la energía química generada produce intermediarios excitados que decaen a un estado basal con la emisión de fotones.⁷ La radiación emitida se mide con un tubo FM, y la señal se relaciona con la concentración del analito. La quimioluminiscencia es diferente a la fluorescencia en que no se requiere radiación de excitación y son innecesarios los monocromadores porque la quimioluminiscencia surge de una especie. Lo que es más importante, las reacciones de quimioluminiscencia son reacciones de oxidación de luminol, ésteres de acridinio y dioxetanos caracterizadas por un rápido incremento en la intensidad de la luz emitida seguido de una disminución gradual. Normalmente, la señal se toma como la integral del pico completo. Las técnicas de quimioluminiscencia mejorada incrementan su eficiencia al incluir un sistema potenciador en la reacción de un agente quimioluminiscente con una enzima. El tiempo para la intensidad de luz es mucho más largo (60 min) que para las reacciones quimioluminiscentes, que duran cerca de 30 s (fig. 4-15).

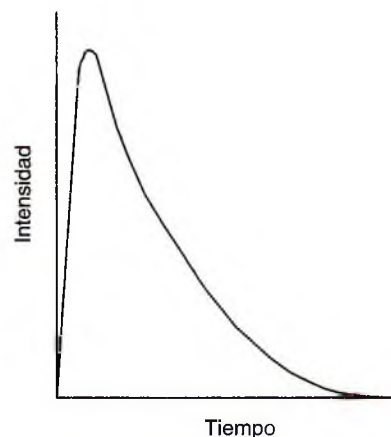


FIGURA 4-15. Curva representativa de intensidad en función del tiempo para una señal transitoria de quimioluminiscencia.

Las ventajas de los estudios de quimioluminiscencia incluyen límites de detección subpicomolares, rapidez (con las reacciones tipo *flash*, la luz se mide sólo durante 10 s), facilidad de uso (la mayor parte de los ensayos son procedimientos de un paso) e instrumentación simple.⁷ La desventaja principal es que las impurezas pueden causar señal de fondo que degrada la sensibilidad y la especificidad.

Turbidez y nefelometría

Las mediciones turbidimétricas se hacen con un espectrofotómetro para determinar la concentración de materia particulada en una muestra. La cantidad de luz bloqueada por una suspensión de partículas depende no sólo de la concentración sino también del tamaño. Debido a que las partículas tienden a agregarse y asentarse fuera de la suspensión, el manejo de la muestra se vuelve importante. La operación de los instrumentos es la misma que para cualquier espectrofotómetro.

La nefelometría es similar, excepto que la luz que dispersan las pequeñas partículas se mide a un ángulo respecto del haz incidente en la cubeta. En la figura 4-16 se muestran dos configuraciones ópticas posibles para un nefelómetro. La dispersión de luz depende de la longitud de onda y el tamaño de partícula. Para macromoléculas con un tamaño cercano a, o más grandes que, la longitud de onda de la luz incidente, la sensibilidad se incrementa al medir la dispersión de luz directa.⁸ Existen instrumentos con detectores colocados a varios ángulos directos, así como a 90° respecto a la luz incidente. La luz monocromática obtiene dispersión uniforme y reduce al mínimo el calentamiento de la muestra. Ciertos instrumentos emplean rayos láser como una fuente de luz monocromática; sin embargo, se puede usar cualquier monocromador.

La dispersión de luz medida a un ángulo distinto a 180° en turbidimetría reduce el error de disoluciones coloreadas e incrementa la sensibilidad. Debido a que ambos métodos dependen del tamaño de partícula, algunos instrumentos cuantifican el cambio inicial de dispersión de luz en vez de la dispersión total. Los reactivos deben estar libres de partículas, y las cubetas no deben tener rayas.

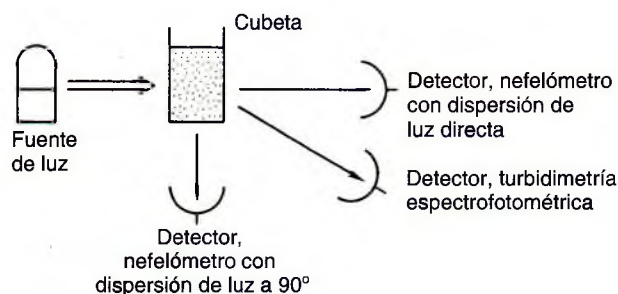


FIGURA 4-16. Nefelómetro contra espectrofotómetro, configuraciones ópticas.

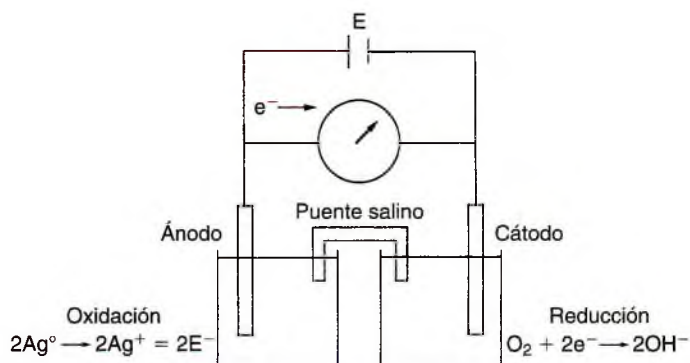


FIGURA 4-17. Celda electroquímica.

Aplicaciones láser

La amplificación de luz mediante emisión de radiación estimulada (LASER) se basa en la interacción de energía radiante y átomos o moléculas excitados de modo adecuado. La interacción da lugar a emisión de radiación estimulada. La longitud de onda, dirección de propagación, fase y plano de polarización de la luz emitida son iguales que para la radiación incidente. La luz láser es polarizada y coherente, y tiene amplitud espectral reducida y área de sección transversal pequeña con divergencia baja. La emisión radiante puede ser muy poderosa y continua o pulsante.

La luz láser puede servir como la fuente de energía incidente en un espectrómetro o nefelómetro. Algunos rayos láser producen anchos de banda de pocos kilohertz tanto en la región visible como infrarroja, lo que hace a estas aplicaciones cerca de tres a seis veces más sensibles que los espectrómetros comunes.⁹

La espectrometría láser se puede usar también para la determinación de estructura e identificación de muestras, así como para diagnóstico. La cuantificación de muestras depende del espectrofotómetro empleado. Un ejemplo de aplicación clínica del láser es el contador Coulter, que se usa para análisis diferencial de leucocitos.¹⁰

ELECTROQUÍMICA

Muchos tipos de análisis electrónicos se emplean en el laboratorio clínico, incluso potenciometría, amperometría, coulometría y polarografía. Las dos celdas electroquímicas básicas requeridas en estos análisis son las celdas galvánicas y electrolíticas.

Celdas galvánicas y electrolíticas

Una celda electrolítica se puede preparar como se muestra en la figura 4-17. Consta de dos semiceldas y un puente salino, que puede ser una pieza de papel filtro saturado con electrolitos. En lugar de dos como se muestra, los electrodos se pueden sumergir en un solo vaso de precipitados grande que contiene una solución salina. En cada configuración, la solución sirve como puente salino.

En una celda galvánica, cuando se conectan los electrodos, hay flujo espontáneo de electrones del electrodo con la menor afinidad electrónica (oxidación; p. ej., plata). Estos electrones pasar por el medidor externo al cátodo (reducción), donde se liberan iones OH^- . Esta reacción continúa hasta que uno de los componentes químicos se agota; punto en el cual, la celda está "muerta" y no puede producir energía eléctrica hacia el medidor externo.

Se puede forzar la corriente a que fluya por la celda muerta sólo aplicando una fuerza electromotriz externa E . Ésta se llama *celda electrolítica*. En resumen, una celda galvánica se puede construir a partir de una electrolítica. Cuando se inactiva la E externa, los productos acumulados en los electrodos producirán de manera espontánea corriente en la dirección opuesta de la celda electrolítica.

Semiceldas

Es imposible medir la actividad electroquímica de una semicelda; es necesario acoplar dos reacciones y comparar una con la otra. Para evaluar las reacciones de semicelda, se asignan de manera arbitraria 0.00 V a una reacción de electrodo específica. Toda reacción acoplada con esta reacción cero arbitraria es positiva o negativa, lo cual depende de la afinidad relativa hacia los electrones. El electrodo definido como 0.00 V es de hidrógeno estándar: gas de H_2 a 1 atmósfera (atm). El gas hidrógeno en contacto con H^+ en la disolución forma un potencial. El electrodo de hidrógeno acoplado con una semicelda de cinc es catódico, con la reacción $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$, porque H_2 tiene una mayor afinidad que el Zn hacia los electrones. El Cu, sin embargo, tiene una afinidad mayor que H_2 hacia los electrones y, por tanto, la reacción aniónica $\text{H}_2 \rightarrow 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$ ocurre cuando se acopla con la semicelda de electrodo de cobre.

El potencial que se genera mediante el electrodo de gas hidrógeno se usa para evaluar el potencial de electrodo de metales en disolución de 1 mol/L. En el cuadro 4-1 se muestran los potenciales de reducción para ciertos metales.¹¹ Un electrodo de hidrógeno se emplea para determinar la exactitud de electrodos de referencia e indicadores, la estabilidad de disoluciones estándar y los potenciales de uniones líquidas.

CUADRO 4-1. POTENCIALES DE REDUCCIÓN ESTÁNDAR

	POTENCIAL, V
$\text{Zn}^{2+} + 2\text{e} \leftrightarrow \text{Z}$	-0.7628
$\text{Cr}^{2+} + 2\text{e} \leftrightarrow \text{Cr}$	-0.913
$\text{Ni}^{2+} + 2\text{e} \leftrightarrow \text{Ni}$	-0.257
$2\text{H}^+ + 2\text{e} \leftrightarrow \text{H}_2$	0.000
$\text{Cu}^{2+} + 2\text{e} \leftrightarrow \text{Cu}$	0.3419
$\text{Ag}^+ + \text{e} \leftrightarrow \text{Ag}$	0.7996

Los datos presentados son ejemplos de Lide DR. CRC Handbook of Chemistry and Physics, 83rd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2003-2004.

Electrodos selectivos de iones (ESI)

Los métodos potenciométricos de análisis conllevan la medición directa de potencial eléctrico debido a la actividad de iones libres. Los ESI están diseñados de modo que sean sensibles a iones individuales.

Electrodos de PH

Un ESI de uso universal en el laboratorio clínico es el electrodo de pH. Los componentes básicos de un medidor de pH se presentan en la figura 4-18.

Electrodo indicador

El electrodo de pH consta de un alambre de plata cubierto con AgCl, sumergido en una disolución interna de 0.1 mmol/L de HCl y colocado en un tubo que contiene una punta de membrana de vidrio especial. Esta membrana es sensible sólo a iones hidrógeno; las que son sensibles de modo selectivo a H^+ constan de cantidades específicas de litio, cesio, lantano, bario u óxidos de aluminio en silicato. Cuando el electrodo de pH se coloca en la disolución

de prueba, el movimiento de iones H^+ cerca de la punta del electrodo produce una diferencia de potencial entre la disolución interna y la de prueba, que se mide como pH y se lee mediante un voltímetro. El electrodo de pH de combinación también contiene un electrodo de referencia integrado, ya sea Ag/AgCl o calomel ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$) sumergido en una disolución saturada de KCl.

El vidrio formulado en especial se disuelve de forma continua desde la superficie. El concepto presente del mecanismo selectivo que causa la formación de la fuerza electromotriz en la superficie de vidrio es que interviene un proceso de intercambio iónico. El intercambio catiónico ocurre sólo en la capa de gel; no hay penetración de H^+ por el vidrio. Aunque el vidrio se está disolviendo de forma constante, el proceso es lento, y la punta por lo común dura varios años. Los electrodos de pH son muy selectivos para iones hidrógeno; sin embargo, interfieren otros cationes en concentración alta, de los cuales el más común es el sodio. Los fabricantes de electrodos deben listar la concentración de cationes interferentes que podrían causar error en determinaciones de pH.

Electrodo de referencia

El electrodo de referencia que se emplea por lo común es el electrodo de calomel. Éste, una pasta de cloruro mercurioso, está en contacto directo con mercurio metálico en una disolución electrolítica de cloruro de potasio. Siempre que la concentración de electrolito y la temperatura permanezcan constantes, se genera un voltaje estable en la interfase del mercurio y su sal. Un cable conectado al mercurio lleva al voltímetro. El hueco de relleno es necesario para agregar disolución de cloruro de potasio. Una pequeña abertura en el fondo se requiere para completar el contacto eléctrico entre los electrodos de referencia e indicador. La unión líquida consta de un tapón de fibra o cerámica que permite un flujo pequeño de disolución electrolítica de relleno.

La construcción varía, pero todos los electrodos de referencia deben generar un potencial eléctrico estable. Los electrodos de referencia constan de un metal y su sal en contacto con una disolución que contiene el mismo anión. El mercurio/cloruro mercurioso, como en este ejemplo, es un electrodo de referencia que se emplea con frecuencia; la desventaja es que es lento para alcanzar un nuevo voltaje estable después de un cambio de temperatura, y es inestable a 80°C .^{1,2} Ag/AgCl es otro electrodo de referencia común. Se puede usar a temperaturas altas, hasta 275°C , y el alambre de plata cubierto con AgCl hace un electrodo más compacto que el de mercurio. En mediciones en las que se debe evitar la contaminación con cloruro, se puede usar un electrodo de referencia de sulfato o potasio.

Uniones líquidas

La conexión eléctrica entre el electrodo indicador y el de referencia se logra al permitir un flujo lento de electrolito desde la punta del electrodo de referencia. Se establece siempre un potencial de unión en la frontera entre dos disoluciones distintas como resultado de los iones negativos y positivos que se difunden por la frontera a veloci-

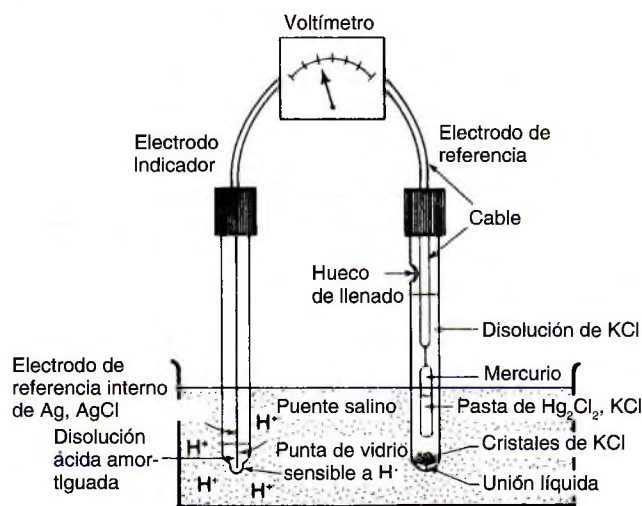


FIGURA 4-18. Componentes necesarios de un medidor de pH.

dades diferentes. El potencial de unión resultante puede aumentar o disminuir el potencial del electrodo de referencia. Por tanto, es importante que el potencial de unión se mantenga a un valor mínimo reproducible cuando el electrodo de referencia está en disolución.

El KCl es una disolución de relleno de uso común porque los iones K^+ y Cl^- tienen casi las mismas movilidades. Cuando se emplea KCl como disolución de relleno para electrodos de Ag/AgCl, la adición de AgCl es necesaria para evitar la disolución de la sal de AgCl. Una forma de producir un potencial de unión menor es mezclar K^+ , Na^+ , NO_3^- y Cl^- en proporciones adecuadas.

Medidor de lectura

La fuerza electromotriz que producen los electrodos de referencia e indicador está en el ámbito de milivolts. El potencial cero para la celda indica que cada semicelda de electrodo está generando el mismo voltaje, bajo el supuesto de que no hay potencial de unión líquida. El isopotencial es el potencial al que un cambio de temperatura no tiene efecto en la respuesta de la celda eléctrica. Los fabricantes logran esto al hacer que la mitad de la escala (pH, 7.0) corresponda a 0 V a todas las temperaturas. Emplean una disolución amortiguadora interna cuyos cambios de pH debidos a la temperatura compensan los cambios en los electrodos de referencia interno y externo.

Ecuación de Nernst

La fuerza electromotriz generada como resultado de H^+ en la punta de vidrio se describe mediante la ecuación de Nernst, que se muestra en una forma simplificada:

$$\epsilon = \Delta pH \times \frac{RT \ln 10}{F} = \Delta pH \times 0.059 \text{ V}$$

(Ec. 4-6)

donde ϵ = fuerza electromotriz de la celda

F = constante de Faraday (96 500 C/mol)

R = constante molar de los gases

T = temperatura, en grados Kelvin

A medida que aumenta la temperatura, se incrementa tanto la actividad del ion hidrógeno como el potencial generado. La mayor parte de los medidores de pH tienen una perilla de compensación de temperatura que amplifica la respuesta en milivolts cuando al medidor está en la función de pH. Las unidades de pH en la escala del medidor se imprimen por lo común para uso a temperatura ambiente. En el voltímetro, 59.16 se lee como un cambio de 1 unidad de pH. La compensación de temperatura cambia la respuesta de milivolts para compensar los cambios debidos a la temperatura de 54.2 a 0°C a 66.10 a 60°C. Sin embargo, la mayor parte de los medidores de pH se fabrican para mayor exactitud en el intervalo de 10 a 60°C.

Calibración

Los pasos necesarios para estandarizar un medidor de pH son bastante directos. Primero, equilibre el sistema con los electrodos en una disolución amortiguadora con un pH de

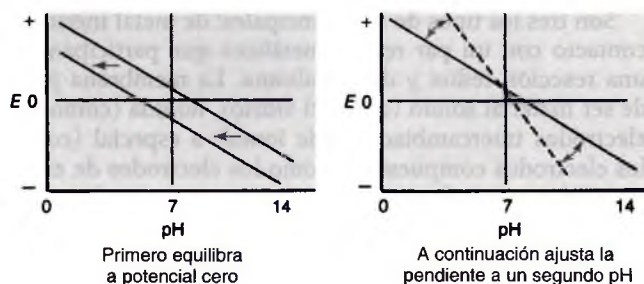


FIGURA 4-19. Calibración de medidor de pH. (De Willard HH, Merritt LL, Dean JA, Settle FA. Instrumental Methods of Analysis. Belmont, CA: Wadsworth, 1981.)

7.0. El balance o control de intersección desplaza toda la pendiente, como se muestra en la figura 4-19. A continuación, reemplace la disolución amortiguadora con una de un pH distinto. Si el medidor no registra el pH correcto, la ampliación de la respuesta cambia la pendiente para coincidir con la que se predice mediante la ecuación de Nernst. Si el instrumento no tiene un control de pendiente, el compensador de temperatura lleva a cabo la misma función.

Electrodo de combinación de pH

El electrodo de pH de uso común tiene los electrodos de referencia e indicador combinados en una pequeña sonda, que es conveniente cuando se analizan muestras pequeñas. Consta de un electrodo de referencia interno de Ag/AgCl sellado en un cilindro de vidrio estrecho con una punta de vidrio sensible a pH. El electrodo de referencia es un alambre de Ag/AgCl enrollado alrededor del electrodo indicador. La envoltura de vidrio externa se llena como KCl y tiene un poro diminuto cerca de la punta de la unión líquida. La disolución por medir debe cubrir por completo la punta de vidrio. En la figura 4-20 se muestran ejemplos de los otros ESI. El electrodo de referencia, electrómetro y sistema de calibración descritos para mediciones de pH son aplicables a todos los ESI.

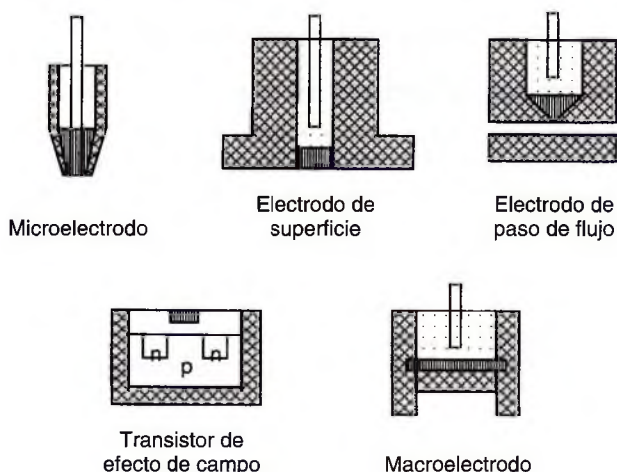


FIGURA 4-20. Otros ejemplos de electrodos selectivos de iones.

Son tres los tipos de ESI principales: de metal inerte en contacto con un par redox, metálicos que participan en una reacción redox y de membrana. La membrana puede ser material sólido (como el vidrio), líquida (como los electrodos intercambiadores de iones) o especial (como los electrodos compuestos), como los electrodos de enzimas y detectores de gas.

El electrodo de hidrógeno estándar es un ejemplo de un electrodo de metal inerte. El electrodo de Ag/AgCl es un ejemplo del segundo tipo. El proceso de electrodo AgCl + $e^- \rightarrow Ag + Cl^-$ produce un potencial eléctrico proporcional a la actividad del ion Cl^- . Cuando el ion cloruro se mantiene constante, el electrodo se emplea como un electrodo de referencia. El electrodo en contacto con las concentraciones variantes de Cl^- se emplea como un electrodo indicador para medir concentración de cloruro.

La capa de gel sensible a H^+ del electrodo de pH de vidrio se considera una membrana. Un cambio en la formulación del vidrio hace a la membrana más sensible a iones sodio que a iones hidrógeno, lo cual crea un ESI de sodio. Otras membranas de estado sólido consisten en un solo cristal o cristales finos inmovilizados en una matriz inerte como el hule de silicón. La conducción depende de un mecanismo de falta de hueco, y los cristales se formulan de modo que sean selectivos hacia un tamaño particular, forma y cambio; por ejemplo, los electrodos selectivos de F^- de LaF, electrodos sensibles a Cl^- con cristales de AgCl y los electrodos de AgBr para la detección de Br^- .

El ESI de calcio es un electrodo de membrana líquida. Un portador selectivo de iones, como el fosfato de dioctifenilo disuelto en un disolvente insoluble en agua, inerte, se difunde por una membrana porosa. Debido a que el disolvente es insoluble en agua, la muestra de prueba no puede cruzar la membrana, pero se intercambian iones Ca^{2+} . La referencia interna de Ag/AgCl es una disolución de relleno de $CaCl_2$ que está en contacto con el portador por medio de la membrana.

Las membranas líquidas selectivas de potasio emplean el antibiótico valinomicina como el portador selectivo de iones. Las membranas de valinomicina muestran gran selectividad por K^+ . Los electrodos de membrana líquida se recargan cada pocos meses para reemplazar el intercambiador de iones líquido y la membrana porosa.

Electrodos detectores de gas

Los electrodos de gas son similares a los de vidrio de pH pero están diseñados para detectar gases específicos (p. ej., CO_2 y NH_3) en disoluciones y por lo común están separados de la disolución por una membrana hidrófoba permeable al gas. En la figura 4-21 se muestra un esquema del electrodo de PCO_2 . La membrana en contacto con la disolución es permeable sólo a CO_2 , que se difunde hacia una película delgada de disolución de bicarbonato de sodio. El pH de la disolución de bicarbonato se cambia como sigue:



El cambio de pH del HCO_3^- se detecta mediante un electrodo de pH. El electrodo de PCO_2 se emplea mucho en

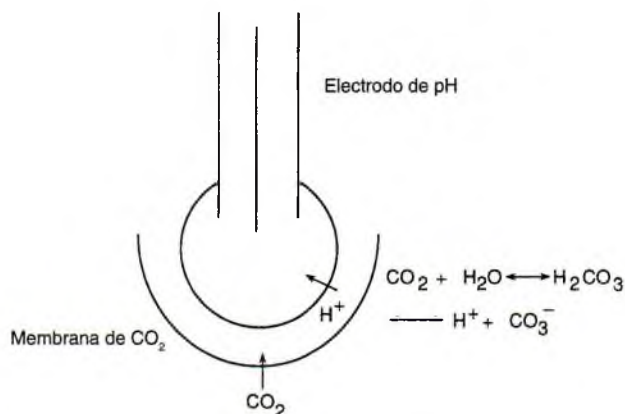
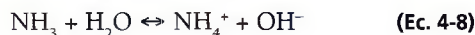


FIGURA 4-21. Electrodo de PCO_2 .

laboratorios clínicos como un componente de instrumentos para medir electrolitos séricos y gases sanguíneos.

En el electrodo de gas de NH_3 , la disolución de bicarbonato se reemplaza con disolución de cloruro de amonio, y la membrana es permeable sólo a gas NH_3 . Al igual que en el electrodo de PCO_2 , el NH_3 cambia el pH del NH_4Cl como sigue:

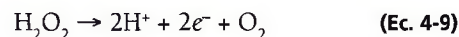


La cantidad de iones OH^- producidos varía de forma lineal con el log de la presión parcial de NH_3 en la muestra.

Otros electrodos detectores de gas funcionan sobre la base del principio amperométrico; es decir, la medición de la corriente que fluye por una celda electrolítica a un potencial eléctrico constante aplicado a los electrodos. Ejemplos son la determinación de PO_2 , glucosa y peroxidasa.

Las reacciones químicas del electrodo de PO_2 (electrodo de Clark), una celda electroquímica con un cátodo de platino y un ánodo de Ag/AgCl, se ilustran en la figura 4-17. El potencial eléctrico en el cátodo se fija en -0.65 V y no conducirá corriente sin oxígeno en la muestra. La membrana es permeable al oxígeno, que se difunde por el cátodo de platino. La corriente pasa por la celda y es proporcional al PO_2 en la muestra de prueba.

La determinación de glucosa se basa en la reducción de PO_2 durante la reacción de la oxidasa de glucosa con glucosa y oxígeno. A diferencia del electrodo de PCO_2 , el electrodo de peroxidasa tiene un ánodo de platino polarizado y su potencial se establece en $+0.6$ V. La corriente fluye por el sistema cuando el peróxido se oxida en el ánodo como sigue:



Electrodos de enzimas

Los distintos ESI pueden ser cubiertos por enzimas inmovilizadas que catalizan una reacción química específica. La selección del ESI se determina por el producto de reacción de la enzima inmovilizada. Los ejemplos incluyen ureasa,

que se emplea para la detección de urea, y glucosa de oxidasa, que se usa para la detección de glucosa. Un electrodo de urea debe tener un ESI que sea selectivo para NH_4^+ o NH_3 , mientras que la oxidasa de glucosa se emplea en combinación con un electrodo de pH.

Cloridómetros coulométricos y voltametría de separación anódica

Los ESI de cloruro han reemplazado en gran medida las titulaciones coulométricas para la determinación de cloruro en líquidos corporales. La voltametría de separación anódica se usó de manera extensa para análisis de plomo y se mide mejor mediante espectroscopia de absorción atómica electrotérmica (horno de grafito) o, de preferencia, ICP-MS.

ELECTROFORESIS

La *electroforesis* es la migración de solutos cargados o partículas en un campo eléctrico. La *iontoforesis* se refiere a la migración de iones pequeños, mientras que la *electroforesis de zona* es la migración de macromoléculas cargadas en un medio de soporte poroso como papel, acetato de celulosa o película de agarosa. Un electroforetograma es el resultado de electroforesis de zona y consiste en las zonas separadas de una macromolécula. En un laboratorio clínico, las macromoléculas de interés son proteínas en suero, orina, líquido cefalorraquídeo y otros líquidos corporales biológicos y eritrocitos y tejido.

La electroforesis consta de cinco componentes: la fuerza motriz (potencia eléctrica), el medio de soporte, la disolución amortiguadora, la muestra y el sistema detector. Un aparato electroforético representativo se ilustra en la figura 4-22.

Las partículas cargadas migran hacia el electrodo cargado opuesto. La velocidad de migración se controla mediante la carga neta, el tamaño y la forma de la partícula; la fuerza del campo eléctrico; las propiedades físicas y químicas del medio de soporte; y la temperatura elec-

troforética. La tasa de movilidad¹² de la molécula (μ) está dada por

$$\mu = \frac{Q}{k} \times r \times n \quad (\text{Ec. 4-10})$$

donde Q = carga neta de la partícula

k = constante

r = radio iónico de la partícula

n = viscosidad de la disolución amortiguadora

De la ecuación, la tasa de migración es directamente proporcional a la carga neta de la partícula e inversamente proporcional a su tamaño y la viscosidad de la disolución amortiguadora.

Procedimiento

La muestra se moja en un soporte hidratado durante alrededor de 5 min. El soporte se coloca en la cámara de electroforesis, que se llena antes con disolución amortiguadora. Es necesario agregar suficiente de esta disolución a la cámara para mantener contacto con el soporte. La electroforesis se lleva a cabo al aplicar un voltaje o corriente constantes durante un tiempo específico. Luego, se retira el soporte y se coloca en un fijador o se seca rápido para evitar la difusión de la muestra. Esto va seguido de la tinción de las zonas con el tinte apropiado. La cantidad de tinte que capta la muestra es proporcional a la concentración de la muestra. Después que se lava el exceso de tinte, puede ser necesario colocar el medio de soporte en un agente clarificador. De lo contrario, se seca por completo.

Suministro de energía

Los suministros de energía que operan a corriente o voltaje constantes están disponibles en el comercio. En la electroforesis, el calor se produce cuando la corriente fluye por un medio que tiene resistencia, lo que da como resultado un incremento de la agitación térmica del soluto disuelto (iones) y origina una disminución de la resistencia y un incremento de la corriente. El incremento origina aumentos de calor y evaporación del agua de la disolución amortiguadora. Esto hace que se incremente la concentración iónica de la disolución amortiguadora y origina más incrementos posteriores en la corriente. La tasa de migración se puede mantener constante si se emplea un suministro de energía con corriente constante. Esto resulta cierto porque, a medida que avanza la electroforesis, una disminución en la resistencia como resultado del calor producido disminuye también el voltaje.

Disoluciones amortiguadoras

Dos propiedades de la disolución amortiguadora que afectan la carga de anfolitos son el pH y la resistencia iónica. Los iones llevan la corriente eléctrica aplicada y permiten que la disolución amortiguadora mantenga un pH constante durante la electroforesis. Un anfolito es una molécula, como una proteína, cuya carga neta puede ser positiva o negativa. Si la disolución amortiguadora es más ácida que el punto isoeléctrico (pI) del anfolito, se une con iones H^+ , adquiere carga positiva y migra hacia el cátodo.

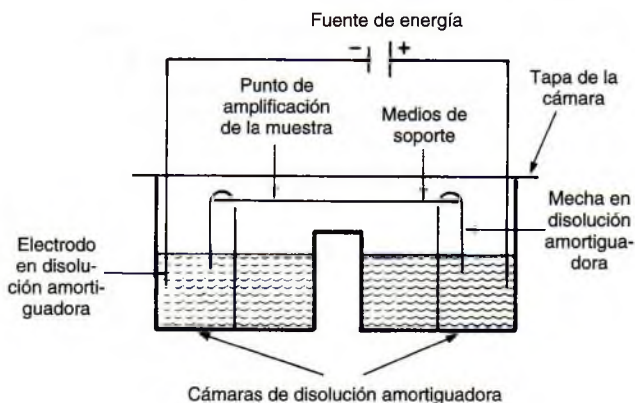


FIGURA 4-22. Aparato de electroforesis, componentes básicos.

Si la disolución amortiguadora es más básica que el pI, el anfólitico pierde iones H^+ , adquiere carga negativa y migra hacia el ánodo. Una partícula sin una carga neta no migrará y permanecerá en el punto de aplicación. Durante la electroforesis, los iones se agrupan alrededor de una partícula emigrante. Mientras mayor sea la concentración iónica, mayor es el tamaño de la nube iónica y menor la movilidad de la partícula. La fuerza iónica mayor produce la separación más definida de bandas de proteínas, pero origina una mayor producción de calor. Esto podría causar la desnaturalización de proteínas termolábiles. En consecuencia, la concentración óptima de la disolución amortiguadora se debe determinar para cualquier sistema electroforético. Por lo común, las disoluciones amortiguadoras de más uso están hechas de iones monovalentes porque su resistencia iónica y molalidad son iguales.

Materiales de soporte

Acetato de celulosa

El empleo de electroforesis en papel ha sido reemplazado por acetato de celulosa o gel de agarosa en los laboratorios clínicos. La celulosa se acetila para formar acetato de celulosa al tratarla con anhídrido acético. El acetato de celulosa, una película quebradiza, seca, compuesta de casi 80% de espacio de aire, se produce comercialmente. Cuando la película se moja en la disolución amortiguadora, los espacios de aire se llenan con electrolito y la película se vuelve flexible. Después de la electroforesis y la tinción, el acetato de celulosa se puede hacer transparente para cuantificación densitométrica. La película transparente seca se puede almacenar durante períodos largos. El acetato de celulosa preparado para reducir la electroendosmosis está disponible en el comercio. El acetato de celulosa se emplea también en el enfoque isoeléctrico.

Gel de agarosa

El gel de agarosa es otro medio de soporte de uso extendido; se le emplea como una fracción purificada de agar, es neutro y, por tanto, no produce electroendosmosis. Después de la electroforesis y la tinción, se decolora (aclara), seca y explora con un densitómetro. El gel seco se puede almacenar por tiempo indefinido. La electroforesis en gel de agarosa requiere pequeñas cantidades de muestra (alrededor de 2 μ l); no enlaza proteínas y, por tanto, no se ve afectada la emigración.

Gel de poliacrilamida

La electroforesis en gel de poliacrilamida conlleva la separación de proteínas con base en la carga y el tamaño molecular. Se emplea una capa de gel con distintos tamaños de poro. El gel se prepara antes de la electroforesis en una celda de electroforesis de forma tubular. El gel de separación de poro pequeño está en el fondo, seguido de un gel espaciador de poro grande y, por último, otro de poro grande que contiene la muestra. Se permite que cada capa de gel forme una gelatina antes de poner encima el siguiente gel. Al comienzo de la electroforesis, las moléculas de proteína se mueven con libertad por el gel espaciador hasta su límite con el de separación, que disminuye el movimiento. Esto permite la

concentración de la muestra antes de la separación de la muestra mediante el gel de poro pequeño. La electroforesis en gel de poliacrilamida separa proteínas séricas en 20 o más fracciones en vez de las 5 usuales separadas mediante el acetato de celulosa o agarosa. Se emplea mucho para estudiar proteínas individuales (como las isoenzimas).

Gel de almidón

La electroforesis en gel de almidón separa proteínas con base en la carga superficial y el tamaño molecular, al igual que el gel de poliacrilamida. El procedimiento no se usa mucho como resultado de la dificultad para preparar el gel.

Tratamiento y aplicación de la muestra

El suero contiene una alta concentración de proteína, en particular albúmina y, por tanto, las muestras de suero se diluyen de forma rutinaria con disolución amortiguadora antes de la electroforesis. En contraste, la orina y el líquido cefalorraquídeo (LCR), están por lo común concentrados. El hemolisado de hemoglobina se usa sin más concentración. En general, la preparación de la muestra se hace de acuerdo con la sugerencia del fabricante de los suministros electroforéticos.

La electroforesis en acetato de celulosa y gel de agarosa requiere alrededor de 2 a 5 μ l de muestra. Éstas son las electroforesis de rutina más comunes llevadas a cabo en los laboratorios clínicos. Debido a que la mayor parte de las placas fabricadas en el comercio vienen con una plantilla delgada de plástico que tiene pequeñas ranuras por las que se aplican las muestras, sobrecargar el gel de agarosa con muestra no es un problema frecuente. Después de permitir la difusión del suero en el gel durante casi 5 min, la plantilla se seca para eliminar el exceso de suero antes de ser retirada de la superficie de gel. La muestra se aplica a acetato de celulosa con un aplicador de alambre doble, diseñado para transferir una pequeña cantidad.

Detección y cuantificación

Las fracciones de proteína separadas se tiñen para revelar sus ubicaciones. Las diferentes tinciones vienen con placas distintas de diversos fabricantes. La forma más simple de realizar la detección es la visualización bajo luz UV, mientras que la densitometría es la forma más común y confiable para la cuantificación. La mayor parte de los densitómetros integran el área bajo un pico, y el resultado se imprime como porcentaje del total. En la figura 4-23 se esquematiza un densitómetro.

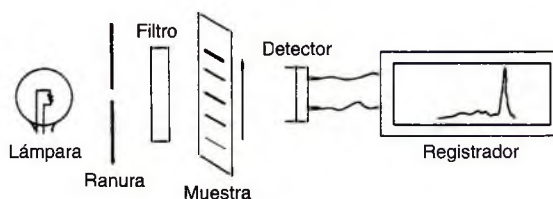


FIGURA 4-23. Densitómetro, componentes básicos.

CROMATOGRAFÍA

La *cromatografía* se refiere al grupo de técnicas empleadas para separar mezclas complejas con base en diferentes interacciones físicas entre cada uno de los compuestos y la fase estacionaria del sistema. Los componentes básicos en cualquier técnica cromatográfica son la fase móvil (gas o líquido), que lleva la mezcla compleja (muestra); la fase estacionaria (sólido o líquido), por la cual fluye la fase móvil; la columna que retiene la fase estacionaria; y los componentes separados (eluato).

Modos de separación

Adsorción

La cromatografía de adsorción, conocida también como *cromatografía líquido-sólido*, se basa en la competencia entre la muestra y la fase móvil para sitios adsorptivos en la fase estacionaria sólida. Hay un equilibrio de moléculas de soluto que son adsorbidas en la superficie sólida, y desorbidas y disueltas en la fase móvil. Las moléculas que son más solubles en la fase móvil, se mueven más rápido; las menos solubles se mueven más lento. Así, una mezcla se separa por lo común en clases de acuerdo con los grupos funcionales polares. La fase estacionaria puede ser polar ácida (como el gel de sílice), polar básica (como la alúmina) o no polar (como el carbón vegetal). La fase móvil puede ser un disolvente simple o una mezcla de dos o más disolventes, lo cual depende de los analitos por desorber. La cromatografía líquido-sólido no se emplea mucho en los laboratorios clínicos debido a problemas técnicos con la preparación de una fase estacionaria que tiene distribución homogénea de sitios de absorción.

Partición

La cromatografía de partición se conoce también como *cromatografía líquido-líquido*. La separación del soluto se basa en la solubilidad relativa en un disolvente orgánico (no polar) y uno acuoso (polar). En su forma más simple, la partición (extracción) se efectúa en un embudo de separación. Las moléculas que contienen grupos polares y no polares en una disolución acuosa se agregan a un disolvente orgánico inmiscible. Después de una agitación vigorosa, se permite que se separen las dos fases. Las moléculas polares permanecen en el disolvente acuoso; las moléculas no polares se extraen en el disolvente orgánico. Esto da como resultado la partición de las moléculas de soluto en dos fases separadas.

La relación de la concentración del soluto en los dos líquidos se conoce como *coeficiente de partición*:

$$K = \frac{\text{solute en la fase estacionaria}}{\text{solute en la fase móvil}} \quad (\text{Ec. 4-11})$$

En la cromatografía de partición moderna se emplean fases estacionarias pseudolíquidas, que están enlazadas químicamente con el soporte, o polímeros de alto peso molecular que son insolubles en la fase móvil.¹⁵ Los sistemas de partición son considerados de *fase normal* cuando el

disolvente móvil es menos polar que el disolvente estacionario, y de *fase invertida* cuando el disolvente móvil es más polar.

La cromatografía de partición es aplicable a cualquier sustancia que pueda ser distribuida entre dos fases líquidas. Debido a que los compuestos iónicos son por lo común solubles sólo en agua, la cromatografía de partición funciona mejor con compuestos no iónicos.

Exclusión estérica

La exclusión estérica, una variante de la cromatografía líquido-sólido, se emplea para separar moléculas de soluto con base en el tamaño y la forma. La columna cromatográfica se empaqueta con material poroso, como se muestra en la figura 4-26. Una muestra que contiene moléculas de tamaño distinto se desplaza por la columna disuelta en el disolvente móvil. Las moléculas pequeñas entran a los poros del empaque y son retenidas por un momento. Las moléculas grandes son excluidas de los poros pequeños y, por tanto, se mueven con rapidez entre las partículas. Las moléculas de tamaño intermedio están restringidas en parte a entrar a los poros y, por consiguiente, se mueven por la columna a una velocidad intermedia entre las velocidades de las moléculas grandes y pequeñas.

Los primeros métodos empleaban perlas hidrofílicas de dextrano entrecruzado, poliácridamida o agarosa, que formaban un gel al meterlas en agua. Este método se denominaba *filtración en gel*. Un proceso de separación similar con perlas de gel hidrófobo de poliestireno con una fase móvil no acuosa se llamaba *cromatografía de permeación en gel*. El empaque poroso actual emplea materiales inorgánicos rígidos como el sílice o el vidrio. El término *exclusión estérica* incluye todas estas variaciones. El tamaño de poro lo controla el fabricante, y los materiales de empaque se pueden comprar con distintos tamaños de poro, lo cual depende de las moléculas por separar.

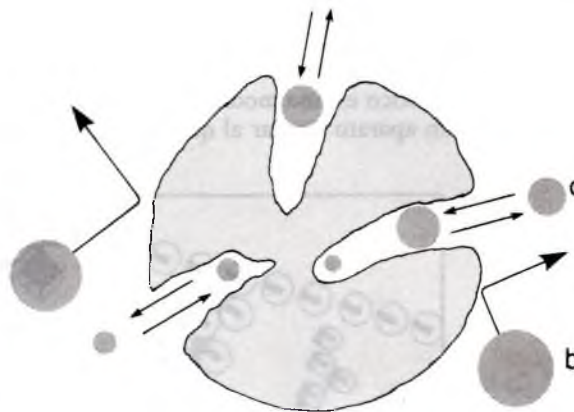


FIGURA 4-26. Concepto pictórico de cromatografía de exclusión estérica. Separación de los componentes de la muestra por su capacidad para permear la estructura porosa del material de empaque de la columna. Las moléculas más pequeñas (a) permean los poros intersticiales; moléculas grandes excluidas (b). (De Parris NA. *Instrumental Liquid Chromatography: A Practical Manual on High Performance Liquid Chromatographic Methods*. Nueva York: Elsevier, 1976.)

Cromatografía de intercambio iónico

En la cromatografía de intercambio iónico, las mezclas de soluto se separan en virtud de la magnitud y la carga de las especies iónicas. La fase estacionaria es una resina, que consiste en polímeros grandes de benceno sustituido, silicatos o derivados de celulosa, con grupos funcionales con carga. La resina es insoluble en agua, y los grupos funcionales se inmovilizan como cadenas laterales sobre perlas de resina que se usan para llenar la columna cromatográfica. En la figura 4-27A se muestra la resina con grupos funcionales sulfonato. Los iones H^+ no están retenidos con fuerza y están libres para reaccionar. Éste es un ejemplo de una resina de intercambio iónico. Cuando un catión como Na^+ entra en contacto con estos grupos funcionales, se forma un equilibrio, que sigue la ley de acción de masas. Debido a que hay muchos grupos sulfonato, los iones Na^+ son eliminados de la solución de manera efectiva y por completo. Los iones Na^+ que están concentrados en la columna de resina pueden ser eluidos de ésta al vaciar ácido por la columna, lo que desplaza el equilibrio hacia la izquierda.

Las resinas de intercambio iónico están hechas con iones hidróxido intercambiables como el grupo funcional dietilamina ilustrado en la figura 4-27B. Se usan como resinas intercambiadoras de cationes, excepto que los iones hidróxido se intercambian por aniones. En el ejemplo se muestra que los iones Cl^- de la disolución de la muestra desplazan a los iones OH^- del grupo funcional de la resina. Las resinas aniónicas y catiónicas mezcladas juntas (resina de cama mixta) se usan para desionizar agua. Los protones desplazados y los iones hidróxido se combinan para formar agua. Los grupos funcionales iónicos distintos a los ejemplos ilustrados se emplean para aplicaciones analíticas específicas. La cromatografía de intercambio iónico se usa para remover sustancias interferentes de una disolución, para concentrar soluciones iónicas diluidas y para separar mezclas de moléculas cargadas, como los aminoácidos. Cambiar el pH y la concentración iónica de la fase móvil permite la separación de mezclas de iones orgánicos e inorgánicos.

Procedimientos cromatográficos

Cromatografía de capa fina (CCF)

La CCF es una variante de la cromatografía de columna. Una capa fina de *sorbente*, como alúmina, gel de sílice,

celulosa o dextrano entrecruzado, se impregna de manera uniforme sobre una placa de vidrio o plástico. Cada muestra por analizar se aplica como un punto cerca del borde de la placa, como se muestra en la figura 4-28. La fase móvil (disolvente) se coloca por lo regular en un recipiente cerrado hasta que la atmósfera se sature con vapor del disolvente. Un borde de la placa se coloca en el disolvente, como se ilustra. El disolvente emigra hacia arriba de la capa fina por la acción capilar, al mismo tiempo que disuelve y lleva las moléculas de muestra. La separación se puede lograr mediante cualquiera de los cuatro procesos descritos antes, lo que depende del sorbente (capa fina) y el disolvente elegidos. Después que el disolvente llega a una altura predeterminada, se saca la placa y se seca. Los componentes de la muestra se identifican por comparación con estándares en la misma placa. La distancia que recorre un componente, en comparación con la distancia que recorre el frente del disolvente, se llama *factor de retención* (R_f):

$$R_f = \frac{\text{distancia que recorre el borde principal del componente}}{\text{distancia total que recorre el frente del disolvente}}$$

(Ec. 4-12)

Cada R_f de componente de la muestra se compara con el de los estándares. En la figura 4-28 como ejemplo, el estándar A tiene un valor de R_f de 0.4, el B un valor de R_f de 0.6 y el C es 0.8. La primera muestra desconocida contiene A y C, porque los valores de R_f son los mismos. Esta relación es válida sólo para separaciones ejecutadas en condiciones idénticas. Debido a que algunos valores de R_f se pueden traslapar para algunos componentes, la información de identificación adicional se obtiene al esparcir diferentes tinciones en la placa seca y comparar los colores de los estándares.

La CCF es la que más se emplea como prueba de selección semicuantitativa. La refinación de la técnica ha dado como resultado el desarrollo de equipo semiautomatizado y la capacidad para cuantificar compuestos separados. Por ejemplo, los aplicadores de muestras aplican cantidades precisas de extractos de muestra en áreas concisas. Las placas preparadas con espesor de sorbente uniforme, partículas más finas y nuevos sistemas disolventes han producido la técnica de cromatografía de capa fina de alta resolución

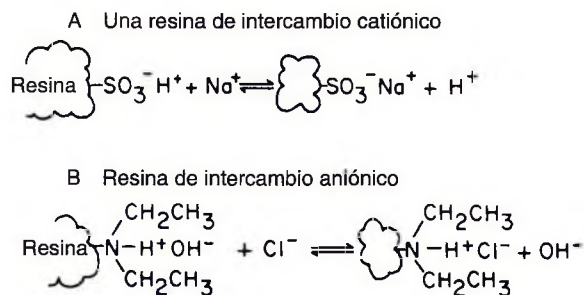


FIGURA 4-27. Equilibrio químico de resinas de intercambio iónico. (A) Resina de intercambio iónico. (B) Resina de intercambio aniónico.

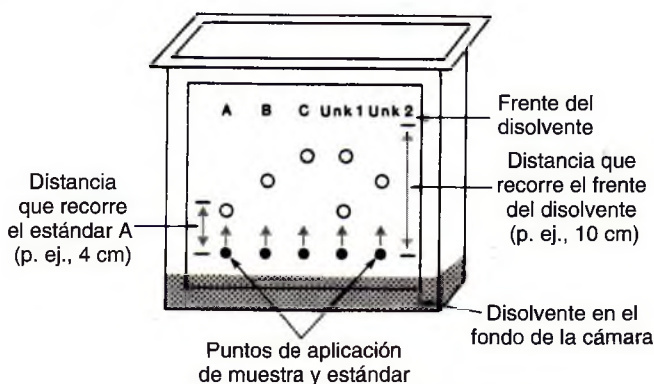


FIGURA 4-28. Placa de CCF en una cámara cromatográfica.

(CCFAR).¹⁶ La absorbancia de cada punto eluido se mide con un densitómetro, y la concentración se calcula por comparación con un estándar de referencia sometido a cromatografía en condiciones idénticas.

Cromatografía líquida de alta presión (CLAP)

La cromatografía líquida moderna emplea presión para separaciones rápidas, temperatura controlada, detectores en línea y técnicas de elución de gradiente.^{17,18} En la figura 4-29 se ilustran los componentes básicos.

Bombas

Una bomba fuerza a la fase móvil a pasar por la columna a una velocidad mucho mayor que la lograda mediante columnas de gravedad. Existen bombas neumáticas, de jeringa, reciprocantes o amplificadoras hidráulicas. La bomba de más uso en la actualidad es la bomba reciprocante mecánica, que se emplea como una bomba pluricabezales con dos o más pistones reciprocantes. Durante el bombeo, los pistones operan fuera de fase (180° para dos cabezales, 120° para tres cabezales) para proveer flujo constante. Las bombas neumáticas se emplean para propósitos preoperativos; las bombas de amplificador hidráulico ya no son de uso común.

Columnas

La fase estacionaria se empaqueta en largas columnas de acero inoxidable. La CLAP se ejecuta por lo común a temperaturas ambiente, aunque las columnas se pueden colocar en un horno y calentar para incrementar la tasa de partición.

Un empaque de columna uniforme, fino, da como resultado ensanchamiento de banda mucho menor, pero requiere presión para forzar la fase móvil a pasar. El empaque también puede ser pelicular (un núcleo inerte con una capa porosa), de partículas pequeñas e inertes o de partículas macroporosas. El material más común empleado para el empaquetamiento de columnas es el gel de sílice. Es muy estable y se puede usar de diferentes formas. Se puede usar como empaque sólido en cromatografía líquido-sólido o cubierto con un disolvente, que sirve como la fase estacionaria (líquido-líquido). Como resultado de la corta duración de las partículas recubiertas, las moléculas del líquido de la fase móvil se enlazan ahora con la superficie de las partículas de sílice.

La CLAP de fase invertida en la actualidad es muy popular; la fase estacionaria son moléculas no polares (p. ej., el hidrocarburo C-18 octadecilo) unidas a partículas de gel de sílice. Para este tipo de empaque de columna, la fase móvil empleada por lo común es acetonitrilo, metano, agua o cualquier combinación de disolventes. Una columna de fase invertida se puede usar para separar muestras iónicas, no iónicas e ionizables. Se usa una disolución amortiguadora para producir las características iónicas deseadas y pH para la separación del analito. Los empaques de columna varían en tamaño (3 a 20 mm). Las partículas más pequeñas se usan sobre todo para separaciones analíticas y las más grandes para separaciones preparativas.

Inyector de muestra

Una jeringa pequeña se puede usar para introducir la muestra en la trayectoria de la fase móvil que la lleva hacia la columna (fig. 4-29). Sin embargo, el mejor método y

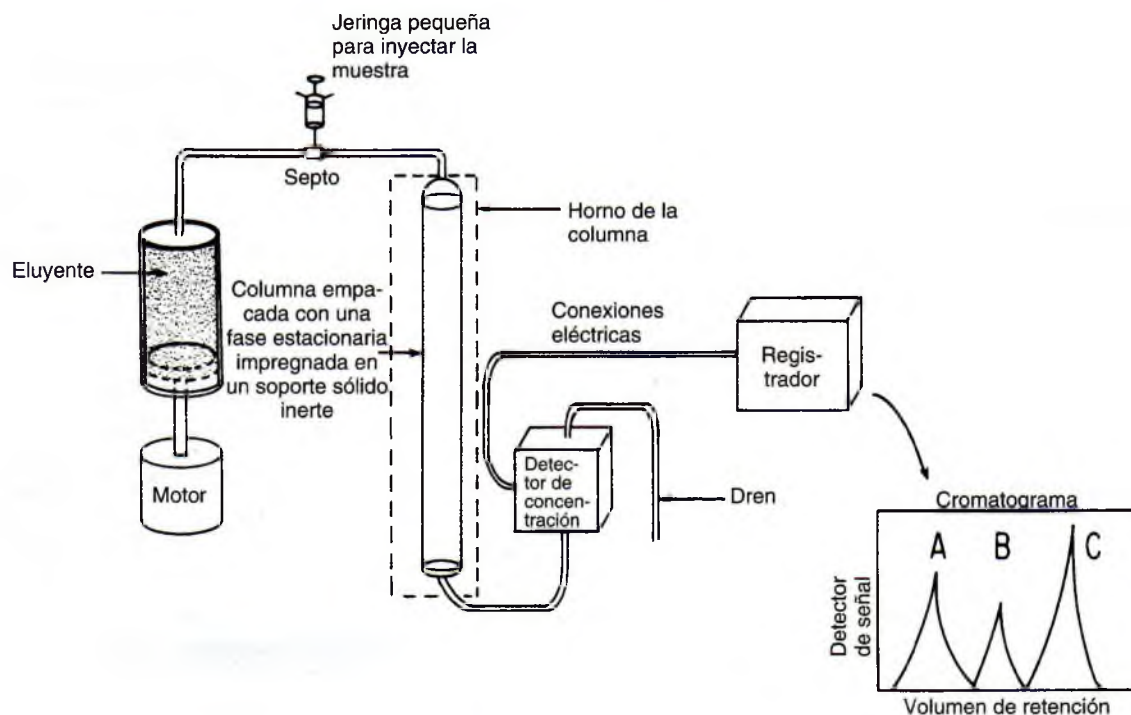


FIGURA 4-29. Componentes básicos de CLAP. (De Bender GT. Chemical Instrumentation: A Laboratory Manual Based on Clinical Chemistry. Filadelfia: WB Saunders, 1972.)

más empleado es el inyector de bucle. La muestra se introduce en un bucle de volumen fijo. Cuando se conmuta el bucle, la muestra se coloca en la trayectoria de la fase móvil en movimiento y se descarga en la columna.

Los inyectores de bucle tienen reproducibilidad alta y se usan a presiones altas. Muchos instrumentos de CLAP tienen inyectores de bucle que pueden ser programados para inyección automática de muestras. Cuando el tamaño de muestra es menor que el volumen del bucle, la jeringa que contiene la muestra se llena con la fase móvil hasta el volumen del bucle antes de llenar el bucle. Esto evita la posibilidad de meter aire a la columna porque esta práctica podría reducir la duración del empaque de la columna.

Detectores

Los detectores de CLAP modernos monitorean el eluido a medida que sale de la columna y, de manera ideal, producen una señal electrónica proporcional a la concentración de cada componente separado. Los espectrofotómetros que detectan absorbancias de luz visible o ultravioleta son los que se emplean con más frecuencia. El CFD y otros detectores de exploración rápida se usan también para comparaciones espectrales e identificación y pureza de compuestos. Estos detectores han sido empleados para análisis de fármacos en la orina. Obtener una exploración ultravioleta de un compuesto a medida que se eluye en la columna puede proveer información importante en cuanto a su identidad. Las sustancias desconocidas se pueden comparar contra espectros almacenados en una biblioteca de una manera similar a la espectrometría de masas. A diferencia de la cromatografía de gases/espectrometría de masas, que requiere volatilización de compuestos específicos, la cromatografía líquida/conjunto de fotodiodos (CL/CFD) permite la inyección directa de muestras de orina acuosas.

Debido a que muchas sustancias biológicas fluorescen de forma intensa, los detectores de fluorescencia también se pueden usar, lo que conlleva los mismos principios descritos en la sección de mediciones espectrofotométricas. Otro detector de CLAP común es el detector amperométrico o electroquímico, que mide la corriente producida cuando el analito de interés se oxida o se reduce a cierto potencial fijo establecido entre un par de electrodos.

Un espectrómetro de masas (EM) se puede usar también como detector, no sólo para la identificación y cuantificación de compuestos sino también para información estructural y determinación de peso molecular.¹⁹ La muestra en un EM se volatiliza primero y luego se ioniza para formar iones moleculares cargados y fragmentos que se separan de acuerdo con su relación de masa a carga (m/z); la muestra se mide entonces mediante un detector, que da la intensidad de la corriente de iones para cada especie. La identificación de la molécula se basa en la formación de fragmentos característicos. El acoplamiento de un cromatógrafo de líquidos con un espectrómetro de masas es difícil debido a la gran cantidad de disolvente en el eluido. La técnica de electrodispersión (ED) permite transferir los iones de la disolución a la fase de gas.²⁰ La muestra se pasa por una punta capilar metálica y se convierte, bajo la

influencia de un campo eléctrico alto (10^6 V/m), en una niebla fina de pequeñas gotas con carga positiva, de la cual el disolvente se evapora rápido. Los iones de soluto que permanecen se transfieren después a un espectrómetro de masas para ser analizados.

Registadores

El registrador se emplea para registrar la señal del detector en función del tiempo que la fase móvil tarda en pasar por el instrumento, empezando desde el momento de inyección de la muestra. La gráfica se llama *cromatograma* (fig. 4-30). El tiempo de retención se emplea para identificar compuestos cuando se compara con tiempos de retención estándar obtenidos en condiciones idénticas. El área de pico es proporcional a la concentración de los compuestos que producen los picos.

Cuando la fuerza de elución de la fase móvil es constante en la separación, se llama *elución isocrática*. Para muestras que contienen compuestos de composiciones relativas que difieren mucho, la elección del disolvente es un compromiso. Los compuestos eluidos primero pueden tener tiempos de retención cercanos a cero, lo que produce una separación mala (resolución), como se muestra en la figura 4-30A. Los compuestos básicos suelen tener tiempos de retención bajos porque las columnas C-18 no toleran fases móviles con pH alto. La adición de reactivos formadores de pares de cationes (p. ej., ácido sulfónico de octano) puede dar como resultado una mejor retención de compuestos con carga negativa en la columna.

Los compuestos de elución tardía pueden tener tiempos de retención largos, y producen bandas amplias que dan como resultado una sensibilidad menor. En algunos casos, ciertos componentes de una muestra pueden tener una gran afinidad con la fase estacionaria que no experimenta elución en absoluto. La elución de gradiente es una técnica de CLAP que se puede usar para superar este problema. La composición de la fase móvil se modifica para proveer un incremento continuo en la fuerza del disolvente de la fase móvil que entra a la columna (fig. 4-30B). La misma elución de gradiente se puede efectuar con un cambio más rápido en la concentración de la fase móvil (fig. 4-30C).

Cromatografía de gases

La *cromatografía de gases* se emplea para separar mezclas de compuestos que son volátiles o se pueden hacer volátiles.²¹ La cromatografía de gases puede ser cromatografía gas-sólido (CGS), con una fase estacionaria sólida, o cromatografía gas-líquido (CGL), con una fase estacionaria de líquido no volátil. La CGL se usa por lo común en laboratorios clínicos. En la figura 4-31 se ilustran los componentes básicos de un sistema cromatográfico de gases. La configuración es similar a la CLAP, excepto que la fase móvil es un gas, y las muestras se dividen entre una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria líquida. El gas portador puede ser nitrógeno, helio o argón. La selección del gas portador se determina por el detector empleado en el instrumento. El instrumento puede ser operado a una temperatura constante o ser programado para funcionar a

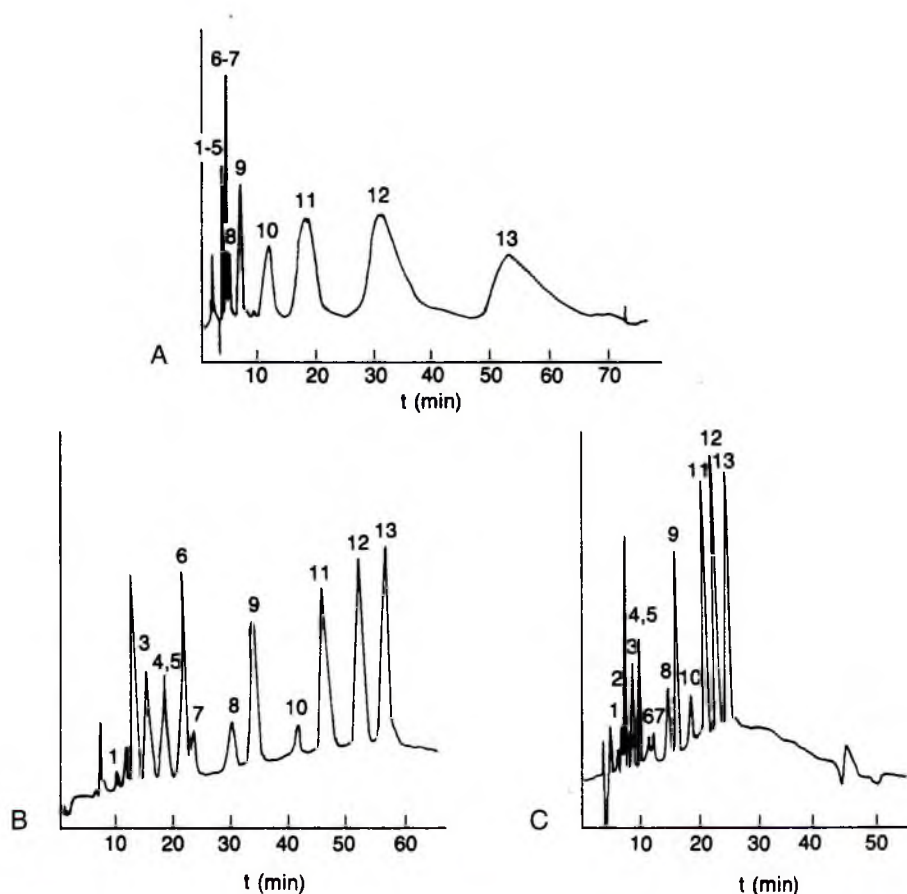


FIGURA 4-30. Cromatogramas: (A) la fase móvil de separación de intercambio iónico isocrático contiene 0.055 M de NaNO_3 . (B) Gradiente de fase móvil-elución de gradiente de 0.01 a 0.1 M de NaNO_3 a 2%/minuto. (C) Elución de gradiente, 5%/minuto. (De Horváth C. High Performance Liquid Chromatography, Advances and Perspectives. Nueva York: Academic Press, 1980.)

diferentes temperaturas si la muestra tiene componentes con volatilidades distintas.

La muestra, que es inyectada por un septo, se debe inyectar como un gas, o la temperatura del puerto de inyección debe estar arriba del punto de ebullición de los compo-

nentes para que se evaporen al inyectarlos. La muestra de vapor pasa rápido por la columna en parte como un gas y en parte disuelta en la fase líquida. Los compuestos volátiles que están presentes, sobre todo en la fase gas, tendrán un coeficiente de partición bajo y se moverán con rapidez por la columna. Los compuestos con puntos de ebullición más altos se moverán con lentitud por la columna. El efluente pasa por un detector que produce una señal eléctrica proporcional a la concentración de los componentes volátiles. Como en la CLAP, el cromatograma se usa para identificar los compuestos por el tiempo de retención y para determinar su concentración por el área bajo el pico.

Columnas

Las columnas de CGL están hechas de vidrio o acero inoxidable y existen en diversas configuraciones de espiral y tamaños. Las columnas empacadas se llenan con partículas inertes como tierras diatomáceas o polímero poroso o cuentas de vidrio cubiertas con una fase líquida no volátil (estacionaria). Estas columnas son por lo común de 1/8 a 1/4 de pulgada de ancho y 3 a 12 pies de largo. Las columnas tubulares abiertas, cubiertas, de pared capilar, tienen diámetros internos en el intervalo de 0.25 a 0.50 mm y son de hasta 60 m de largo. La capa líquida va sobre las pare-

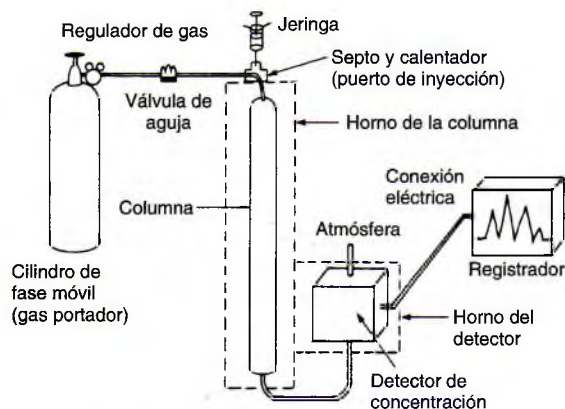


FIGURA 4-31. Componentes básicos de CGL. (De Bender GT. Chemical Instrumentation: A Laboratory Manual Based on Clinical Chemistry. Filadelfia: WB Saunders, 1972.)

des de la columna. Un soporte sólido recubierto con una fase estacionaria líquida puede a su vez estar impregnado en las paredes de la columna.

La fase estacionaria líquida debe ser no volátil a las temperaturas empleadas, térmicamente estable y no reaccionar con los solutos por separar. La fase estacionaria se denomina *no selectiva* cuando la separación se basa ante todo en la volatilidad relativa de los compuestos. Las fases líquidas selectivas se emplean para separar compuestos con base en la polaridad relativa (como en la cromatografía líquido-líquido).

Detectores

Aunque hay muchos tipos de detectores, sólo se analizan la conductividad térmica (CT) y los detectores de ionización de flama porque son los más estables (fig. 4-32). Los detectores de conductividad térmica contienen alambres (filamentos) que cambian la resistencia eléctrica con el cambio de temperatura. Los filamentos forman los brazos opuestos de un puente de Wheatstone y se calientan eléctricamente para elevar su temperatura. El helio, que tiene una conductividad térmica alta, es por lo común el gas portador. El gas portador de la columna de referencia fluye de manera estable en un filamento, enfriándolo un

poco. El gas portador y los compuestos separados forman el flujo de columna de la muestra en el otro filamento. Los componentes de la muestra tienen por lo común una conductividad térmica menor, lo que incrementa la temperatura y la resistencia del filamento de muestra. El cambio de resistencia produce un circuito de puente desequilibrado. El cambio eléctrico se amplifica y alimenta al registrador; es proporcional a la concentración del analito.

Los detectores de ionización de flama se usan mucho en el laboratorio clínico. No son más sensibles que los detectores de CT. El efluente de la columna se alimenta hacia una pequeña flama de hidrógeno que arde en exceso de aire u oxígeno atmosférico. El chorro de flama y un electrodo colector alrededor de la flama tienen potenciales opuestos. Cuando se quema la muestra, se forman los iones y se mueven hacia el colector cargado. Así, se forma una corriente proporcional a la concentración de los iones y se alimenta al registrador.

Espectrometría de masas

La identificación definitiva de las muestras que salen de las columnas cromatográficas de gas es posible cuando se utiliza un espectrómetro de masas como detector.²⁰ En la figura 4-33A y B se muestra un diagrama de bloques de tetrapolo y espectrómetros de masas con trampa de iones. Las sustancias separadas de un cromatógrafo de gases entran a la fuente donde las muestras son bombardeadas con electrones para formar iones moleculares cargados y fragmentos. Las moléculas se descomponen en fragmentos característicos de acuerdo con su estructura molecular (fig. 4-34). Estas partículas son concentradas para que entren al sector de filtración de masas donde son clasificadas según su relación masa a carga (m/z) y son contadas mediante un multiplicador de electrones. Tanto el tetrapolo como los detectores de trampa de iones contienen varillas o placas que se cargan con voltajes variables de CA y CD para formar campos eléctricos. En el tetrapolo, los iones forman selectivamente órbitas sinusoidales estables y atraviesan el sector de filtración donde llegan al detector y son medidos. En la trampa de iones, éstos también forman órbitas estables, pero son desestabilizados de forma selectiva a fin de que lleguen al detector. Los patrones de fragmentación característicos que producen estos iones se emplean para identificación. Las bibliotecas por computadora y algoritmos de comparación están disponibles dentro del instrumento para comparar resultados espectrales de masas de una sustancia conocida obtenida de una muestra con la biblioteca de referencia. Los sistemas CG/EM se emplean de manera extensa para medir drogas en confirmaciones toxicológicas de orina. En la figura 4-35 se ilustra el espectro de masa de Δ^9 -carboxitetrahydrocannabinol, un metabolito de la marihuana. Las drogas y metabolitos deben ser extraídos de los líquidos corporales y, por lo común, reaccionan con reactivos de derivación para formar compuestos que son más volátiles para procesos de cromatografía de gases.

Los espectrómetros de masa en tándem (CG/EM/EM), obtenidos al añadir un segundo espectrómetro a un sistema CG/EM, se pueden usar para mayor selectividad y

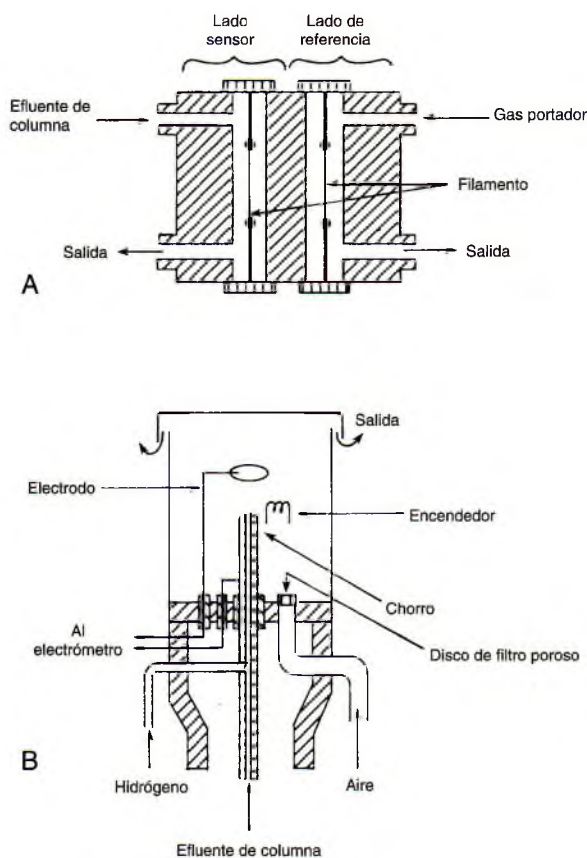


FIGURA 4-32. (A) Esquema de un detector de conductividad térmica. (B) Esquema de un detector de ionización de flama. (De Tietz NW, ed. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. Filadelfia: WB Saunders, 1987.)

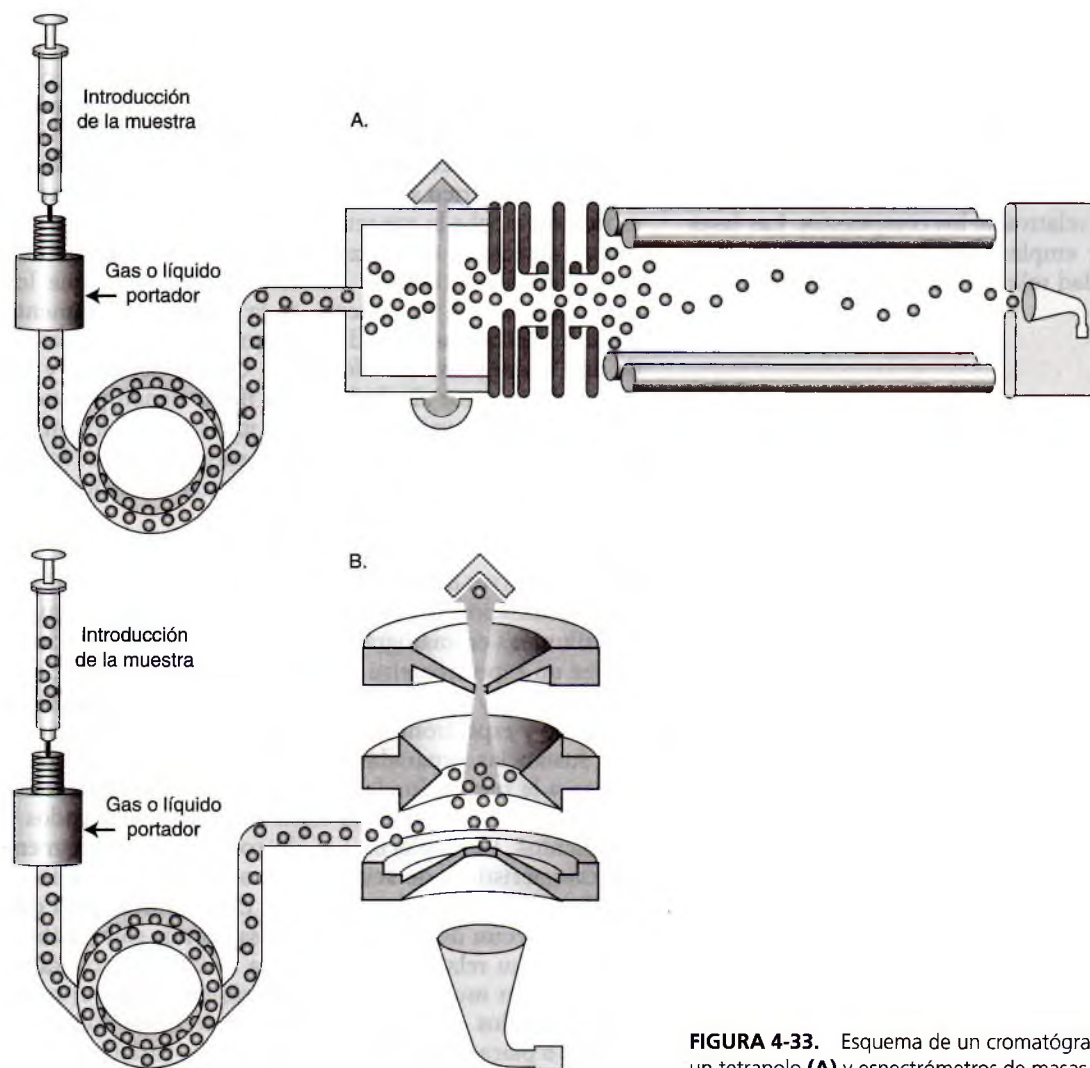


FIGURA 4-33. Esquema de un cromatógrafo de gases conectado a un tetrapolo (A) y espectrómetros de masas con trampa de iones (B).

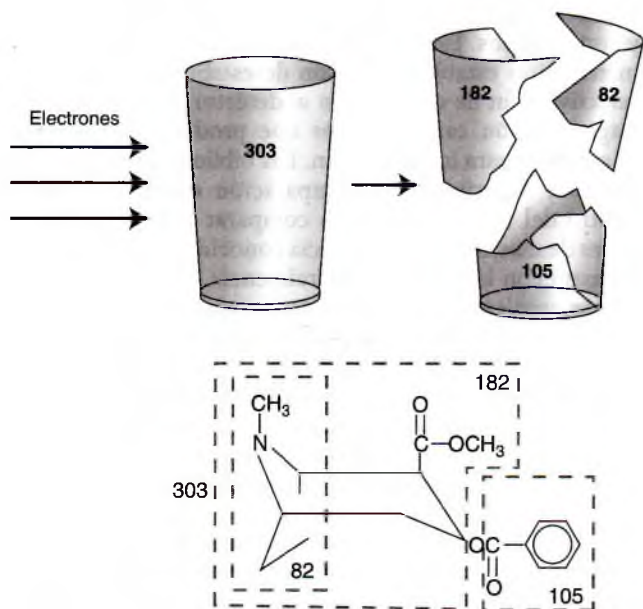


FIGURA 4-34. El bombardeo electrónico rompe la cocaína en fragmentos, con número y tamaño cuantificados. A diferencia del vaso de vidrio ilustrativo, el resultado de la fragmentación de masa de cocaína u otros compuestos químicos es predecible y reproducible.

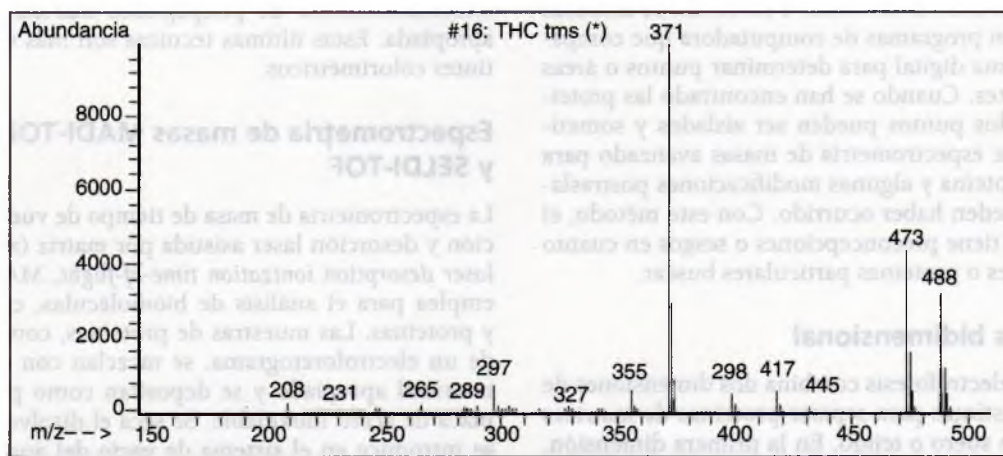


FIGURA 4-35. Espectro de masa del derivado trimetilsilano de Δ^9 9-carboxitetrahydrocannabinol (metabolito de la marihuana).

menores límites de detección. El primer espectrómetro de masa permite que sólo los iones de una relación específica m/z pasen al segundo espectrómetro, donde se lleva a cabo una fragmentación y análisis adicional (fig. 4-36).

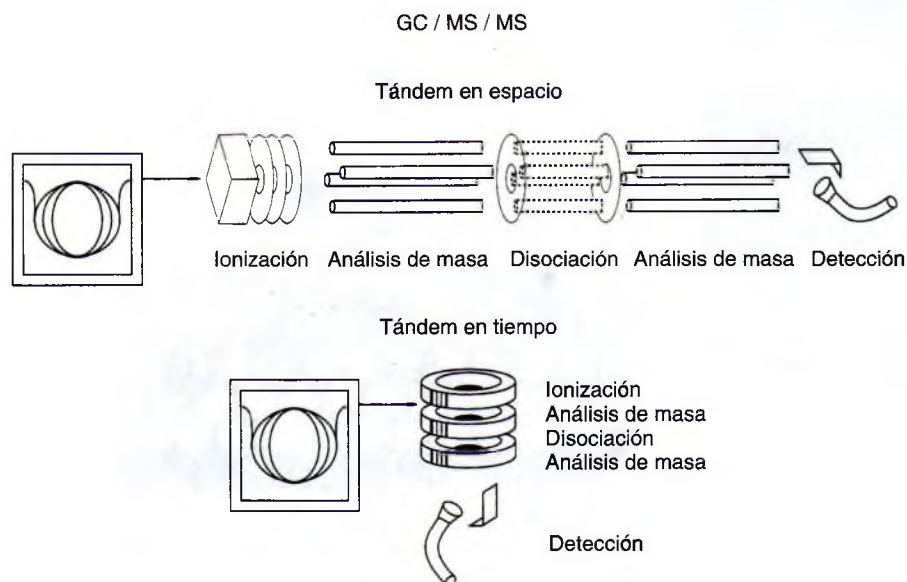
INSTRUMENTACIÓN PARA PROTEÓMICA

La siguiente generación de biomarcadores para enfermedades humanas será descubierta por medio de técnicas encontradas dentro de los campos de investigación de la genómica y la proteómica. La genómica emplea secuencias conocidas del genoma humano completo para determinar el papel de la genética en ciertas enfermedades humanas. La proteómica es la investigación de los productos proteínicos codificados por estos genes. La expresión de proteínas es igual a y, en muchos casos, más importante para la

detección de enfermedades que la genómica porque estos productos determinan lo que está ocurriendo *actualmente* dentro de una célula, en vez de los genes, que indican lo que una célula *podría* ser capaz de efectuar. Además, muchos cambios (postraslacionales) pueden ocurrirle a la proteína, ya que se ve afectada por otras proteínas y enzimas, que no se pueden predecir con facilidad mediante el conocimiento a nivel genómico.

Con frecuencia se emplea un método asistemático, bastante general, en el descubrimiento de nuevos marcadores bioquímicos. Las proteínas de muestras (p. ej., suero, orina, extracto de tejido) de individuos normales se comparan con las obtenidas de pacientes con la enfermedad que se está estudiando. Las técnicas, como la electroforesis bidimensional, se pueden emplear para separar proteínas en puntos o bandas individuales. Las proteínas que sólo

FIGURA 4-36. Espectrómetro de masa con tetrapolo triple.



aparecen en las muestras normales o mórbidas se estudian aún más. Existen programas de computadora que comparan geles en forma digital para determinar puntos o áreas que son diferentes. Cuando se han encontrado las proteínas candidato, los puntos pueden ser aislados y sometidos a análisis de espectrometría de masas avanzado para identificar la proteína y algunas modificaciones postraslacionales que pueden haber ocurrido. Con este método, el investigador no tiene preconcepciones o sesgos en cuanto a qué direcciones o proteínas particulares buscar.

Electroforesis bidimensional

Este ensayo de electroforesis combina dos dimensiones de electroforesis distintas para separar proteínas de matrices complejas como suero o tejido. En la primera dimensión, las proteínas se resuelven de acuerdo con sus puntos isoeléctricos (pI), usando gradientes de pH inmovilizados. Los gradientes comerciales están disponibles en diversos rangos de pH. En la segunda dimensión, las proteínas se separan de acuerdo con su tamaño relativo (peso molecular), usando electroforesis en gel de dodecil sulfato de sodio-poliacrilamida (SDS-PAGE). Un esquema de este procedimiento se muestra en la figura 4-37. Los geles se pueden correr en condiciones desnaturalizantes o no desnaturalizantes (p. ej., para el mantenimiento de la actividad enzimática) y ver mediante diversas técnicas, incluso el uso de tintes colorimétricos (como el azul de Coomassie o tinción de plata), radiográficas, fluorométricas o de qui-

mioluminiscencia de polipéptidos marcados de manera apropiada. Estas últimas técnicas son más sensibles a los tintes colorimétricos.

Espectrometría de masas MADI-TOF y SELDI-TOF

La espectrometría de masa de tiempo de vuelo con ionización y desorción láser asistida por matriz (*matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight*, MALDI-TOF) se emplea para el análisis de biomoléculas, como péptidos y proteínas. Las muestras de proteínas, como las aisladas de un electroforetograma, se mezclan con un disolvente matricial apropiado y se depositan como puntos en una placa de acero inoxidable. Se seca el disolvente y la placa se introduce en el sistema de vacío del analizador MALDI-TOF. Como se muestra en la figura 4-38, un impulso láser radia la muestra causando desorción e ionización de la matriz y la muestra. Debido a que el alcance espectral de masa monitoreado es alto (>500 daltons), la ionización de la matriz de bajo peso molecular se puede distinguir fácilmente de los péptidos y proteínas de alto peso molecular y no interfiere con la prueba de la proteína. Los iones de la muestra se centran hacia el espectro de masas. El tiempo requerido para que una masa llegue al detector es una función lineal de la masa; así, los iones grandes requieren más tiempo que los pequeños. El peso molecular de las proteínas adquirido mediante el espectro de masas se emplea para determinar la identidad de la muestra, y es útil en la determinación de modificaciones postraslacionales que pudieron haber ocurrido. Para proteínas muy

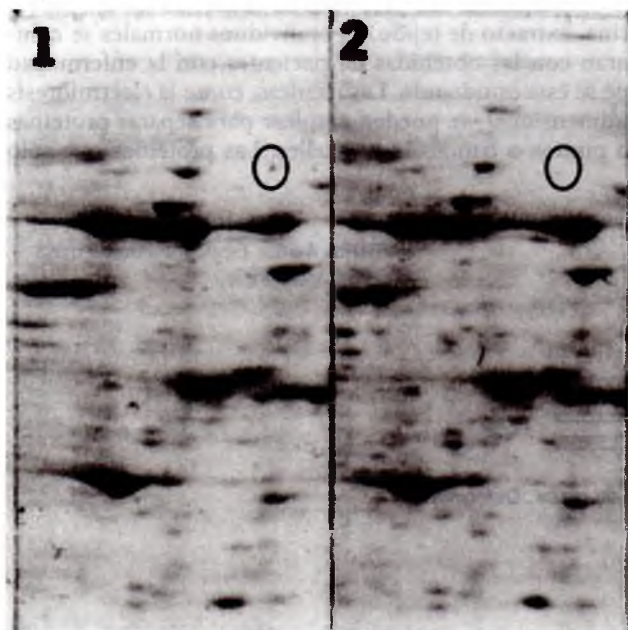


FIGURA 4-37. Ejemplo hipotético de un electroforetograma bidimensional de un paciente con una enfermedad (panel 1) comparado con un individuo normal (panel 2). El paciente exhibe una proteína (óvalo) que no se expresa en el individuo normal. Esta proteína podría ser un marcador potencial para esta enfermedad. (Geles cortesía de Kendrick Laboratories, Madison, WI.)

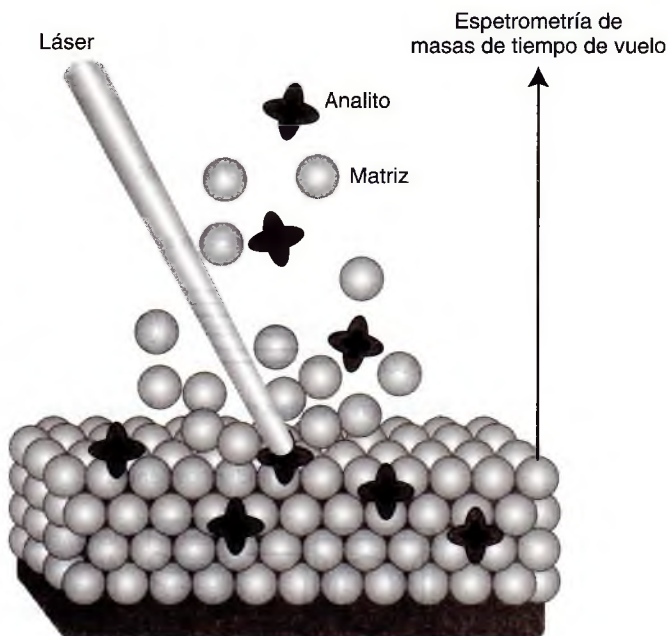


FIGURA 4-38. Proceso de desorción de la muestra previo al análisis MALDI-TOF. (Diagrama cortesía de Stanford Research Systems, Sunnyvale, CA.)

grandes, las muestras se pueden preparar con tripsina, que rompe los enlaces peptídicos entre la lisina y la arginina, para producir fragmentos de menor peso molecular que entonces se pueden medir. El límite de detección de esta prueba es casi 10^{-15} a 10^{-18} moles. Una modificación de la espectrometría de masas MALDI-TOF es la espectrometría de masas de tiempo de vuelo con ionización y desorción láser mejorada por superficie (*surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight*, SELDI-TOF), en la cual las proteínas son captadas de manera directa en un biochip cromatográfico sin que se requiera la preparación de la muestra. En la figura 4-39 se ilustra el proceso SELDI-TOF.

OSMOMETRÍA

Un osmómetro se emplea para medir la concentración de partículas de soluto en una disolución. La definición matemática es

$$\text{Osmolalidad} = \varphi \times n \times C \quad (\text{Ec. 4-13})$$

donde φ = coeficiente osmótico

n = número de partículas dissociables (iones) por molécula en la disolución

C = concentración en moles por kilogramo de disolvente

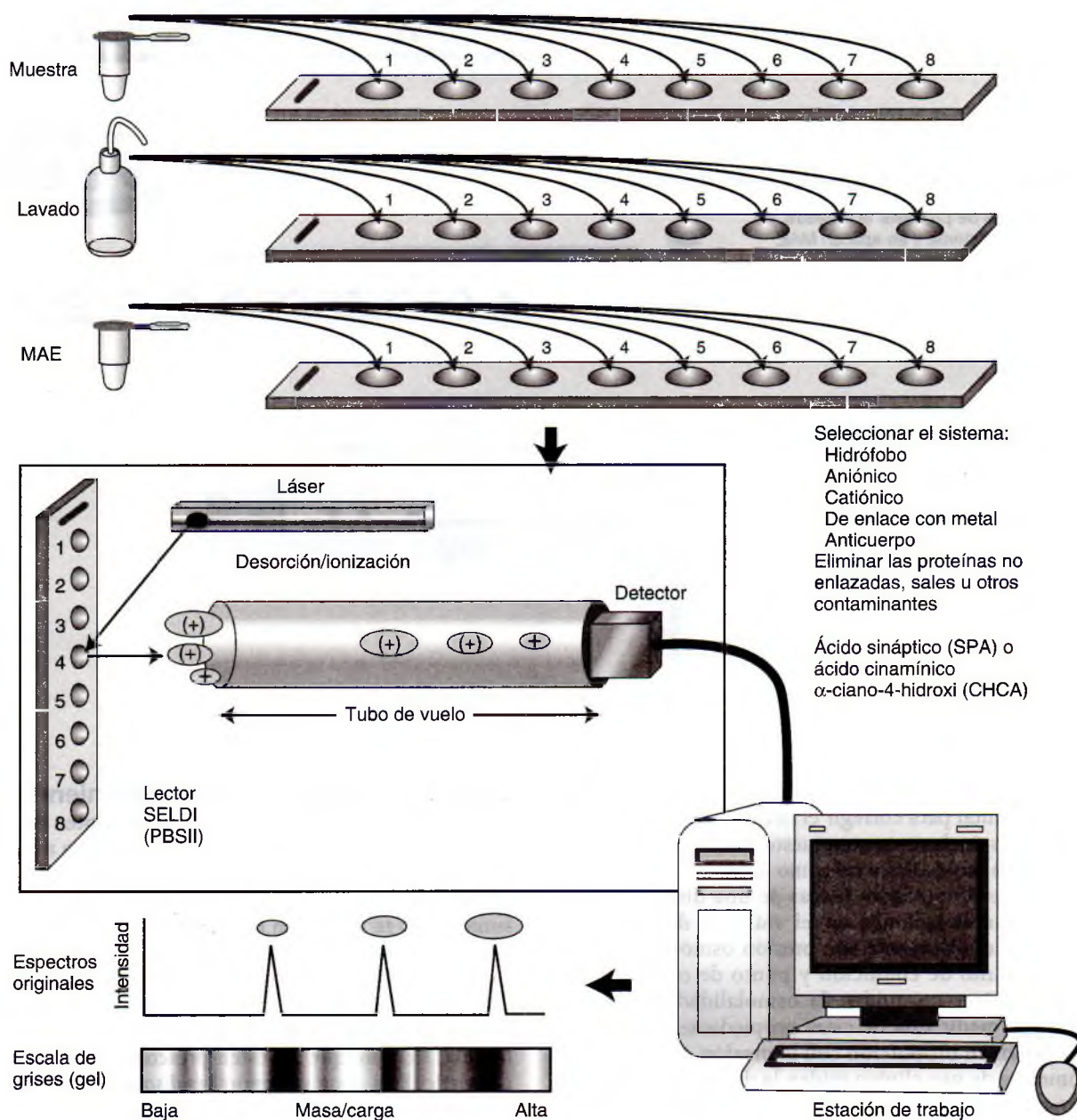


FIGURA 4-39. Esquema general del proceso SELDI-TOF. (Diagrama cortesía de Ciphergen Biosystems, Fremont, CA.)

1. Aplicar el sobrenadante de las células CD8⁺

El sobrenadante de los cultivos estimulados y no estimulados de células CD8⁺ normal, LTPN y progresor se agrega a un conjunto de trozos de proteína. Las proteínas se unen con el producto químico o los sitios de “amarre” biológico en la superficie del sistema por una interacción de afinidad.



2. Lavar el conjunto de proteínas

Las proteínas que se enlazan de modo no específico y los contaminantes de la disolución amortiguadora se lavan, y de esta manera se elimina ruido muestral.



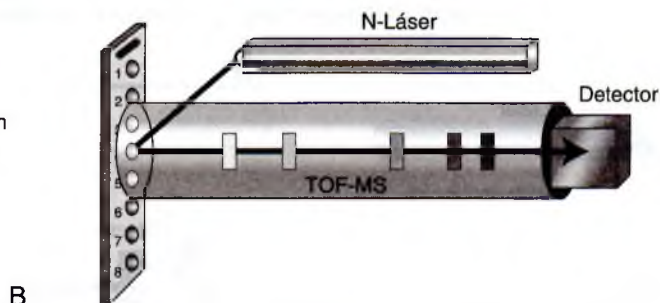
3. Añadir moléculas absorbentes de energía o “matriz”

Después de procesar la muestra, se seca el sistema y se aplican MAE a cada punto para facilitar la desorción y la ionización.



4. Analizar en un lector de trozos de proteína

Las proteínas que son retenidas en el sistema se detectan en el lector de trozos de proteína.



B

FIGURA 4-39. (CONTINUACIÓN)

El coeficiente osmótico es un factor derivado de forma experimental para corregir el hecho de que algunas de las moléculas, incluso un compuesto altamente disociado, existen como moléculas y no como iones.

Las cuatro propiedades físicas de una disolución que cambian con variaciones en el número de partículas disueltas en el disolvente son presión osmótica, presión de vapor, punto de ebullición y punto de congelamiento. Los osmómetros miden la osmolalidad de manera indirecta al medir una de estas propiedades coligativas, que cambian en proporción con la presión osmótica. Los osmómetros de uso clínico miden la depresión del punto de congelamiento o la depresión de la presión de vapor; los resultados se expresan en miliosmoles por kilogramo (mosm/kg).

Osmómetro de punto de congelamiento

En la figura 4-40 se ilustran los componentes básicos de un osmómetro de punto de congelamiento. La muestra en un pequeño tubo se introduce en una cámara con refrigerante frío que circula desde una unidad de enfriamiento. Se sumerge un termistor en la muestra. Para medir la temperatura, se emplea un alambre con el que se agita de manera suave la muestra hasta que se enfría varios grados debajo de su punto de congelamiento. Es posible enfriar agua a una temperatura tan baja como -40°C y aún tener agua líquida, siempre que no estén presentes cristales o materia particulada. Ésta se denomina *disolución superenfriada*. La agitación vigorosa cuando se superenfrija la muestra da como resultado congelamiento rápido. El congelamiento también se puede iniciar al sembrar cristales en una diso-

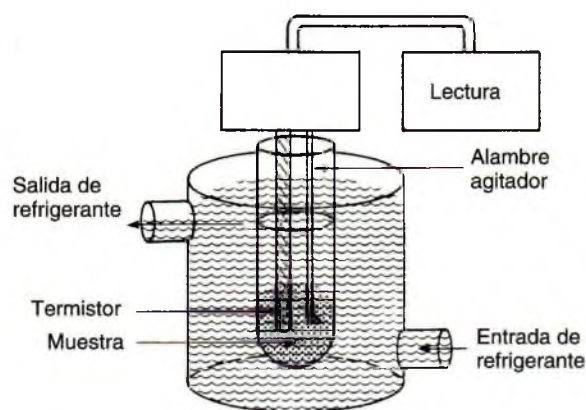


FIGURA 4-40. Osmómetro de punto de congelamiento. (De Coiner D. Basic Concepts in Laboratory Instrumentation. Bethesda, MD: ASMT Education and Research Fund, 1975-1979.)

lución superenfriada. Cuando la disolución superenfriada comienza a congelarse como resultado de la agitación rápida, se forma aguanieve y la disolución en realidad se calienta hasta su temperatura de punto de congelamiento. El aguanieve, un equilibrio de líquido y cristales de hielo, permanecerá a la temperatura del punto de congelamiento hasta que se congela la muestra sólida y cae debajo de su punto de congelamiento.

Las impurezas en un disolvente disminuirán la temperatura a la que ocurre el congelamiento o la fusión al reducir las fuerzas de enlace entre las moléculas de disolvente, de manera que las moléculas se separan entre sí y existen como un fluido a una menor temperatura. La disminución en la temperatura de congelamiento es proporcional al número de partículas disueltas presentes.

El termistor es un material que tiene menos resistencia cuando aumenta la temperatura. La lectura emplea un circuito de puente de Wheatstone que detecta el cambio de temperatura como proporcional al cambio en la resistencia del termistor. La depresión del punto de congelamiento es proporcional al número de partículas de soluto. Los estándares de concentración conocida se emplean para calibrar los instrumentos en mosm/kg.

TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA PRUEBAS EN EL LUGAR DE LA ATENCIÓN (PLDA)

Los dispositivos de análisis en el lugar donde se da la atención se emplean mucho para diversas aplicaciones clínicas, incluso consultorios médicos, departamentos de urgencias, unidades de cuidado intensivo y aún para autoanálisis. Debido a que quienes dan la atención primaria pueden hacer los análisis al lado del paciente, la principal atracción de la PLDA es el tiempo de respuesta reducido necesario para entregar resultados. En algunos casos es posible reducir los costos totales si el dispositivo elimina la necesidad de emplear instrumentación de laboratorio o si los tiempos de respuesta mejorados dan lugar a estancias más cortas en el hospital. La PLDA depende de las mismas técnicas analíticas que la instrumentación de laboratorio:

espectrometría, técnicas electroanalíticas y cromatografía. Como tal, los mismos pasos necesarios para llevar a cabo un análisis en el laboratorio central, se requieren para la PLDA, incluso validación de instrumentos, calibración de ensayo periódica, prueba de control de calidad, capacitación del operador y prueba de competencia. En el capítulo 7, *Pruebas en el lugar de la atención*, se da una explicación a fondo de esta tecnología. Las técnicas analíticas empleadas en estos dispositivos se dan en esta sección.

Los dispositivos de PLDA más comunes empleados al lado de la cama, en los consultorios y en el hogar son los monitores de glucosa sanguínea de punción digital. Los dispositivos de primera generación usan un método fotométrico, por el cual la glucosa produce peróxido de hidrógeno con oxidasa de glucosa inmovilizada en las tiras de prueba. El H_2O_2 se acopla con la peroxidasa para producir un color cuya intensidad se mide como una función de la concentración y por medio de fotometría de reflectancia. Un esquema de esta técnica se muestra en la figura 4-41. En estas tiras se mide la concentración de glucosa sin necesidad de retirar la sangre de las tiras.

La tecnología de tiras en una plataforma de PLDA se puede usar también para medir proteínas y enzimas, por ejemplo, marcadores cardíacos. La separación de analitos de la matriz se lleva a cabo mediante cromatografía en papel, en la que los anticuerpos específicos inmovilizados en la superficie cromatográfica captan el analito objetivo cuando pasa. Para análisis cualitativo, la detección se hace por medios visuales. Los medidores de reflectancia similares a los que se emplean para glucosa también están disponibles para mediciones cuantitativas.

La siguiente generación de dispositivos para PLDA emplean biosensores.²² Un biosensor acopla un biode detector específico, como una enzima, anticuerpo o sonda de ácido nucleico, con un transductor para la medición directa de un analito objetivo sin necesidad de separarlo de la matriz (fig. 4-42). El área ha sido explotada en años

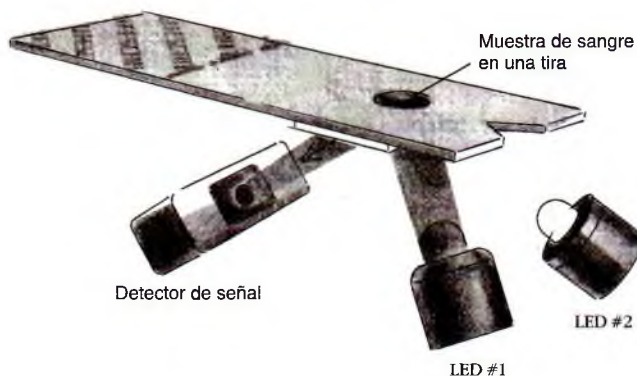


FIGURA 4-41. Fotometría de reflectancia de longitud de onda dual empleada en el monitoreo de glucosa en el lugar de la atención. Una membrana hidrofílica microporosa se emplea como depósito de la muestra para filtrar material celular sólido desde el depósito y proveer una superficie óptica, lisa, para mediciones de reflectancia. (Figura cortesía de Lifescan Inc. One touch system technology. Challenges in Diabetes Management: Clinical Protocols for Professional Practice. Nueva York: Health Education Technologies, 1988.)

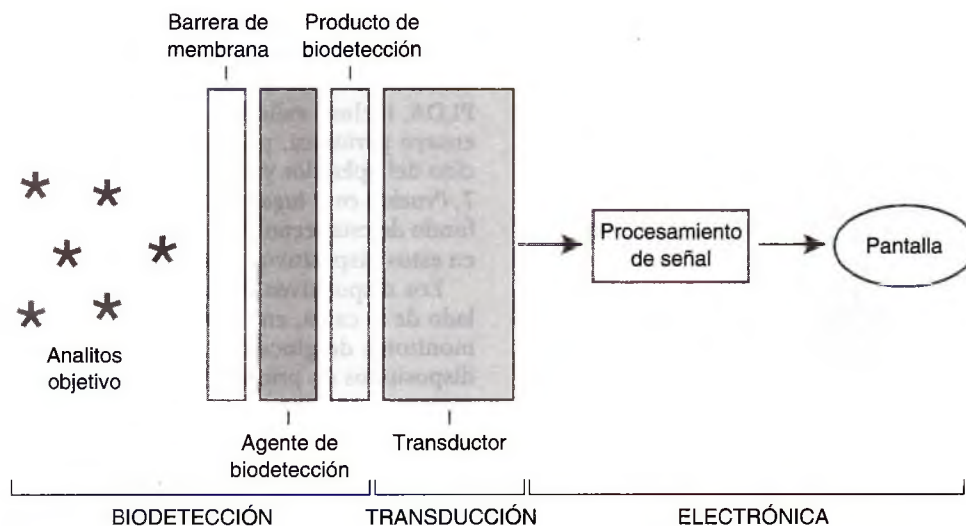


FIGURA 4-42. Esquema de un biosensor. (De Rosen A. Biosensors: where do we go from here? MLO Med Lab Obs 1995;27(3):24.)

recientes con el desarrollo de la fabricación de microcircuitos de silicio porque es posible miniaturizar los biosensores y distribuirlos a bajo costo. En una sola oblea de silicio se puede producir un sistema de biosensores para producir un multipanel de resultados, como un perfil de electrólito. Los dispositivos comerciales de PLDA emplean biosensores electroquímicos (como los *electrodos selectivos de microiones*) y ópticos para la medición de glucosa, electrólitos y gases sanguíneos arteriales. Con la inmovilización de anticuerpos y secuencias de DNA específicas, las sondas biosensoras pronto estarán disponibles para la detección de hormonas, fármacos y drogas, y bacterias difíciles de cultivar y virus como *Chlamydia*, de tuberculosis o de inmunodeficiencia humana.²²

RESUMEN

Las técnicas y principios generales empleados en un laboratorio de química clínica son idénticos a los utilizados en otros laboratorios de prueba analítica. Los laboratorios clínicos tienen necesidades especiales que requieren que los analizadores tengan alto rendimiento y tiempos de respuesta para la muestra. La generación actual de analizadores químicos opera bajo el modo de "acceso aleatorio"; es decir, cualquier combinación de pruebas se puede llevar a cabo en una muestra desde un menú de analitos. Para los analitos de química general, como glucosa o fósforo, la espectrofotometría es la técnica que más se emplea. Para electrólitos como sodio o potasio, los electrodos específicos de iones son muy usados y han reemplazado en gran medida a los fotómetros de flama. La espectrofotometría de absorción atómica se emplea todavía para metales como cinc y cobre, y es el método de referencia para calcio y magnesio. Sin embargo, los ensayos colorimétricos y

los ESI ahora se usan de manera rutinaria para estos dos últimos metales.

La electroforesis es todavía una técnica importante en los laboratorios clínicos, aunque el desarrollo de nuevos ensayos ha puesto en duda su función. Por ejemplo, la electroforesis de lipoproteínas ha sido desplazada en gran medida por la medición directa de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y el cálculo de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL). El desarrollo de un ensayo específico para colesterol LDL disminuirá más la función de la electroforesis. Con el desarrollo de inmunoensayos específicos para la forma MB de la isoenzima cinasa de creatina (CK-MB) y ensayos de inhibición para la forma 1 de la deshidrogenasa de lactato (LD1), la electroforesis ya no es tan común como antes; sin embargo, en fechas recientes se puso en circulación un ensayo de electroforesis automatizado para isoformas CK-MB. La electroforesis desempeñará un papel importante en el área de patología molecular para la identificación de productos génicos y mutaciones. La electroforesis bidimensional permite la separación de mezclas complejas, y es una herramienta importante para el descubrimiento de nuevos biomarcadores para enfermedad (proteómica). La identificación de proteínas específicas se puede llevar a cabo mediante instrumentos de espectrometría de masas con desorción asistida por láser. La electroforesis capilar es una tecnología incipiente que promete tener muchas aplicaciones clínicas. Con el desarrollo de inmunoensayos, el papel de la cromatografía líquida ha pasado del monitoreo de fármacos terapéuticos a la toxicología. La CLAP con detectores UV de exploración rápida se emplea para identificaciones completas de fármacos. Los sistemas CG/EM son el sostén principal para confirmación.

PREGUNTAS DE REPASO

1. De lo que se menciona a continuación, ¿qué no es necesario para obtener el espectro de un compuesto de 190 a 500 nm?
 - a) Fuente luminosa de deuterio.
 - b) Espectrofotómetro de doble haz.
 - c) Cubetas de cuarzo.
 - d) Fuente luminosa de tungsteno.
 - e) Fotomultiplicador.
2. La luz parásita en un espectrofotómetro limita:
 - a) La sensibilidad.
 - b) El alcance superior de linealidad.
 - c) La exactitud fotométrica abajo de 0.1 unidades de absorbancia.
 - d) La capacidad para medir el alcance UV.
 - e) El uso de un monocromador de rejilla.
3. ¿Cuál de las siguientes fuentes de luz se emplea en la espectrofotometría de absorción atómica?
 - a) Lámpara de cátodo hueco.
 - b) Lámpara de arco de xenón.
 - c) Luz de tungsteno.
 - d) Lámpara de deuterio.
 - e) Láser.
4. De lo que se menciona a continuación, ¿qué es cierto en relación con la fluorometría?
 - a) Las longitudes de onda de emisión se establecen siempre a longitudes de onda menores que la excitación.
 - b) El detector se coloca siempre en ángulo recto respecto al haz de excitación.
 - c) Todos los compuestos experimentan fluorescencia.
 - d) La fluorescencia es una técnica inherentemente más sensible que la absorción.
 - e) Los fluorómetros requieren detectores especiales.
5. ¿Cuál de las siguientes técnicas tiene la mayor sensibilidad posible?
 - a) Quimioluminiscencia.
 - b) Fluorescencia.
 - c) Turbidimetría.
 - d) Nefelometría.
 - e) Fosforescencia.
6. ¿Cuál ensayo electroquímico mide la corriente a potencial fijo?
 - a) Voltametría de separación anódica.
 - b) Amperometría.
 - c) Coulometría.
 - d) Análisis con electrodos selectivos de iones.
 - e) Electroforesis.
7. De lo siguiente, ¿qué se refiere al movimiento de los iones de la disolución amortiguadora y al disolvente en relación con el soporte fijo?
 - a) Enfoque isoelectrónico.
 - b) Iontoforesis.
 - c) Electroforesis de zona.
 - d) Electroendósmosis.
 - e) Plasmaferesis.
8. La cromatografía líquida de fase invertida se refiere a:
 - a) Una fase móvil polar y fase estacionaria no polar.
 - b) Una fase móvil no polar y fase estacionaria polar.
 - c) Distribución entre dos fases líquidas.
 - d) Tamaño empleado para separar solutos en lugar de carga.
 - e) Carga empleada para separar solutos en vez de tamaño.
9. De lo siguiente, ¿cuál no es una ventaja de la electroforesis capilar?
 - a) Tamaño de muestra muy pequeño.
 - b) Análisis rápido.
 - c) Uso de detectores tradicionales.
 - d) Se puede analizar varias muestras al mismo tiempo en una inyección.
 - e) Los cationes, sustancias neutras y aniones se mueven en la misma dirección a velocidades distintas.
10. Los espectrómetros de masa en tandem:
 - a) Son dos espectrómetros de masa colocados en serie entre sí.
 - b) Son dos espectrómetros de masa colocados en paralelo entre sí.
 - c) Requieren el uso de un cromatógrafo de gases.
 - d) Requieren el uso de una interfase de electrodispersión.
 - e) No requieren una fuente de ionización.
11. De lo que se menciona a continuación, ¿qué es falso en relación con los principios de los dispositivos de prueba en el lugar de la atención?
 - a) Emplean principios que son idénticos para la instrumentación de laboratorio.
 - b) Los biosensores han permitido la miniaturización recomendable en particular para prueba en el lugar donde se brinda la atención.
 - c) Los dispositivos no requieren prueba de control de calidad.
 - d) Las microcomputadoras de a bordo controlan las funciones del instrumento y la reducción de datos.
 - e) El análisis de sangre completa es el modelo preferido.
12. ¿Cuál es el detector más sensible para espectrofotometría?
 - a) Fototubo.
 - b) Fotomultiplicador.
 - c) Multiplicador electrónico.
 - d) Sistema o conjunto de fotodiodos.
 - e) Todos son igualmente sensibles.

13. ¿Cuál de las siguientes es la ley de Beer?
 - a) $% T = I/I_0 \times 100$
 - b) $E = h\nu$
 - c) $\epsilon = \Delta pH \times 0.59V$
 - d) $A = \epsilon \times b \times c$
 - e) $Osmolalidad = \phi \times n \times C$
14. De lo siguiente, ¿qué clasifica de manera correcta la radiación electromagnética de baja energía a alta energía?
 - a) Cósmica, gamma, rayos X, UV, visible, infrarroja, microondas.
 - b) UV, visible, infrarroja, microondas, rayos X, cósmica, gamma.
 - c) UV, visible, infrarroja, cósmica, gamma, microondas, rayos X.
 - d) Microondas, infrarroja, visible, UV, rayos X, gamma, cósmica.
 - e) Visible, UV, infrarroja, cósmica, gamma, microondas, rayos X.
15. ¿Cuál es el propósito del interruptor giratorio en un espectrofotómetro de absorción atómica?
 - a) Corregir la cantidad de luz emitida por la flama.
 - b) Corregir la intensidad fluctuante de la fuente de luz.
 - c) Corregir la sensibilidad fluctuante del detector.
 - d) Corregir las diferencias en la tasa de aspiración de la muestra.
 - e) Corregir la presencia de luz parásita.
16. De lo que se menciona a continuación, ¿qué describe mejor el proceso de fluorescencia?
 - a) Los átomos emiten un fotón cuando se excitan los electrones.
 - b) Las moléculas emiten un fotón cuando se excitan los electrones.
 - c) Las moléculas emiten un fotón a la misma energía cuando los electrones excitados vuelven al estado basal.
 - d) Las moléculas emiten un fotón a mayor energía cuando los electrones excitados vuelven al estado basal.
 - e) Las moléculas emiten un fotón a menor energía cuando los electrones excitados vuelven al estado basal.
17. ¿Qué es lo más exacto en relación con los electrodos selectivos de iones?
 - a) El electrodo de pH usa una membrana de estado sólido.
 - b) El electrodo de calcio no requiere un electrodo de referencia.
 - c) Las membranas específicas de gas son necesarias para electrodos de oxígeno y dióxido de carbono.
 - d) El electrodo de sodio usa un portador selectivo de iones (valinomicina).
 - e) El ESI para la urea emplea ureasa inmovilizada.
18. De lo siguiente, ¿qué es FALSO en relación con la espectrometría de masas?
 - a) Los iones se forman por el bombardeo de electrones.
 - b) El cuadrupolo y los sectores de trampas de iones separan iones de acuerdo con su relación masa a carga.
 - c) Cada compuesto químico tiene un espectro de masa único.
 - d) La espectrometría de masas detecta cromatografía de gas y líquido.
 - e) Los espectrómetros de masas se pueden usar para secuenciar DNA.
19. De los siguientes enunciados, ¿cuál no es un objetivo de la investigación proteómica?
 - a) Identificar proteínas novedosas como posibles nuevos marcadores para enfermedad.
 - b) Identificar modificaciones postraslacionales de proteínas.
 - c) Comprender el mecanismo de las enfermedades.
 - d) Identificar mutaciones génicas específicas.
 - e) Determinar cuáles genes están expresados y cuáles están inactivos.
20. ¿Cuál de los siguientes procedimientos no se emplea en la actualidad o de manera rutinaria para los dispositivos de prueba en el lugar de la atención?
 - a) Inmunocromatografía.
 - b) Biosensores.
 - c) Detección colorimétrica.
 - d) Detección electroquímica.
 - e) Reacción en cadena de la polimerasa.

REFERENCIAS

1. Christian GD, et al. Instrumental Analysis, 2nd ed. Boston: Allyn and Bacon, 1986.
2. Willard HH, et al. Instrumental Methods of Analysis. Belmont, CA: Wadsworth, 1981.
3. Coiner D. Basic Concepts in Laboratory Instrumentation. Bethesda, MD: ASMT Education and Research Fund, 1975–1979.
4. Ingle JD, Crouch SR. Spectrochemical Analysis. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, 1988.
5. Holland JF et al. Mass spectrometry on the chromatographic time scale: realistic expectations. Anal Chem 1983;55:997A.
6. Guilbault GG. Practical Fluorescence. Theory, Methods and Techniques. New York: Marcel Dekker, 1973.
7. Kricka LJ. Chemiluminescent and bioluminescent techniques. Clin Chem 1991;37:1472.
8. Wild D. The Immunoassay Handbook. London: Macmillan Press, 1994.
9. Svelto O, et al. Principles of Lasers, 2nd ed. New York: Plenum Press, 1982.

10. Coulter Hematology Analyzer: Multidimensional Leukocyte Differential Analysis, Vol. 11 (1). Miami: Beckman Coulter, 1989.
11. Weast RC. CRC Handbook of Chemistry and Physics, 61st ed. Cleveland: CRC Press, 1981.
12. Burtis CA. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1993.
13. Heiger DN. High-Performance Capillary Electrophoresis: An Introduction, 2nd ed. Waldbronn, Germany: Hewlett-Packard, 1992.
14. Monnig CA, Kennedy RT. Capillary electrophoresis. *Anal Chem* 1994;66:280R.
15. Parris NA. Instrumental Liquid Chromatography: A Practical Manual on High Performance Liquid Chromatographic Methods. New York: Elsevier, 1976.
16. Jurk H. Thin-Layer Chromatography. Reagents and Detection Methods, Vol. 1a. Weinheim, Germany: Verlagsgesellschaft, 1990.
17. Bender GT. Chemical Instrumentation: A Laboratory Manual Based on Clinical Chemistry. Philadelphia: WB Saunders, 1972.
18. Horváth C. High Performance Liquid Chromatography, Advances and Perspectives. New York: Academic Press, 1980.
19. Constantin E, et al. Mass Spectrometry. New York: Ellis Horwood, 1990.
20. Kebarle E, Liang T. From ions in solution to ions in the gas phase. *Anal Chem* 1993;65:972A.
21. Karasek FW, Clement RE. Basic Gas Chromatography: Mass Spectrometry. New York: Elsevier, 1988.
22. Rosen A. Biosensors: where do we go from here? *MLO Med Lab Obs* 1995;27(3):24.

Principios de automatización química clínica

William L. Roberts

CAPÍTULO

5

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- HISTORIA DE LOS ANALIZADORES AUTOMATIZADOS
- FUERZAS IMPULSORAS HACIA MÁS AUTOMATIZACIÓN
- ENFOQUES BÁSICOS HACIA LA AUTOMATIZACIÓN
- PASOS DEL ANÁLISIS AUTOMATIZADO
 - Preparación e identificación de la muestra
 - Medición de la muestra y entrega
 - Sistemas de reactivos y entrega
 - Fase de reacción química
 - Fase de medición
 - Procesamiento de la señal y manejo de datos
- SELECCIÓN DE ANALIZADORES AUTOMATIZADOS
- AUTOMATIZACIÓN TOTAL DEL LABORATORIO
 - Fase preanalítica (procesamiento de la muestra)
 - Fase analítica (análisis químicos)
 - Fase posanalítica (manejo de datos)
- TENDENCIAS FUTURAS EN LA AUTOMATIZACIÓN
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al terminar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Definir los siguientes términos: automatización, canal, flujo continuo, análisis discreto, tiempo de permanencia, bandera, acceso aleatorio y rendimiento.
- Describir la historia del desarrollo de los analizadores automatizados en el laboratorio de química clínica.
- Listar cuatro fuerzas impulsoras detrás del desarrollo de nuevos analizadores automatizados.
- Nombrar tres métodos básicos para el análisis de muestras que emplean los analizadores automatizados.
- Explicar los pasos principales en el análisis automatizado.
- Proporcionar ejemplos de analizadores de química discretos disponibles en el comercio y sistemas modulares.
- Comparar los distintos enfoques para el análisis automatizado que emplean los fabricantes de instrumentos.
- Discriminar entre un sistema de reactivos abierto contra uno cerrado.
- Relacionar tres consideraciones en la selección de un analizador automatizado.
- Explicar el concepto de automatización total del laboratorio.
- Diferenciar las tres fases del proceso de prueba de laboratorio.
- Explicar las tendencias futuras en el desarrollo del analizador automatizado.

TÉRMINOS CLAVE

Acceso aleatorio
Análisis discreto
Automatización
Automatización total del laboratorio

Bandera
Canal
Código de barras
Flujo continuo
Modular

Muestreo de tubo cerrado
Placa de química seca
Robótica

Rotor
Sonda

En el laboratorio moderno de química clínica se emplea un alto grado de automatización. Muchas etapas en el proceso analítico que antes se llevaban a cabo de forma manual ahora se pueden realizar automáticamente, lo que permite al operador centrarse en tareas que no son posibles de automatizar con facilidad e incrementar tanto la eficiencia como la capacidad. El proceso analítico se puede dividir en tres fases principales: preanalítica, analítica y posanalítica, que corresponden al procesamiento de la muestra, el análisis químico y el manejo de datos, respectivamente. Mejoramientos sustanciales han ocurrido en las tres áreas durante la década pasada. Siete vendedores principales de diagnóstico venden analizadores automatizados y reactivos. Estos vendedores perfeccionan de manera continua sus productos para hacerlos más funcionales y amigables con el usuario. La fase analítica es la más automatizada, y en la actualidad más investigación y esfuerzos de desarrollo se enfocan en incrementar la automatización de los procesos pre y posanalíticos.

HISTORIA DE LOS ANALIZADORES AUTOMATIZADOS

Después que Technicon introdujo en 1957 el primer analizador automatizado, los instrumentos de este tipo proliferaron de muchos fabricantes.¹ Este primer "AutoAnalyzer" (AA) fue un analizador de lotes secuencial, de canal único y flujo continuo capaz de proveer un solo resultado de prueba en casi 40 muestras por hora. La siguiente generación de instrumentos Technicon que se desarrolló fue la serie de analizadores múltiples simultáneos (*Simultaneous Multiple Analyzer*, SMA). SMA-6 y SMA-12 fueron analizadores con canales múltiples (para pruebas diferentes), que trabajaban de manera sincrónica para producir 6 a 12 resultados de prueba por hora. No fue sino hasta mediados de la década de 1960 que estos analizadores de flujo continuo tuvieron alguna competencia importante en el mercado.

En 1970, se introdujo el primer analizador centrífugo comercial como una tecnología subproducto de la investigación del espacio exterior de la NASA. El Dr. Norman Anderson desarrolló un prototipo en 1967 en el Oak Ridge National Laboratory como una alternativa para la tecnología de flujo continuo, la cual tenía problemas de acarreo importantes y un costoso derroche de reactivo. Él quería llevar a cabo análisis en paralelo y también aprovechar los avances de la tecnología de las computadoras. La segunda generación de estos instrumentos (1975) fue más exitosa, como resultado de la miniaturización de las computadoras y avances en la industria de los polímeros para la fabricación de cubetas ópticas de plástico de gran calidad.

El siguiente desarrollo importante que revolucionó la instrumentación de química clínica ocurrió en 1970 con la introducción del Automatic Clinical Analyzer (ACA) (DuPont [ahora, Dade Behring]). Éste fue el primer analizador discreto de flujo continuo, así como también el primer instrumento en tener capacidades de acceso aleatorio, mediante el cual se podían analizar muestras STAT fuera de la secuencia del lote según se requiriera. Paquetes

plásticos de prueba, identificación positiva del paciente y calibración infrecuente estaban entre las características únicas del ACA. Otros hitos importantes fueron la introducción de la tecnología de análisis de capa fina en 1976 y la introducción del analizador Kodak Ektachem (ahora, Vitros) en 1978 (en la actualidad, Ortho-Clinical Diagnostics). Este instrumento fue el primero en usar volúmenes de micromuestra y reactivos en placas para análisis químico por vía seca, y en incorporar de manera extensa la tecnología de computadoras en su diseño y uso.

Desde 1980 han sido desarrollados varios analizadores, sobre todo discretos, que incorporan características como electrodos selectivos de iones (ESI), fibra óptica, análisis policromático, software y hardware de computadora cada vez más avanzado para el manejo de datos y menús de prueba más grandes. Los analizadores populares y más exitosos que emplean estas y otras tecnologías desde 1980 son los analizadores Astra (ahora, Synchron) (Beckman Coulter) que empleaban de manera extensa ESI; Paramax (Dade) utiliza suministro de tabletas de reactivo y muestreo de tubo primario; el analizador Hitachi (Boehringer Mannheim; ahora, Roche Diagnostics) con discos de reacción reutilizables y configuraciones fijas de diodos para mapeo espectral, y el Chem 1 de Technicon (ahora, Bayer), que empleaba segmentos de aceite encapsulados de muestra y reactivos en un solo tubo de flujo continuo. Los sistemas automatizados de uso común en la actualidad en los laboratorios de química clínica son los analizadores Aeroset y ARCHITECT (Abbott Laboratories), Advia (Bayer), Synchron (Beckman Coulter), Dimension (Dade Behring), AU (Olympus), Vitros (Ortho-Clinical Diagnostics) y varias líneas de analizadores Roche.

Los fabricantes de estos sistemas de instrumentos han adoptado las características y tecnologías más exitosas de otros instrumentos, donde es posible, para hacer cada generación de su producto más competitiva en el mercado. Las diferencias entre los instrumentos de los fabricantes, principios de operación y tecnologías son menos distintas ahora que en los primeros años de la automatización del laboratorio.

FUERZAS IMPULSORAS HACIA MÁS AUTOMATIZACIÓN

Desde 1995, el ritmo de cambios con los analizadores químicos de rutina actuales y la introducción de nuevos han disminuido de forma considerable, en comparación con la primera mitad de la década de 1990. En efecto, los analizadores son más rápidos y fáciles de usar como resultado de los refinamientos continuos de transformación y electrónicos. Los métodos son más precisos, sensibles y específicos, aunque algunos de los mismos principios se encuentran en los instrumentos de hoy como en los modelos anteriores. Los fabricantes han trabajado de manera exitosa hacia la automatización con capacidades de independencia e intervención mínima del operador.² Los fabricantes también han respondido al deseo de los médicos de llevar la prueba de laboratorio al paciente. La introducción de analizadores de banco fáciles de operar,

portátiles y pequeños, en laboratorios de consultorios (LC), así como en unidades de atención quirúrgica y crítica que demandan resultados de laboratorio inmediatos, ha dado como resultado un dominio enormemente exitoso de analizadores que se emplean en el lugar donde se presta la atención.³ Otra área especializada con un arsenal de analizadores de rápido desarrollo es la inmunoquímica. Las técnicas inmunológicas para examinar fármacos, proteínas específicas, marcadores de tumores y hormonas han evolucionado a un nivel de automatización incrementado. Los instrumentos que usan técnicas como el inmunoensayo de polarización por fluorescencia (FPIA), nefelometría e inmunoensayo competitivo y no competitivo con detección quimioluminiscente se han vuelto populares.

El hito más reciente en el desarrollo de analizadores de química ha sido la combinación química e inmunoensayo en un solo analizador *modular*. El analizador Dimension RxL con un módulo de inmunoensayo heterogéneo se introdujo en 1997. Este diseño permite la consolidación adicional de la estación de trabajo con mejoras consiguientes en la eficiencia operacional y más reducciones en el tiempo de respuesta. Los analizadores modulares que combinan las capacidades de química e inmunoensayo ahora se pueden obtener de varios vendedores (fig. 5-1).

Otras fuerzas están impulsando también el mercado hacia más automatización enfocada. El mayor volumen de análisis y el tiempo de respuesta más rápido han dado como resultado una menor cantidad de laboratorios troncales más centralizados que llevan a cabo análisis más completos.⁴ El uso de grupos de expertos de laboratorio o perfiles ha disminuido, con las pruebas individuales dirigidas de manera más diagnóstica según dictan los cambios de política recientes de Medicare y Medicaid. Es del conocimiento de los investigadores, durante muchos años, que los paneles de química sólo conducen en ocasiones a nue-

vos diagnósticos en pacientes que parecen saludables.⁵ La expectativa de resultados de calidad con mayor exactitud y precisión nunca está presente con los estándares normativos que establecen las Enmiendas de Mejoramiento del Laboratorio Clínico (CLIA), la Comisión Conjunta sobre Acreditación de Organizaciones de Atención de la Salud (JCAHO), el Colegio de Patólogos Estadounidenses (CAP) y otros. La intensa competencia entre los fabricantes de instrumentos ha impulsado la automatización hacia analizadores más complejos con tecnologías creativas y características únicas. Además, los costos disparados han estimulado la reforma de atención de la salud y, de manera más específica, la atención gestionada y los ambientes de capitación dentro de los cuales los laboratorios están forzados a operar.

ENFOQUES BÁSICOS HACIA LA AUTOMATIZACIÓN

Hay muchas ventajas en relación con la automatización de los procedimientos. Un propósito es incrementar el número de pruebas que lleva a cabo un laboratorio en un determinado período. La mano de obra es un artículo caro en los laboratorios clínicos. A través de la mecanización, se reduce el componente de mano de obra dedicado a cualquier prueba simple, y esto baja de modo efectivo el costo por prueba. Un segundo propósito es minimizar la variación en los resultados de un laboratorio a otro. Al reproducir los componentes de un procedimiento de la forma más idéntica posible, se reduce el coeficiente de variación y se incrementa la reproducibilidad. Así que la exactitud no depende de la habilidad o carga de trabajo de un operador particular en un día específico. Esto permite comparar mejor los resultados día a día y de una semana a otra. No obstante, la automatización no corrige las deficiencias inherentes a la metodología. Una tercera ventaja se obtiene debido a que la automatización elimina los errores potenciales de los análisis manuales como etapas de pipeteo volumétrico, cálculo y transcripción de resultados. Se acumula una cuarta ventaja debido a que los instrumentos pueden usar cantidades muy pequeñas de muestras y reactivos. Esto permite extraer menos sangre de cada paciente. Además, el uso de pequeñas cantidades de reactivo disminuye el costo de productos de consumo.

Hay tres enfoques básicos con los instrumentos: flujo continuo, análisis centrífugo y análisis discreto. Los tres pueden usar análisis por lotes (es decir, gran número de muestras en una ejecución), pero sólo los analizadores discretos ofrecen acceso aleatorio o capacidades STAT.

En *flujo continuo*, los líquidos (reactivos, diluyentes y muestras) se bombean por un sistema de tubería continua. Las muestras se introducen de manera secuencial, y cada una fluye por la misma red. Una serie de burbujas de aire a intervalos regulares sirven como medios de separación y limpieza. El flujo continuo, por tanto, resuelve la consideración importante de uniformidad en pruebas de rendimiento porque cada muestra sigue la misma trayectoria de reacción. El flujo continuo también ayuda al laboratorio que necesita ejecutar muchas muestras que requieren el

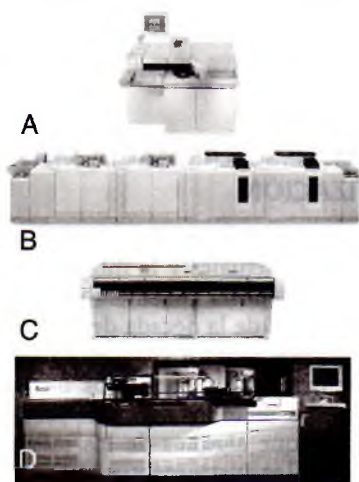


FIGURA 5-1. Analizadores modulares de química e inmunoensayo. (A) Dade Behring Dimension RxL (fotografía cortesía de Dade Behring); (B) Roche MODULAR ANALYTICS (fotografía cortesía de Roche Diagnostics); (C) Abbot ARCHITEC ci8200 (fotografía cortesía de Abbott Diagnostics); y (D) Beckman Coulter Synchron LXi 725 (fotografía cortesía de Beckman Coulter).

mismo procedimiento. Los analizadores de flujo continuo más complejos empleaban canales simples paralelos para ejecutar pruebas múltiples en cada muestra; por ejemplo, SMA y SMAC. Las desventajas principales que contribuyeron a la desaparición final de los analizadores de flujo continuo tradicionales (es decir, AA, SMA y SMAC) en el mercado fueron los problemas importantes de acarreo y el despilfarro de reactivos en flujo continuo. La respuesta de Technicon a estos problemas fue un analizador discreto de flujo no continuo (el RA1000), que usa fluido de acceso aleatorio (un líquido de hidrocarburo para reducir la tensión de superficie entre muestras o reactivos y su tubería) y, por tanto, reduce el acarreo. Después, Technicon desarrolló el Chem 1 en el que se emplea tubería y aceite de teflón, con lo cual se eliminan los problemas de acarreo. El Chem 1 es un analizador de flujo continuo pero comparable sólo remotamente con el principio de flujo continuo original.

El *análisis centrífugo* emplea la fuerza que genera la centrifugación para transferir y después contener líquidos en cubetas separadas para medición en el perímetro de un rotor giratorio. Los analizadores centrífugos tienen mayor capacidad para ejecutar muestras múltiples, una prueba a la vez, en un lote. El análisis por lotes es su principal ventaja porque las reacciones en la cubetas se leen casi al mismo tiempo, y no lleva más tiempo correr un rotor completo de casi 30 muestras que lo que llevaría correr unas cuantas. Los laboratorios con una carga de trabajo alta de pruebas individuales para análisis de rutina por lotes pueden usar estos instrumentos. De nuevo, cada cubeta debe tener una correspondencia uniforme con las demás para mantener el manejo de calidad de cada muestra. El analizador Cobas-Bio (Roche Diagnostics), con una lámpara de destello de xenón y cubetas longitudinales,⁶ y el IL Monarch, con un diseño de uso fácil completamente integrado, son dos de los analizadores centrífugos más exitosos.

El *análisis discreto* es la separación de cada muestra y reactivos adicionales en un recipiente separado. Los analizadores discretos tienen la capacidad de ejecutar pruebas múltiples con una muestra a la vez o varias con una prueba a la vez. Son los analizadores más populares y versátiles y han reemplazado casi por completo a los analizadores centrífugos y de flujo continuo. Sin embargo, debido a que cada muestra está en un recipiente de reacción separado, la uniformidad de la calidad se debe mantener en cada cubeta para que la calidad de una determinada muestra no sea vea afectada por el espacio particular que ocupa. La lista de analizadores del cuadro 5-1 son ejemplos de analizadores discretos de corriente con capacidad de acceso aleatorio.

PASOS DEL ANÁLISIS AUTOMATIZADO

En el análisis clínico, la *automatización* es la mecanización de los pasos en un procedimiento. Los fabricantes diseñan sus instrumentos para imitar técnicas manuales. Los pasos principales en un procedimiento se pueden listar como sigue:

- Preparación e identificación de la muestra
- Medición de la muestra y entrega

- Sistemas de reactivos y entrega
- Fase de reacción química
- Fase de medición
- Procesamiento de señal y manejo de datos

Cada paso del análisis automatizado se explica en esta sección y se analizan varias aplicaciones. Se han elegido varios instrumentos porque tienen componentes que representan ya sea características comunes empleadas en la instrumentación química o un método único de automatizar un paso en un procedimiento. Ninguno de los instrumentos representativos se describe por completo, sino más bien los componentes importantes se presentan en el texto como ejemplos.

Preparación e identificación de la muestra

La preparación de la muestra para análisis ha sido y es un proceso manual en la mayor parte de los laboratorios. El tiempo de coagulación (si se utiliza suero), la centrifugación y la transferencia de la muestra a una taza del analizador (a menos que se use muestreo de tipo primario) causan retraso y gasto en el proceso de prueba. Una alternativa a la preparación manual es automatizar este proceso mediante la *robótica*, o automatización frontal, para “manejar” la muestra por estos pasos y cargarla en el analizador. Otra opción es evitar por completo la preparación de la muestra mediante el uso de sangre completa para el análisis; por ejemplo, Abbott-Vision. La robótica para la preparación de la muestra ya es una realidad en varios laboratorios clínicos en Estados Unidos y algunos países. Otro método es usar un tubo separador de plasma y llevar a cabo el muestreo de tubo primario con plasma heparinizado. Esto elimina la necesidad de esperar a que se coagule la muestra y tomar alícuotas. Más adelante en este capítulo se amplía la explicación acerca del procesamiento preanalítico de la muestra, o automatización frontal.

La muestra se debe identificar de manera apropiada y su ubicación en el analizador se debe monitorear en toda la prueba. El medio más simple de identificar una muestra es colocar una taza de muestra marcada de forma manual en una posición de análisis numerada en el analizador, de acuerdo con una hoja de trabajo preparada a mano o una lista de carga generada por computadora. El método más complejo que se usa por lo común en la actualidad emplea un *código de barras* fijo en el tubo de recolección primario. Esta etiqueta contiene datos demográficos del paciente y también puede incluir peticiones de prueba.

Los tubos marcados con código de barras se transfieren a la zona de carga del analizador, donde se explora el código y la información se almacena en la memoria de la computadora. El analizador es entonces capaz de monitorear las funciones de identificación, órdenes de prueba y parámetros y la posición de la muestra. Ciertos analizadores pueden tomar peticiones de prueba, descargadas del sistema de información del laboratorio y ejecutarlas cuando la muestra apropiada sea identificada y esté lista para ser pipeteada.

CUADRO 5-1. RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS PARA ANALIZADORES DE QUÍMICA CLÍNICA SELECCIONADOS

VENDEDOR	ABBOTT DIAGNOSTICS AEROSET	BAYER ADVIA 1650	BECKMAN COULTER SYNCHRON LX20 PRO	DADE BEHRING DIMENSION RXL	OLYMPUS AMERICA AU640	ORTHO-CLINICAL DIAGNOSTICS VITROS 950	ROCHE COBAS INTEGRA 800	ROCHE DIAGNOSTICS MODULAR ANALYTICS P MODULE
Vendido primero en EUA	1998	1999	2001	1997	2002	1995	2001	1998
Rendimiento (pruebas/h, depende de la mezcla de prueba)	1600	600–1200	360–540	288–500	800	600–700	472–708	600–1200
Ensayos a bordo al mismo tiempo	59	49	41/71	48/95	51	75	72	47
Canales abiertos	100	62	41/71	10	95	Sistema cerrado	Canales de instalación disponibles	5
Canales de electrodo selectivo de iones	3	3	5	4	3	3	4	3
Volumen de muestra mínimo aspirado	2 µL	2 µL	3 µL	2 µL	1 µL	6 µL	2 µL	2 µL
Volumen muerto de taza de muestra pediátrica	50 µL	50 µL	40 µL	20 µL	No disponible	30 µL	50 µL	50 µL
Perforación de la tapa de tubo primario	No	No	Yes	No	No	No	No	No
Volumen de reacción final mínimo	160 µL	80 µL	210 µL	350 µL	150 µL	No aplicable	200 µL	180 µL
Detección corta de muestra	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Detección de coágulo	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No
Mediciones de índice	Sí	Sí	Sí	No	Sí	No	No	Sí
Dilución automática de muestra del paciente y repetición de la prueba	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí
Inventario automático de prueba a bordo	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Solución de problemas remota mediante módem	No	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí	Sí

Información obtenida de Aller RD. Chemistry analyzers branching out. CAP Today 2002; julio: 84-106(34) y directamente de los vendedores.

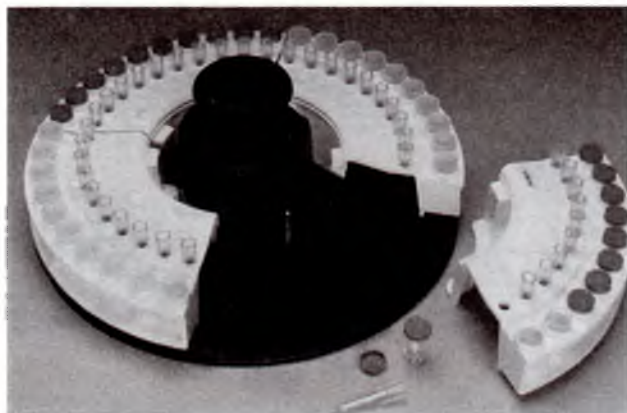


FIGURA 5-2. Vitros. Las cuatro bandejas de cuadrante, cada una con diez muestras, ajustan en un portador de bandeja. (Fotografía cortesía de Ortho-Clinical Diagnostics.)

Medición de la muestra y entrega

La mayor parte de los instrumentos emplean carruseles circulares o rejillas rectangulares como contenedores de muestras para sujetar tazas de muestra desechables o tubos de muestra primarios en la zona de carga o pipeteo del analizador. Estas tazas o tubos contienen estándares, controles y muestras del paciente que serán pipeteados hacia las cámaras de reacción de los analizadores. Las ranuras en las bandejas o rejillas por lo común están numeradas para ayudar en la identificación de la muestra. Las bandejas o rejillas se mueven de forma automática en etapas de una posición a velocidades preseleccionadas. La velocidad determina el número de muestras que se analizarán por hora. Como una conveniencia, el instrumento puede determinar el número de ranura que contiene la última muestra y terminar el análisis después de esa muestra. El microprocesador de la muestra retiene en la memoria el número de muestras y aspira sólo en las posiciones que contienen muestras.

En el analizador Vitros, las bandejas de tazas de muestra son cuadrantes que sostienen 10 muestras cada una en tazas con fondos cónicos. Los cuatro cuadrantes ajustan en

un portador de bandeja (fig. 5-2). Aunque el portador de bandeja acomoda sólo 40 muestras, se pueden programar más bandejas de muestras y después ser cargadas en lugar de bandejas completadas mientras las pruebas en otras bandejas están en progreso. Una punta de muestra desechable se carga a mano adyacente a cada taza de muestra en la bandeja. Los analizadores Roche/Hitachi pueden usar rejillas de cinco posiciones para sujetar las muestras (fig. 5-3). Un analizador modular puede acomodar hasta 60 de estas rejillas a la vez.

En los analizadores centrífugos, la carga de las muestras y reactivos se lleva a cabo pipeteando el líquido apropiado en un rotor con 20 o más posiciones. Cada posición contiene un compartimiento de muestra, un compartimiento de reactivo y una cubeta localizada en la periferia del rotor (fig. 5-4).

El Paramax permite muestrear de los tubos de recolección primarios, o para muestras limitadas, hay tubos de micromuestra. Los tubos se colocan en una bandeja circular que contiene 96 muestras a la vez. Las etiquetas de código de barras para cada muestra, que incluyen el nombre y número de identificación del paciente, se pueden imprimir a petición del operador (fig. 5-5). Esto permite que las muestras sean cargadas en cualquier orden. El carrusel de carga suministra los tubos a uno de transferencia, a partir del cual ocurre el muestreo, y luego las muestras son transferidas a un carrusel sin carga (fig. 5-6). Tanto el analizador Paramax como el Dimension hacen uso de una banda continua de cubetas desechables de plástico, flexibles, llevadas por el baño de agua del analizador en una pista de conducción principal. Las cubetas se cargan en el analizador desde un conjunto rotor continuo. Estas cubetas pasan por el instrumento a una tasa de una cada 5 seg, y se cortan en secciones o grupos según se requiere. En la figura 5-7 se muestra un esquema del sistema de producción

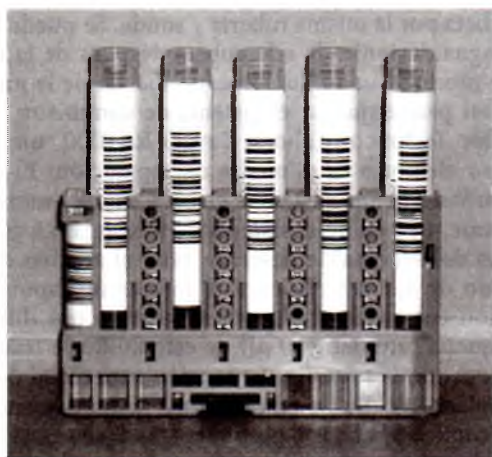


FIGURA 5-3. Rejilla de 5 lugares Roche/Hitachi.

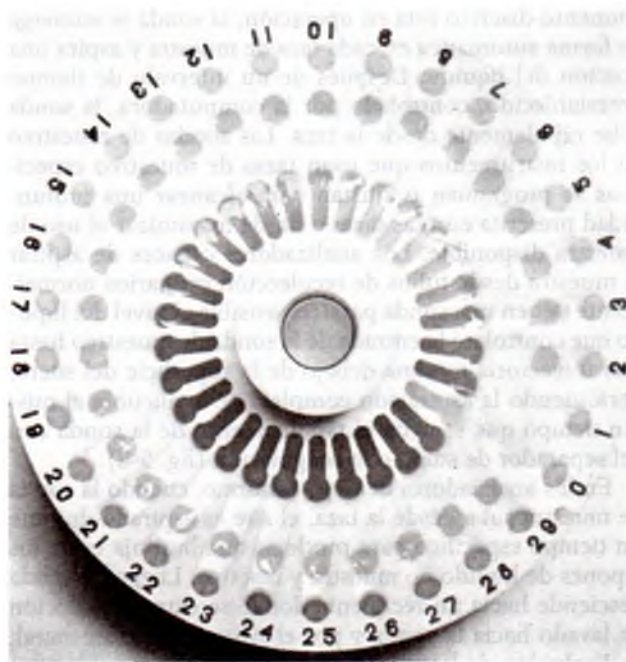


FIGURA 5-4. Rotor de analizador centrífugo.



FIGURA 5-5. Paramax. Los tubos de recolección de muestra se identifican con etiquetas de código de barras. (Fotografía cortesía de Dade International.)

y lectura de cubetas Dimension RxL. La exposición de la muestra al aire puede causar la evaporación de ésta y producir errores en el análisis. La evaporación de la muestra podría ser importante y originar que la concentración de los constituyentes que se analizan aumente 50% en cuatro horas.⁷ Con los instrumentos que miden electrólitos, el dióxido de carbono presente en la muestra se pierde hacia la atmósfera, lo que da como resultado valores bajos de dióxido de carbono. Los fabricantes han diseñado diversos mecanismos para reducir este efecto; por ejemplo, cubiertas para bandejas y tapas individuales que pueden ser perforadas, que incluye *muestreo en tubo cerrado* de tubos de recolección primarios.⁸

La medición real de cada alícuota para cada prueba debe ser muy exacta. Esto se hace en general a través de la aspiración de la muestra en una *sonda*. Cuando el instrumento discreto está en operación, la sonda se sumerge de forma automática en cada taza de muestra y aspira una porción del líquido. Después de un intervalo de tiempo preestablecido, controlado por la computadora, la sonda sube rápidamente desde la taza. Las sondas de muestreo en los instrumentos que usan tazas de muestreo específicas se programan o ajustan para alcanzar una profundidad prescrita en esas tazas a fin de maximizar el uso de muestra disponible. Los analizadores capaces de aspirar la muestra desde tubos de recolección primarios normalmente tienen una sonda paralela sensible al nivel del líquido que controlará la entrada de la sonda de muestreo hasta una trayectoria mínima debajo de la superficie del suero, permitiendo la aspiración completa de la alícuota al mismo tiempo que se evita el taponamiento de la sonda con gel separador de suero o la coagulación (fig. 5-8).

En los analizadores de flujo continuo, cuando la sonda de muestra sube desde la taza, el aire es aspirado durante un tiempo específico para producir una burbuja entre los tapones de líquido de muestra y reactivo. Luego, la sonda desciende hacia un recipiente donde se extrae disolución de lavado hacia la sonda y por el sistema. Por lo general, la disolución de lavado es agua desionizada, posiblemente con un tensoactivo añadido. Ya que todas las muestras



FIGURA 5-6. Paramax. El carrusel de carga distribuye tubos a uno de transferencia, del cual ocurre el muestreo, y después las muestras son transferidas a un carrusel de descarga. (Fotografía cortesía de Dade International.)

siguen la misma trayectoria, la necesidad de contar con una disolución de lavado entre éstas es evidente. La inmersión de la sonda en el depósito de lavado limpia el exterior, mientras que la aspiración de una alícuota de solución limpia la abertura. El depósito se reabastece de forma continua con un exceso de disolución nueva. La alícuota de lavado, más la burbuja de aire antes mencionada, mantiene la integridad de la muestra y minimiza el acarreo de ésta.

Ciertos dispositivos de pipeteo emplean una punta desechable y una jeringa con desplazamiento de aire para medir y entregar reactivo. Cuando se emplea esto, se puede reprogramar el dispositivo de pipeteo a fin de medir con facilidad muestra y reactivo para lotes de pruebas distintas desde un punto de vista comparativo. Además de eliminar el esfuerzo de cebar el sistema de entrega de reactivo con la nueva disolución, ningún reactivo se desperdicia o contamina debido a que nada a excepción de la punta de la pipeta entra en contacto con él.

La limpieza de la sonda y la tubería después de cada descarga para reducir el acarreo de una muestra a la siguiente es una preocupación con muchos instrumentos. En algunos sistemas, el reactivo o diluyente se dispersa también en la cubeta por la misma tubería y sonda. Se puede suministrar agua desionizada a la cubeta después de la muestra para producir una dilución especificada de la muestra y también para enjuagar el sistema de suministro. En el analizador Technicon (ahora, Bayer) RA1000, un fluido de acceso aleatorio es el medio de separación. El fluido fluorocarbono es una sustancia viscosa, inerte, inmisible, no mojante, que cubre el sistema de descarga. La capa en los lados del sistema de descarga evita el acarreo debido al mojado de las superficies y, al formar un tapón de la disolución entre muestras, evita el acarreo por difusión. Una pequeña cantidad (10 µl) de este fluido se transfiere a la cubeta con la muestra. La tensión superficial deja un recubrimiento del fluido en el sistema de transferencia.

Si se emplea una sonda o punta separada para cada muestra y se desecha después de usarla, como en el analizador Vitros, la cuestión del acarreo es debatible. Vitros tiene un

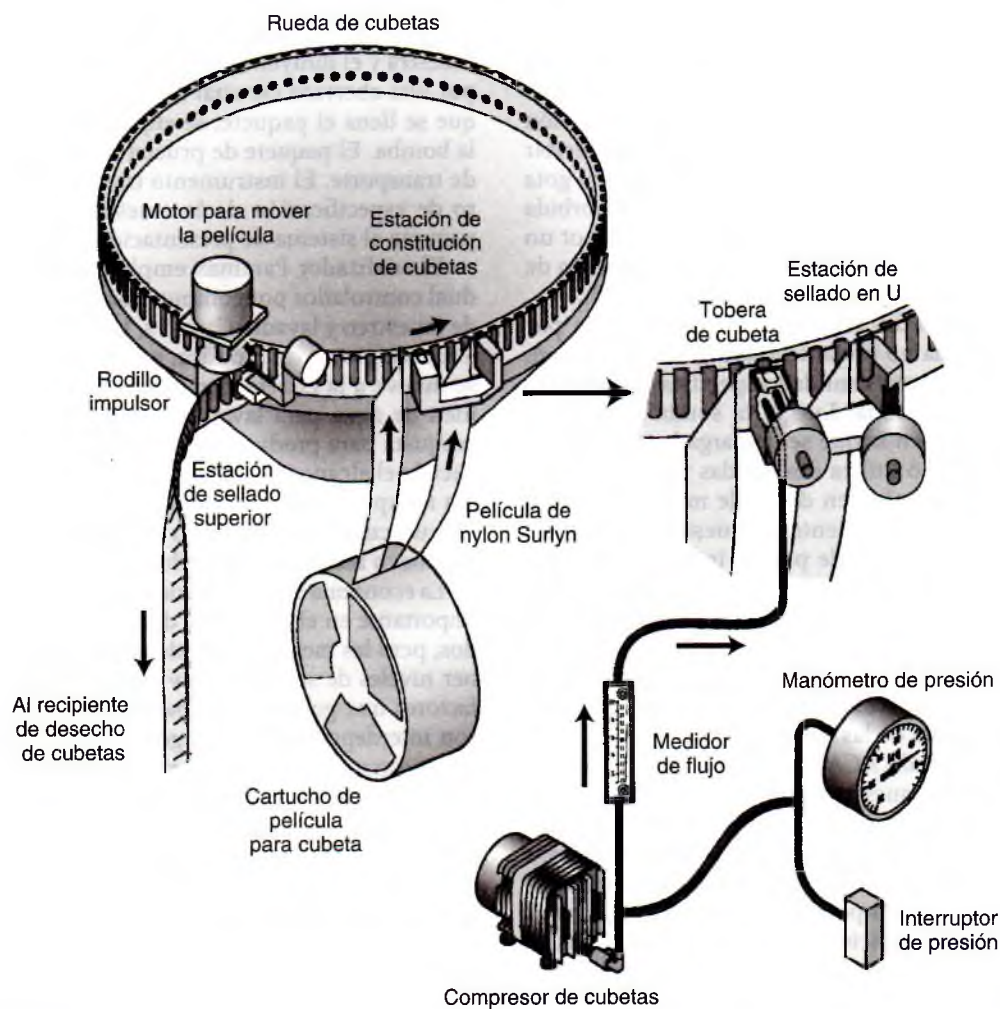
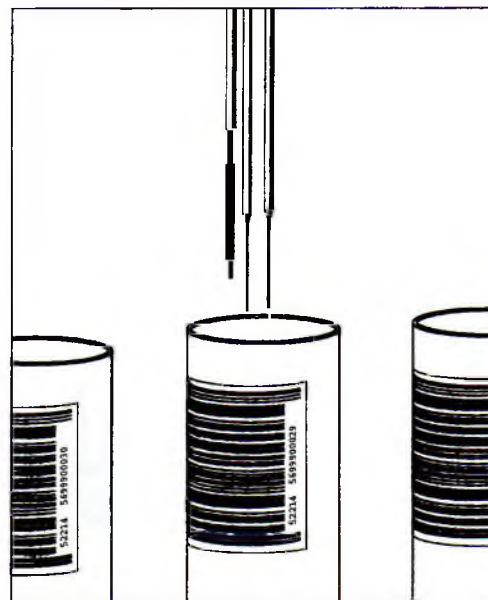


FIGURA 5-7. Sistema de producción del analizador para cubetas selladas. (Fotografía cortesía de Dade Behring.)

FIGURA 5-8. Sondas de muestra dobles del analizador Hitachi 736. Note el sensor de nivel de líquido a la izquierda de las sondas. (Fotografía cortesía de Boehringer Mannheim.)



sistema único de distribución de muestra. Una probóscide hace presión en punta en la bandeja de muestra, la levanta y se mueve sobre la muestra a fin de aspirar el volumen requerido para las pruebas programadas para esa muestra. La punta se mueve después sobre el bloque de medición de placa. Cuando una placa está en posición para recibir una alícuota, la probóscide se baja de modo que una gota de 10 μl transferida toque la placa, donde es absorbida desde la punta no mojantera. Un émbolo propulsado por un motor paso a paso controla la aspiración y la formación de gotas. La precisión de descarga se especifica en $\pm 5\%$.

En varios sistemas discretos, la sonda está unida por medio de una tubería no mojantera a jeringas de precisión. Las jeringas extraen una cantidad específica de muestra hacia la sonda y la tubería. Luego, la sonda se posiciona sobre una cubeta, en la que se descarga la muestra. El analizador Hitachi 736 utiliza dos sondas para aspirar de forma simultánea un volumen doble de muestra en cada sonda sumergida en un recipiente de muestra y, por tanto, entregarla en cuatro canales de prueba individuales, todo en un paso operacional (fig. 5-9). Las sondas cargadas pasan por un fino baño de niebla antes de la entrega para lavar cualquier residuo de muestra adherido a la superficie externa de las sondas. Después de la entrega, las sondas se mueven a una estación de enjuague para limpiar las superficies interna y externa de las sondas.

La estación de llenado ACA Star (Dade) coloca las cantidades apropiadas de muestra y diluyente en cada paquete de prueba analítica. Una taza de muestra llena en la bandeja de carga va seguida de los paquetes de prueba para las pruebas requeridas en la muestra. Cuando se activa el sistema, una lanzadera empuja a la izquierda la primera taza de muestra a la posición de muestreo. Mientras la muestra se mueve a la izquierda, un impulsor de paquete accionado por resorte empuja el primer paquete de prueba sobre el riel de la estación de llenado debajo de una placa decodificadora. El decodificador detecta el código binario en la parte superior del paquete de prueba. Este código, cuando se traduce, proporciona instrucciones al instrumento, incluso el volumen de muestra, tipo de diluyente y características de manejo especiales. Por la bomba se hace pasar el diluyente que se usará para el método particular con la finalidad de purgar las líneas y la aguja antes de la admisión de diluyente. La aguja se coloca sobre la taza de muestra, se introduce y se aspira el volumen

adecuado de muestra. La aguja sale de la taza y se mueve a la derecha a una posición sobre el paquete de prueba. La muestra y el diluyente se inyectan en el paquete de prueba por una abertura especial de llenado de paquete. Después que se llena el paquete, se enjuagan la aguja, la tubería y la bomba. El paquete de prueba se mueve sobre el sistema de transporte. El instrumento transfiere también el número de especificación de la muestra del paciente sobre el paquete al sistema de presentación de resultados.

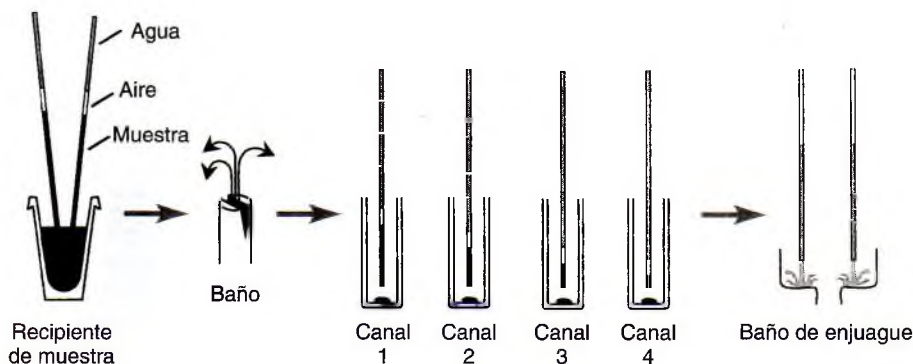
El analizador Paramax emplea motores de avance gradual controlados por computadora para mover las jeringas de muestreo y lavado. Cada 5 s, la sonda de muestreo entra a un recipiente de muestra, extrae el volumen requerido, se mueve a la cubeta y transfiere la alícuota con un volumen de agua para lavar la sonda. El volumen de lavado se ajusta para producir el volumen de reacción final. Si se excede el alcance de linealidad del procedimiento, el sistema recupera el tubo de muestra original, repite la prueba con un cuarto del volumen de muestra original y calcula un nuevo resultado tomando en cuenta la dilución.

La economía del tamaño de muestra es una consideración importante en el desarrollo de procedimientos automatizados, pero las metodologías tienen limitaciones para mantener niveles de sensibilidad y especificidad apropiados. Los factores que gobiernan la medición de muestra y reactivo son interdependientes. En general, si se reduce el tamaño de muestra, entonces se deben reducir el tamaño de la cubeta de reacción y el volumen de reacción final, o incrementar la concentración de reactivo para asegurar suficiente formación de color para lecturas fotométricas exactas.

Sistemas de reactivos y entrega

Los reactivos se pueden clasificar como sistemas líquidos o secos para uso con analizadores automatizados. Los reactivos líquidos se pueden comprar en recipientes de volumen a granel o en paquetes de dosis unitarias como una conveniencia para la prueba STAT en algunos analizadores. Los reactivos secos se empaquetan en varias formas. Pueden ser envasados como polvo liofilizado, que requiere reconstitución con agua o una disolución amortiguadora. A menos que el fabricante provea el diluyente, la calidad del agua disponible en el laboratorio es importante. Otros reactivos secos pueden estar en forma de tableta, como los que se emplean en los analizadores ACA Star y Paramax.

FIGURA 5-9. Operación de muestreo del analizador Hitachi 736. (Cortesía de Boehringer Mannheim.)



El analizador ACA Star tritura y disuelve las tabletas de reactivo en la bolsa de prueba plástica a bordo del instrumento. El analizador Paramax emplea una bocina ultrasónica para romper y disolver la tableta en una cubeta de plástico llena de agua. Un tercer y único tipo de reactivo seco es la *placa de química seca* multicapas para el analizador Vitros. Estas placas tienen capas microscópicamente delgadas de reactivos secos montadas en un soporte plástico. Estas placas son casi del tamaño de una estampilla postal y no muy gruesas.

El manejo del reactivo varía según las capacidades del instrumento y metodologías. Muchos procedimientos de prueba usan reactivos de trabajo sensibles de corta duración; así, los analizadores contemporáneos emplean diversas técnicas para conservarlos. Una técnica es mantener refrigerados los reactivos hasta el momento de usarlos y luego preincubarlos rápido a la temperatura de reacción o almacenarlos en un compartimiento refrigerado en el analizador que alimenta directamente al área de distribución. Otro medio de conservación es proveer los reactivos en forma de tableta seca y reconstituírlos cuando se va a ejecutar la prueba. Una tercera es elaborar el reactivo en dos componentes estables que se combinarán en el momento de la reacción. Si se emplea este método, el primer componente también podría ser empleado como un diluyente para la muestra. Los distintos fabricantes suelen usar combinaciones de estas técnicas de manejo de reactivos.

Los reactivos también deben ser transferidos y medidos con exactitud. Muchos instrumentos emplean reactivos a granel para disminuir la preparación y el cambio de reactivos. Los instrumentos que no usan reactivos a granel emplean un empaquetado de reactivos único. En los analizadores de flujo continuo, los reactivos y diluyentes se suministran desde contenedores a granel en los que la tubería está suspendida. El diámetro interno, o calibre, de la tubería gobierna la cantidad de líquido que será distribuido. Una bomba de dosificación, junto con un múltiple, introduce, proporciona y bombea de manera continua y precisa líquidos y burbujas de aire por el sistema de flujo continuo.

Para entregar los reactivos, muchos analizadores discretos emplean técnicas similares a las usadas para medir y entregar las muestras. Las jeringas, movidas mediante un motor de avance gradual, pipeteen los reactivos en recipientes de reacción. Las bombas propulsadas por pistón, conectadas mediante tubería, también pueden distribuir reactivos. Otra técnica para transferir reactivos a los recipientes de reacción emplea frascos de reactivos presurizados conectados mediante tubería a válvulas de distribución. La computadora controla la apertura y cierre de las válvulas. El volumen de llenado de reactivo en el recipiente de reacción se determina mediante la cantidad precisa de tiempo que la válvula permanece abierta.

Los analizadores Vitros emplean placas para contener su sistema completo de química de reactivos. Las capas múltiples en la placa van sobre un soporte de poliéster claro. La misma cubierta va entre soportes de plástico. Hay tres o más capas: a) una capa de dispersión, que acepta la muestra; b) una o más capas centrales, que pueden alterar la alícuota y c) una capa de indicador, donde se puede cuantificar el

analito de interés (fig. 5-10). El número de capas varía en función del ensayo por realizar. El color que se forma en la capa del indicador varía con la concentración del analito en la muestra. Las reacciones físicas o químicas pueden ocurrir en una capa, donde el producto de estas reacciones avanza a otra capa en la que pueden ocurrir reacciones posteriores. Cada capa puede ofrecer un ambiente único y la posibilidad de llevar a cabo una reacción comparable a la ofrecida en un ensayo químico o podría promover una actividad distinta por completo que no ocurre en la fase líquida. La capacidad para crear múltiples sitios de reacción permite la posibilidad de manejar y detectar compuestos en formas no posibles en procedimientos químicos en disolución. Los materiales interferentes pueden quedar rezagados o alterados en las capas superiores.

Los reactivos para los analizadores ACA están contenidos en paquetes de prueba especiales, que son sobres de plástico divididos. Un paquete separado se usa para cada prueba llevada a cabo en una muestra (fig. 5-11). Los compartimentos a lo largo de la parte superior del sobre contienen reactivos líquidos o en tableta. El nombre de clave y el código binario que ilustra la prueba están impresos en una barra de plástico en la parte superior de cada paquete de prueba. Todos los paquetes de prueba requieren almacenaje refrigerado.

Fase de reacción química

Esta fase consiste en mezclado, separación, incubación y tiempo de reacción. En la mayor parte de los analizadores discretos, los reactivos químicos se mantienen en

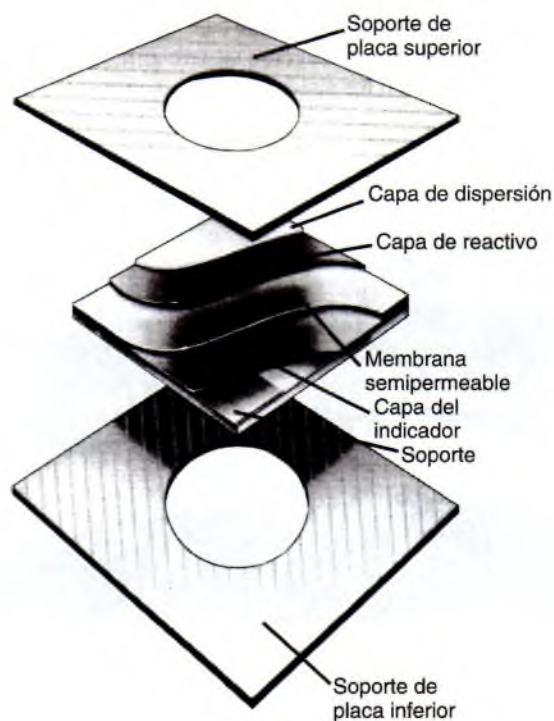


FIGURA 5-10. Placa Vitros con varias capas que contienen todo el sistema químico de reactivos. (Cortesía de Ortho-Clinical Diagnostics.)



FIGURA 5-11. ACA. Un paquete de prueba con código binario en una barra en la parte superior. (Fotografía cortesía de Dade Behring.)

recipientes móviles individuales que son desechables o reutilizables. Estos recipientes de reacción también funcionan como cubetas para análisis óptico. Si las cubetas son reutilizables, entonces se preparan las estaciones de lavado inmediatamente después de las estaciones de lectura para limpiar y secar estos recipientes (fig. 5-12). Esta configuración permite al analizador operar de manera continua sin reemplazar las cubetas. Ejemplos de este método son los analizadores Advia (Bayer Health), Aeroset (Abbott Laboratories), Hitachi (Roche Diagnostics), AU (Olympus) y Synchron (Beckman Coulter). Como alternativa, los reactivos se pueden colocar en una cámara de reacción estacionaria (como Astra), en la cual un proceso de flujo directo de la mezcla de reacción ocurre antes y después de la lectura óptica. En los sistemas de flujo continuo, se usan

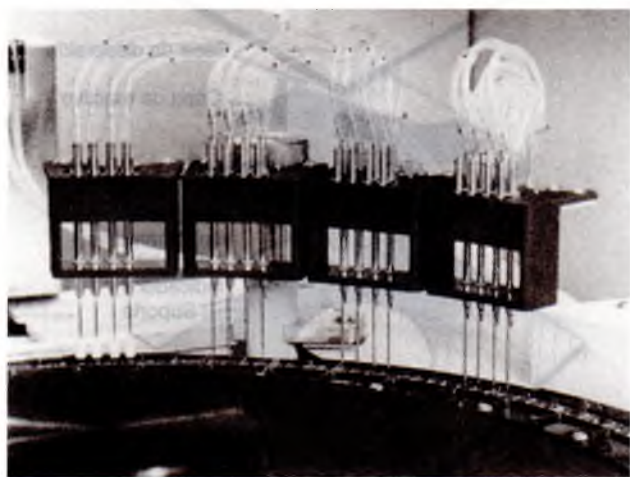


FIGURA 5-12. Las estaciones de lavado en el analizador Hitachi llevan a cabo lo siguiente: a) aspirar el desecho de la reacción y distribuir el agua; b) aspirar y distribuir el agua de enjuague; c) aspirar agua de enjuague y distribuirla para la medición del blanco de celda; d) aspirar el agua del blanco de celda a sequedad. (Fotografía cortesía de Boehringer Mannheim.)

cubetas de paso directo, y las lecturas ópticas se toman durante el flujo de fluidos reactivos. El analizador Chem 1 emplea este método con su tubo de teflón de trayectoria analítica única (fig. 5-13).

Mezclado

Un componente vital de cada procedimiento es el mezclado adecuado de los reactivos y la muestra. Los fabricantes de instrumentos contemplan grandes distancias para asegurar el mezclado completo. Las mezclas no uniformes pueden producir ruido en el análisis de flujo continuo y precisión deficiente en el análisis discreto.

El mezclado se lleva a cabo en analizadores de flujo continuo (como el Chem 1) mediante el uso de tubería en espiral. Cuando la corriente de reactivo y muestra pasan por las espiras, el líquido gira y cae en cada espira. La tasa diferencial de líquidos que caen entre sí produce el mezclado en la espiral.

El RA1000 emplea una acción rápida de inicio-paro de la bandeja de reacción. Esto causa una acción de balleo contra las paredes de las cubetas, que mezcla los componentes. Los analizadores centrifugos pueden usar una secuencia de rotación inicio-paro o burbujear aire por la muestra y el reactivo para mezclarlos mientras estas disoluciones se mueven del disco de transferencia al rotor. Este proceso de transferencia y mezclado ocurre en sólo unos segundos. El mezclado se debe a la fuerza centrífuga, y ésta empuja la muestra desde su compartimiento, sobre una partición en un compartimiento lleno de reactivo y, por último, hacia el espacio de la cubeta en el perímetro del rotor.

En la tecnología de placa Vitros, la capa de dispersión provee una estructura que permite una diseminación rápida y uniforme de la muestra sobre la capa o capas de reactivo para la formación uniforme de color.

Los analizadores ACA tienen componentes diseñados en especial para el mezclado: los mezcladores-rompedores. Las platinas presionan de manera selectiva y colapsan los compartimientos de reactivo a lo largo de la parte superior del paquete de prueba, y de esta manera se liberan los reactivos en el interior del paquete. Mientras tanto, una platina inferior presiona contra la porción del fondo de la envoltura del paquete de prueba para forzar los fluidos

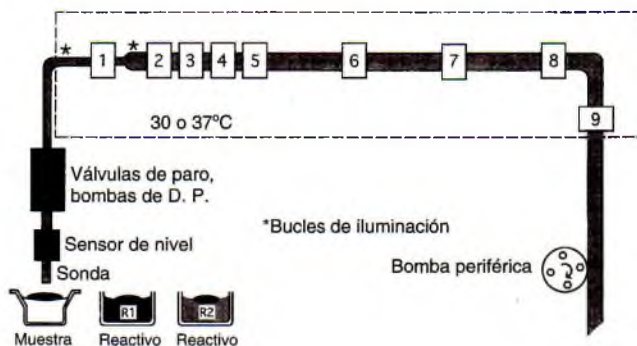


FIGURA 5-13. Esquema general del sistema Technicon. Trayectoria analítica Chem 1 de tubo de teflón único. (Cortesía de Bayer.)

hacia los compartimientos de reactivo rotos. Luego, con un movimiento de golpeteo ligero el mezclador-rompedor mezcla por completo los reactivos con los fluidos.

El analizador Paramax emplea ondas sonoras ultrasónicas durante 45 s para disolver las tabletas de reactivo en el agua desionizada en cada cubeta. El ultrasonido se emplea también para mezclar la muestra con los reactivos preparados antes y para mezclar, si es necesario, el contenido de las cubetas después de una segunda adición de reactivo.

Los analizadores Hitachi utilizan paletas de agitación que se sumergen en el recipiente de reacción durante unos segundos para agitar la muestra y los reactivos, después de lo cual vuelven al depósito de lavado (fig. 5-14). Otros instrumentos, como Astra, usan barras de agitación magnéticas que yacen en el fondo del recipiente de reacción que, cuando se activan, producen un movimiento de remolino para mezclar. Otros emplean una distribución forzada para llevar a cabo el mezclado.

Separación

En las reacciones químicas, los constituyentes indeseables que interfieren con el análisis pueden requerir ser separados de la muestra antes de que otros reactivos sean introducidos al sistema. Las proteínas causan mayor interferencia en muchos análisis. Un método sin separar la proteína es usar una relación reactivo a muestra muy alta (la muestra está muy diluida), de modo que el espectrofotómetro no detecta alguna turbidez a causa de la proteína precipitada. Otro método es acortar el tiempo de reacción para eliminar los interferentes que reaccionan más lento.

En los sistemas de flujo continuo antiguos, un dializador era el módulo de separación o filtración. Éste llevaba a cabo el equivalente de los procedimientos manuales de precipitación, centrifugación y filtración, por medio de una membrana de celofán de poro fino. En la tecnología de placa Vitros, la capa de dispersión de la placa capta células, cristales y otra materia particulada pequeña, pero también retiene moléculas grandes, como proteína. En esencia, lo que pasa por la capa de dispersión es un filtrado libre de proteína.

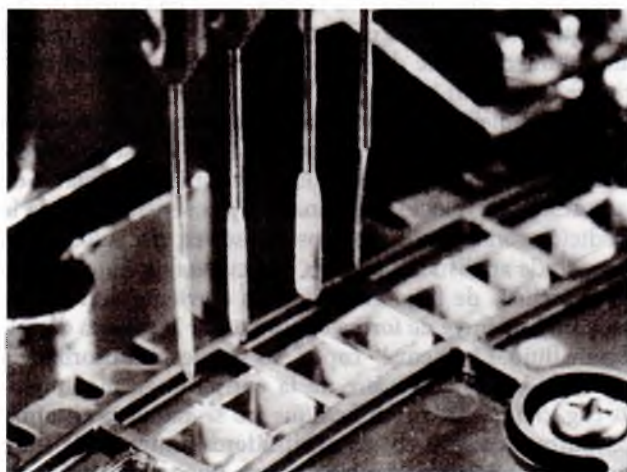


FIGURA 5-14. Paletas de agitación en el analizador Hitachi 736. (Fotografía cortesía de Boehringer Mannheim.)

Muchos analizadores discretos no cuentan con una metodología automatizada mediante la cual puedan separar sustancias interferentes de la mezcla de reacción. Por tanto, se han elegido métodos que tienen pocas interferencias o que tienen interferencias conocidas que se pueden compensar mediante el instrumento (p. ej., usar fórmulas de corrección).

El uso de cromatografía de columna automatizada en algunos métodos proporciona al ACA la capacidad de remover de la muestra sustancias que podrían afectar de manera adversa la reacción. Se pueden usar tres tipos de columnas: filtración en gel, intercambio de iones y eliminación de proteína. La columna se localiza en la parte superior del paquete de prueba, debajo del encabezado del paquete de plástico. Si el paquete contiene una columna cromatográfica, la muestra y la cantidad prescrita de diluyente se inyectan en el sitio de llenado de la columna opuesto al sitio usual de llenado de muestra y diluyente. La muestra se mueve por la columna mediante la presión del diluyente y hacia el paquete de prueba para análisis.

Incubación

Un baño de calentamiento en los sistemas discretos o de flujo continuo mantiene la temperatura requerida de la mezcla de reacción y provee el retraso necesario para completar el desarrollo de color. Los componentes principales del baño de calentamiento son el medio de transferencia de calor (es decir, agua o aire), el elemento de calentamiento y el termorregulador. Un termómetro se ubica en el compartimiento de calentamiento del analizador y es monitoreado mediante la computadora del sistema. En muchos sistemas analizadores discretos, las multicubetas se incuban en un baño de agua mantenido por lo general a una temperatura constante de 37°C.

La tecnología de placa incuba placas colorimétricas a 37°C. Hay una estación de acondicionamiento previo para llevar la temperatura de cada placa cerca de 37°C antes de que entre al incubador. El incubador mueve las placas a intervalos de 12 s, de tal manera que cada placa está en la salida del incubador cuatro veces durante el tiempo de incubación de 5 min. Esta característica se emplea para métodos de velocidad de dos puntos y permite que la primera lectura puntual sea tomada en parte a través del tiempo de incubación. Las placas potenciométricas se mantienen a 25°C. Las placas se mantienen a esta temperatura durante 3 min para asegurar estabilidad antes de la lectura.

Tiempo de reacción

Antes que el espectrofotómetro realice la lectura óptica, el tiempo de reacción puede depender de la velocidad de transporte por el sistema para la estación de "lectura", las adiciones de reactivo programadas con cámaras de reacción móviles o estacionarias, o una combinación de ambos procesos. Es necesario mantener un ambiente conducente para la terminación de la reacción el tiempo suficiente antes de realizar el análisis espectrofotométrico del producto. El tiempo es una limitación definitiva. Para mantener la ventaja de análisis múltiples rápidos, el instrumento debe producir resultados lo más pronto posible.

Es posible monitorear no sólo la terminación de una reacción, sino también la rapidez de la reacción. El instrumento podría retardar la medición durante un tiempo predeterminado o presentar las mezclas de reacción para medición a intervalos constantes de tiempo. El uso de reacciones de velocidad puede tener dos ventajas: se acorta el tiempo de análisis total y se pueden anular los cromógenos que reaccionan de manera lenta. La velocidad de reacción se controla mediante la temperatura; por tanto, el reactivo, el tiempo y las funciones espectrofotométricas se deben coordinar para que funcionen en armonía con la temperatura elegida.

El ACA tiene cinco estaciones de retardo localizadas en el área de procesamiento de paquetes. En estos puntos, el instrumento no lleva a cabo operaciones en los paquetes. Este intervalo permite un tiempo de reacción suficiente para alcanzar el punto final o que se completen las reacciones del blanco. Toda el área de procesamiento de paquetes se mantiene a 37°C en un ambiente cerrado con ventiladores circulantes.

El Paramax tiene ocho estaciones fotométricas localizadas a lo largo de la pista de cubetas. La adición de la muestra inicia cada reacción, que se monitorea de 40 s a 10 min mediante las estaciones fotométricas para reacciones de punto final o de velocidad. El ambiente de la cubeta se mantiene a temperatura constante mediante un baño de agua en el que se mueve la cubeta.

Fase de medición

Después que se completa la reacción, se deben cuantificar los productos formados. Casi todos los sistemas disponibles para medición han sido empleados, como fotometría ultravioleta, fluorescente y fotometría de flama; electrodos específicos de iones; contadores gamma, y luminómetros. No obstante, el más común es la espectrometría de luz visible y ultravioleta, aunque se han vuelto populares las adaptaciones de medición de fluorescencia tradicional, como la polarización de fluorescencia, quimioluminiscencia y bioluminiscencia. El analizador Abbot AxSYM por ejemplo, es un instrumento popular para análisis de fármacos que emplea polarización de fluorescencia para medir reacciones de inmunoensayo.

Los analizadores que miden luz requieren un monocromador para alcanzar la longitud de onda deseada del componente. Por tradición, en los analizadores se han empleado filtros o ruedas de filtros para separar la luz. En los autoanalizadores antiguos se usaban filtros que se colocaban de manera manual en la trayectoria de la luz. Muchos instrumentos aún utilizan ruedas con filtros giratorios que son controlados por microprocesadores de modo que el filtro adecuado se coloque en la trayectoria de la luz. Sin embargo los sistemas más nuevos y sofisticados ofrecen una mayor resolución derivada de rejillas de difracción para lograr la separación de la luz en los colores que la componen. Muchos instrumentos en la actualidad emplean tales monocromadores con rejillas rotatorias mecánicas o una rejilla fina que dispersa sus longitudes de onda componentes sobre un conjunto fijo de fotodiodos; por ejemplo, los analizadores Hitachi (fig. 5-15). Esta última configuración

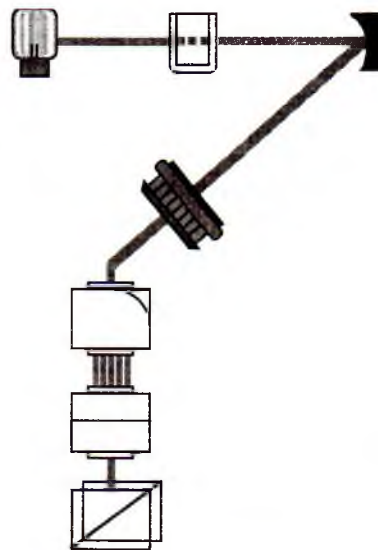


FIGURA 5-15. Fotómetro para el analizador Hitachi 736. La rejilla de difracción fija separa la luz en longitudes de onda específicas y las refleja en un sistema fijo de 11 fotodetectores específicos. El fotómetro no tiene partes móviles. (Cortesía de Boehringer Mannheim.)

de rejilla, así como las ruedas de filtros rotatorias, acomodan con facilidad análisis de luz policromática, que ofrecen sensibilidad y especificidad mejoradas sobre la medición monocromática. Al registrar las lecturas ópticas a diferentes longitudes de onda, la computadora del instrumento puede usar estos datos para corregir respecto a las interferencias de mezcla de reacción que pudieran ocurrir a longitudes de onda adyacentes, así como a la deseada.

Muchos instrumentos más recientes emplean fibra óptica como un medio para transportar señales de luz desde estaciones de lectura remotas de regreso a un detector monocromador central para análisis de estas señales. El Paramax tiene cables de fibra óptica, o “tuberías de luz” como suelen llamarse, conectados desde múltiples estaciones remotas donde residen las mezclas de reacción, hasta una unidad detectora centralizada con rueda de filtros que, junto con la computadora, secuencía y analiza un volumen grande de señales de luz de múltiples reacciones (fig. 5-16).

Los recipientes que contienen la mezcla de reacción también desempeñan un papel vital en la fase de medición. El volumen de reactivo y, por tanto, el tamaño de la muestra, la velocidad de análisis y la sensibilidad de la medición son algunos aspectos que se ven afectados por el método de análisis. Se emplea una cubeta de flujo directo en el análisis de flujo continuo. La corriente de reactivo bajo análisis fluye de forma continua por la tubería de celdas de flujo. El Chem 1 “capta” las señales de absorbancia entre las burbujas de aire de la corriente en movimiento (fig. 5-17). Esto significa que no se requiere eliminar las burbujas como en los analizadores antiguos de flujo continuo. A medida que la corriente fluye por la celda de flujo, se enfoca un haz de luz estable por la corriente. La cantidad de luz que sale de la celda de flujo la determina sobre todo la absorbancia de luz por parte de la corriente.

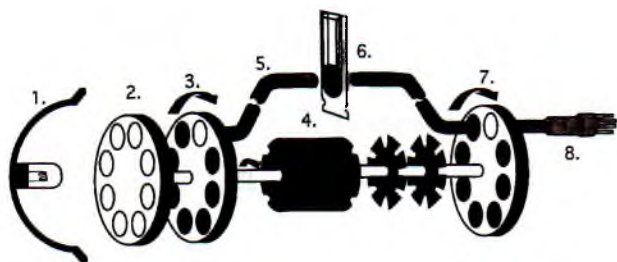


FIGURA 5-16. Sistema fotoóptico de instrumento Paramax: (1) Fuente con reflector, (2) lente de enfoque fijo, (3) rueda de filtros, (4) motor de flecha doble, (5) haz óptico de fibra, (6) cubeta, (7) rueda de filtros, (8) tubo fotomultiplicador. (Cortesía de Dade International.)

La luz que sale choca con un fotodetector, que convierte la luz en energía eléctrica. Los filtros y los componentes que enfocan la luz permiten que la longitud de onda deseada de la luz llegue al fotodetector. El fotómetro detecta en forma continua el voltaje de salida del fotodetector de muestra y, como es el proceso en la mayor parte de los analizadores, lo compara con un voltaje de salida de referencia. Los impulsos eléctricos son enviados a un dispositivo de lectura, como una impresora o una computadora, para almacenamiento y recuperación.

En los analizadores discretos, como los sistemas Hitachi, Synchron o ACA, la cubeta empleada para el análisis es también el recipiente de reacción en el que ha ocurrido todo el procedimiento.

El fotómetro ACA Star consta de un dispositivo que forma la cubeta y un sistema fotométrico para hacer las mediciones de absorbancia. Cuando se comprime mediante los dispositivos de sujeción del fotómetro, el paquete de prueba forma una cubeta entre las ventanas de cuarzo. Se introduce una disolución mojanete entre las ventanas de cuarzo y las paredes del paquete de prueba para lograr una buena interfase óptica.

La medición del análisis centrífugo ocurre mientras el rotor gira a una velocidad constante de casi 1 000 rpm. Las lecturas consecutivas se toman de la muestra, la corriente oscura (lecturas entre cubetas) y la cubeta de referencia.

Cada cubeta pasa por la fuente de luz cada pocos milisegundos. Después que se han determinado los puntos de datos, se detiene la centrifugación y se imprimen los resultados. Se retira el rotor del analizador y se desecha. Para análisis de punto final, se mide una absorbancia inicial antes de que los constituyentes hayan tenido tiempo de reaccionar, por lo general pocos segundos, y se considera una medición de blanco. Después que ha transcurrido tiempo suficiente para que se complete la reacción, se toma otra lectura de absorbancia. Para análisis de velocidad, se mide la absorbancia inicial y luego se permite un tiempo de retraso (prefijado en el instrumento para cada análisis). Para cada ensayo, se determinan varios puntos de datos a un intervalo de tiempo programado. El instrumento monitorea las mediciones de absorbancia en cada punto de los datos y calcula el resultado.

La tecnología de placa depende de la espectrofotometría de reflectancia, a diferencia de la fotometría de transmitancia tradicional, para proveer un resultado cuantitativo. La cantidad de cromógeno en la capa del indicador se lee después que pasa la luz por la capa de éste, se refleja desde el fondo de una capa que contiene pigmento (por lo general la capa de dispersión) y se regresa por la capa del indicador a un detector de luz. Para determinaciones colorimétricas, la fuente de luz es una lámpara de tungsteno-halógeno. El haz se centra sobre una rueda de filtros que sostiene hasta ocho filtros de interferencia separados por un espacio oscuro. El haz se dirige a un ángulo de 45° hacia la superficie del fondo de la placa, y el fotodiodo de silicio detecta la porción del haz que se refleja. Las lecturas se toman para que la computadora obtenga la densidad de reflectancia. Las tres señales registradas tomadas son a) la rueda de filtros que bloquea al haz, b) la reflectancia de una superficie blanca de referencia con el filtro programado en el haz y c) la reflectancia de la placa con el filtro seleccionado en el haz (fig. 5-18).

Después que se lee una placa, es lanzada hacia atrás en la dirección de la que provino, donde una puerta de trampa permite que baje hacia un cubo de basura. Si la lectura fue la primera para una prueba de velocidad de dos puntos, la puerta de la trampa permanece cerrada, y la placa vuelve a entrar al incubador.

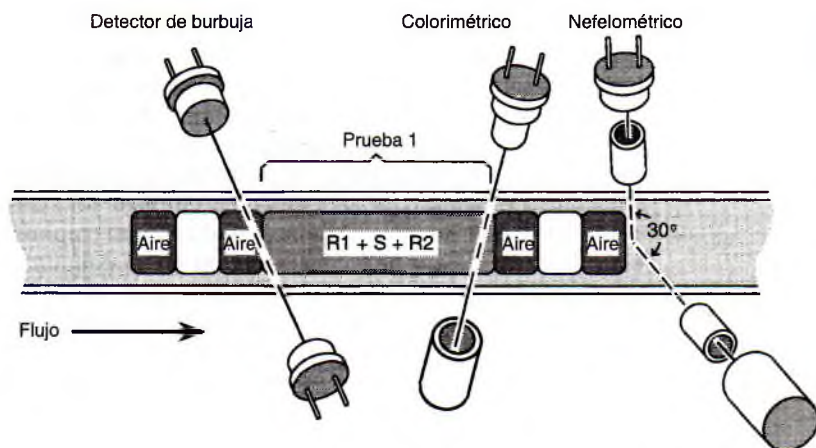


FIGURA 5-17. Detector de reacción en línea. Cubeta de paso directo para el analizador Chem 1. (Cortesía de Bayer.)

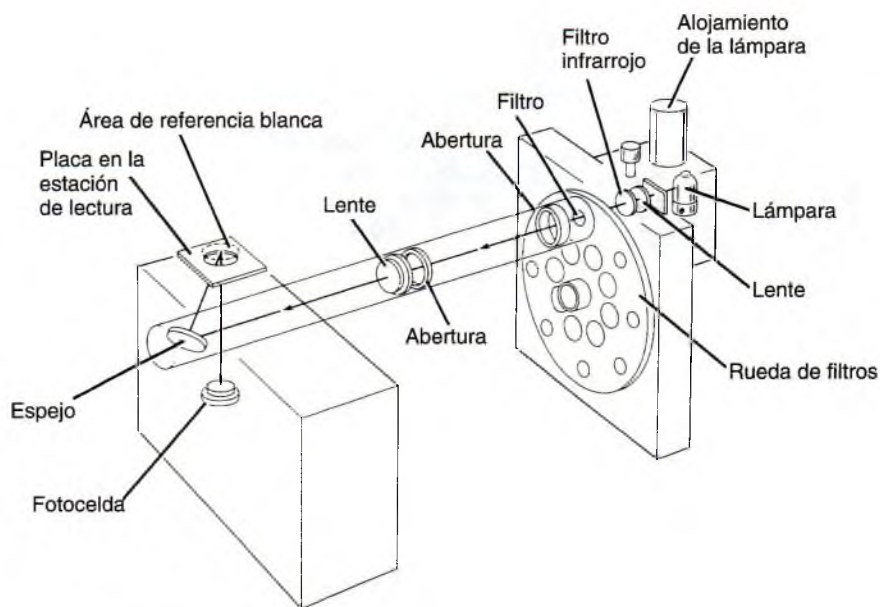


FIGURA 5-18. Componentes del sistema para hacer determinaciones colorimétricas con la tecnología de placa. (Cortesía de Ortho-Clinical Diagnostics.)

El Advia Centaur (Bayer), un sistema de inmunoensayo de acceso aleatorio, automatizado por completo (fig. 5-19), emplea tecnología de quimioluminiscencia para análisis de reacción. En los ensayos de quimioluminiscencia, la cuantificación de un analito se basa en la emisión de luz que resulta de una reacción química.⁹ Los principios de los ensayos de quimioluminiscencia son similares a los de radioinmunoensayo (RIA), excepto que se emplea un éster de acridinio como el trazador, y las partículas paramagnéticas como la fase sólida. La muestra, el trazador y el reactivo de partículas paramagnéticas se agregan e incuban en cubetas de plástico desechables, lo que depende del protocolo de ensayo. Después de la incubación, la separación magnética y el lavado de las partículas se llevan a cabo de manera automática. Las cubetas son transportadas hacia una cámara de luminómetro sellada a la luz, donde se añaden los reactivos para iniciar la reacción quimioluminiscente. En la inyección de los reactivos en la cubeta de muestra, el luminómetro del sistema detecta la señal quimioluminiscente. Los luminómetros son similares a los contadores gamma en que utilizan un detector de tubo

fotomultiplicador; sin embargo, a diferencia de los contadores gamma, los luminómetros no requieren un cristal para convertir los rayos gamma a fotones de luz. Los fotones de luz de la muestra se detectan de manera directa, son convertidos a impulsos eléctricos y, luego, se cuentan.

Procesamiento de la señal y manejo de datos

Debido a que la mayor parte de los instrumentos automatizados imprimen los resultados en forma de reporte, la calibración exacta es esencial para obtener información exacta. Hay muchas variables que pueden entrar en el uso de estándares de calibración. Las matrices de los estándares y sustancias desconocidas pueden ser diferentes. Dependiendo de la metodología, esto podría representar problemas o no. Si se emplean estándares secundarios para calibrar un instrumento, se deben conocer los métodos empleados para obtener los valores de los constituyentes del estándar. Los estándares que contienen más de un analito por vial pueden causar problemas de interferencia. Debido a que no hay estándares primarios disponibles para las enzimas, se pueden usar estándares secundarios o factores de calibración con base en los coeficientes de extinción molares de los productos de las reacciones.

Muchas veces, un laboratorio tendrá más de un instrumento capaz de medir el constituyente. A menos que haya alcances normales diferentes publicados para cada método, los instrumentos se deben calibrar de modo que los resultados sean comparables. La ventaja de calibrar un instrumento automatizado es la estabilidad a largo plazo de la curva estándar, que se requiere monitorear sólo con controles todos los días. Algunos analizadores emplean estándares de baja y alta concentración en el comienzo de cada ejecución, y luego usan las absorbancias de las reacciones de los estándares para producir de forma electrónica una curva estándar para cada ejecución. Otros instrumentos se calibran por sí mismos después de analizar las disoluciones estándar.



FIGURA 5-19. Sistema de quimioluminiscencia automatizado Advia Centaur. (Foto cortesía de Bayer Diagnostics.)

En los analizadores de flujo continuo originales se empleaban seis estándares analizados al principio de cada ejecución para producir una curva de calibración para un lote particular. Ahora, los analizadores de flujo continuo emplean un calibrador de nivel único para calibrar cada ejecución con el uso de agua para establecer la línea base.

El analizador centrífugo emplea estándares pipeteados en cubetas designadas en cada ejecución para análisis de punto final. Después que se ha obtenido la absorbancia delta de cada muestra, la computadora calcula los resultados mediante la determinación de una constante para cada estándar. Las constantes se obtienen al dividir la concentración del estándar (preintroducida en la computadora) entre la absorbancia delta y promediar las constantes para cada uno de los estándares para obtener un factor. La concentración de cada control e incógnita se determina multiplicando la absorbancia delta de la incógnita por el factor. Si la concentración de una incógnita excede el alcance de los estándares, el resultado se imprime con una *bandera*. La actividad de la enzima se obtiene mediante un ajuste de regresión lineal de la absorbancia delta en función del tiempo. La pendiente de la recta producida se multiplica por el factor de enzima (preintroducido) para calcular la actividad.

La tecnología de placa necesita cálculos más avanzados para producir resultados. Los materiales de calibración requieren una matriz de proteínas debido a la necesidad de que los calibradores se comporten como suero al reaccionar con las distintas capas de las placas. Los líquidos calibradores se basan en suero de bovino, y la concentración de cada analito se determina mediante métodos de referencia. Las pruebas de punto final precisan tres líquidos calibradores, las pruebas que requieren blanco necesitan cuatro líquidos calibradores y los métodos enzimáticos tres calibradores. Las pruebas colorimétricas emplean ajuste de ranura para producir la estandarización. En el análisis de enzimas, un algoritmo de ajuste de curvas estima el cambio en la densidad de reflexión por unidad de tiempo. Esto se convierte en absorbancia o cambio de densidad de transmisión por unidad de tiempo. Luego, una ecuación cuadrática convierte el cambio en la densidad de transmisión a actividad de volumen (U/L) para cada ensayo.

El ACA Star retiene las calibraciones para cada lote de un método particular hasta que el laboratorista programa el instrumento para recalibración. La calibración del instrumento se inicia o comprueba mediante el análisis de un mínimo de tres niveles de estándares primarios o, en el caso de enzimas, muestras de referencia. Los valores obtenidos se comparan con las concentraciones conocidas por medio de la regresión lineal, con el eje x que representa los valores esperados y el eje y la media de los valores obtenidos. La pendiente (factor de escala) y la ordenada al origen (compensación) son los parámetros ajustables en el ACA. En los primeros modelos de este instrumento, el operador determinaba e introducía los parámetros de manera manual a la computadora del instrumento; sin embargo, en los modelos posteriores más automatizados, el instrumento lleva a cabo la calibración en forma automática a solicitud del operador. Después que se lleva a cabo la calibración y están en progreso o se completan los aná-

lisis químicos o eléctricos de la muestra, la computadora del instrumento pasa al modo de adquisición de datos y cálculo. Quizá se requiera promediar la señal proceso, lo que implicaría cientos de impulsos de datos por segundo, como con el analizador centrífugo, y fórmulas de supresión y corrección para interferentes que son programadas en la computadora para el cálculo de resultados.

Los instrumentos automatizados avanzados tienen algún método para reportar los resultados impresos con un vínculo para identificación de la muestra. En los sistemas complejos, la información demográfica de la muestra se introduce en la computadora del instrumento junto con las pruebas requeridas. Después, se imprime la identificación de la muestra con los resultados de prueba. El Paramax imprime etiquetas de código de barras para la identificación de la muestra después que el operador introduce la información del paciente y las pruebas requeridas en la terminal de la computadora. Cuando se aplica la etiqueta a la muestra, ésta se puede cargar en el analizador. Los microprocesadores controlan las pruebas, reactivos y el tiempo, mientras se comprueba el código de barras para cada muestra. Éste es el vínculo entre los resultados reportados y la identificación de la muestra. Incluso el más simple de los sistemas numera de forma secuencial los resultados de prueba para proveer una conexión con las muestras.

Debido a que en la actualidad la mayor parte de los instrumentos tiene integrado o adjunto un monitor de video, los programas de software avanzados que vienen con el instrumento se pueden mostrar para determinar el estado de los diferentes aspectos de los procesos de análisis. El monitoreo computadorizado está disponible para parámetros como la linealidad de la reacción y el instrumento, datos de control de calidad con varias opciones para presentación estadística e interpretación, detección corta de muestra con banderas en la impresión, resultados anormales del paciente indicados con banderas, detección de coágulos, temperatura del recipiente de reacción o cámara de prueba e inventarios de reactivo. La impresora también puede mostrar los resultados del paciente, así como varias advertencias mencionadas antes. La mayor parte de los fabricantes de instrumentos ofrecen software de computadora para programas y algoritmos de mantenimiento preventivo para solución de problemas de diagnóstico. Algunos fabricantes instalan módems de teléfono en el analizador para tener un enlace de comunicación directa entre el instrumento y el centro de servicio para solución de problemas instantánea y diagnóstico de problemas.

SELECCIÓN DE ANALIZADORES AUTOMATIZADOS

Cada enfoque del fabricante para la automatización es único. Los instrumentos que son evaluados se deben calificar de acuerdo con las necesidades identificadas antes. Un laboratorio podría requerir el analizador *STAT*, mientras que otro tal vez necesite un analizador por lotes para volúmenes de alta concentración. Al considerar el costo hay que considerar el precio del instrumento y, lo más importante, el costo total de consumibles. El alto costo de capital de un

instrumento puede ser pequeño en realidad cuando se divide entre un gran número de muestras que serán procesadas. También es importante calcular el costo total por prueba para cada instrumento que se considera. Además, un análisis de punto de equilibrio para estudiar la relación de costos fijos, costos variables y ganancias puede ser útil al analizar la justificación financiera y el impacto económico en un laboratorio. Por supuesto, el modo de adquisición, es decir, compra, arrendamiento, etcétera, se debe tener en cuenta en el análisis. El costo variable de consumibles se incrementa a medida que se llevan a cabo más pruebas o se analizan más muestras. La capacidad para usar reactivos producidos por más de un proveedor (sistemas de reactivo abiertos contra cerrados) puede dar a un laboratorio la posibilidad de personalizar la prueba y, tal vez, ahorrar dinero. El componente de trabajo se debe evaluar también. Los instrumentos más antiguos pueden tener asignadas las unidades de registro de carga de trabajo del CAP; esto provee una base excelente para comparación, por medio de estudios de movimiento en el tiempo. Desafortunadamente, los instrumentos más recientes en el mercado quizá no hayan sido regulados para trabajo y, por tanto, este juicio podría ser más subjetivo de lo deseado. Con el gran número de instrumentos disponibles en el mercado, el objetivo es encontrar el instrumento correcto para cada situación.¹⁰

Otra consideración importante en relación con la selección de un instrumento son sus capacidades analíticas. ¿Cuáles son las características de desempeño del instrumento para exactitud, precisión, linealidad, especificidad y sensibilidad (que pueden ser dependientes del método), estabilidad de la calibración y estabilidad de los reactivos (vida de anaquel y de abordo o reconstituidos)? La mejor forma de comprobar estas características de desempeño de un analizador antes de tomar una decisión acerca del instrumento es tenerlo en operación. De manera ideal, si un fabricante pone a prueba un instrumento en el laboratorio del posible comprador, entonces se puede evaluar su desempeño analítico para la satisfacción del cliente con estudios para comprobar la exactitud, precisión y linealidad. Al mismo tiempo, el personal del laboratorio puede observar las características de diseño como menús de prueba, capacidad real de independencia, facilidad de uso, y el espacio que el instrumento y sus consumibles ocupan en el laboratorio.

La instrumentación de química clínica provee velocidad y precisión para los ensayos que de otro modo se llevarían a cabo de forma manual. Las metodologías elegidas y la adhesión a los requisitos del ensayo proveen exactitud. Nadie puede asumir que el resultado producido es el valor correcto. Los métodos automatizados se deben evaluar por completo antes de ser aceptados como rutina. Es importante entender cómo funciona en realidad cada instrumento.

AUTOMATIZACIÓN TOTAL DEL LABORATORIO¹¹

Las presiones de la reforma de atención de la salud y la atención administrada han causado interés creciente en mejorar la productividad de las fases preanalítica y posanalítica del análisis de laboratorio. En cuanto al proceso analítico en sí, los analizadores de rutina en química clínica tienen en la actualidad casi toda la mecanización

que necesitan. La siguiente generación de automatización reproducirá la práctica japonesa de laboratorios de “caja negra”, en los que la muestra entra en un extremo y por el otro sale el resultado impreso.¹² Se ha dedicado mucho esfuerzo durante la década pasada en el desarrollo de alimentación “frontal” automatizada de la muestra en la “caja” analítica, y el manejo automatizado y computadorizado de los datos que salen de la caja. Ha habido muchos avances en las tres fases del proceso de prueba de laboratorio; es decir, preanalítica (procesamiento de la muestra), analítica (análisis químico) y posanalítica (manejo de datos) a medida que se fusionan en el sistema integrado de *automatización total del laboratorio* (ATL). Los vendedores de equipo de automatización están desarrollando componentes de arquitectura abierta que proveen más flexibilidad en la ejecución de la automatización.¹³

Fase preanalítica (procesamiento de la muestra)

El protocolo de manejo de la muestra disponible en la actualidad en los principales analizadores de química es usar el tubo de recolección de muestra original (muestreo de tubo primario) de cualquier tamaño (después de la separación del plasma o el suero) como la taza de muestra en el analizador y lectores de código de barras, también en el analizador, para identificar la muestra. Un proceso automatizado está reemplazando poco a poco el manejo manual y la presentación de la muestra al analizador. Incrementar la eficiencia mientras se reducen los costos ha sido un impulso importante para que los laboratorios comiencen a integrar algún aspecto de la automatización total del laboratorio en sus operaciones. Desde un punto de vista conceptual, la ATL se refiere a dispositivos automatizados y robots integrados con los analizadores existentes para llevar a cabo todas las fases del análisis de laboratorio. A la fecha se ha prestado más atención al desarrollo de los sistemas frontales que pueden identificar y marcar las muestras, centrifugarlas y preparar alícuotas, y clasificar y entregar muestras al analizador o para almacenaje.¹⁴ Los sistemas de extremo posterior pueden incluir la eliminación de muestras del analizador y transporte para almacenaje, recuperación desde el almacenaje para repetir el análisis, tomar nuevas alícuotas o eliminación, así como el manejo completo de los datos del analizador y la interacción con el sistema de información del laboratorio (SIL).

El Dr. Sasaki y colaboradores instalaron el primer laboratorio clínico por completo automatizado en el mundo en la escuela médica de Koshi en Japón¹⁵; desde entonces, el concepto se ha vuelto de manera gradual y constante una realidad en Estados Unidos. La Universidad de Nebraska y la de Virginia han sido pioneras para el desarrollo del sistema ATL. En 1992, se desarrolló en la Universidad de Nebraska un prototipo de plataforma de automatización del laboratorio, donde los componentes clave son un sistema de transporte, muestras con código de barras y un paquete de software de computadora para controlar el movimiento de la muestra y el seguimiento, y la coordinación de robots con los instrumentos como celdas de trabajo.¹⁶ Algunos de los primeros laboratorios automa-

tizados en Estados Unidos han informado sus experiencias con la automatización frontal con una gran cantidad de información para los interesados en la tecnología.^{17,18} El primer hospital de laboratorio en instalar un sistema automatizado fue el hospital de la Universidad de Virginia en Charlottesville en 1995. Su Centro de Investigación de Automatización Médica cooperó con Johnson & Johnson y Coulter Corporation para usar un Vitros 950 conectado a un carril "U" Coulter/IDS para muestreo directo de un transportador de muestra sin usar robótica intermedia.¹⁹ El primer sistema llave en mano disponible a nivel comercial fue el *Clinical Laboratory Automation System* (CLAS) (Boehringer-Mannheim Diagnostics; ahora, Roche Diagnostics). Éste acopla la línea de analizadores Hitachi con un sistema de banda transportadora para proveer un sistema completamente operacional con las interfaces.²⁰

La robótica y la automatización frontal están cambiando la fisonomía del laboratorio clínico.²¹ Gran parte del beneficio derivable de la ATL se puede comprender sólo mediante la automatización frontal. La planificación, ejecución y evaluación del desempeño de un sistema de transporte y clasificación automatizado en un laboratorio de referencia grande han sido descritas en detalle.^{22,23} Varios fabricantes de instrumentos trabajan en la actualidad en dispositivos frontales de interfaz, o ya los comercializan, junto con software para sus propios analizadores de química. Johnson & Johnson introdujo el sistema Vitros 950 AT (Automation Technology) en 1995 con un diseño de arquitectura abierta para permitir a los laboratorios seleccionar de muchos sistemas de automatización frontales en vez de estar encerrados en una interfaz de propietario. Ahora está disponible una interfaz Lab-Track en el Dimension RxL de Dade Behring Chemistry Systems que es compatible con los principales vendedores de automatización y permite el muestreo directo desde un sistema de pistas. También, en la actualidad existe tecnología para que los separadores microcentrifugos sean integrados en los analizadores de química clínica.²⁴ Otros cuantos sistemas están ahora en el mercado, incluso el sistema Advia LabCell, que emplea un enfoque modular para la automatización. El Power Processor Core System (Beckman Coulter) lleva a cabo clasificación, centrifugación y eliminación de tapas. El enGen Series Automation System (Ortho-Clinical Diagnostics) provee clasificación, centrifugación, eliminación de tapas y funciones de almacenamiento de la muestra e interfaz de forma directa con un analizador Vitros 950 AT. Están disponibles tres sistemas de automatización de Olympus que pueden efectuar clasificación, centrifugación, eliminación de tapas, toma de alícuotas y capacidades de interfaz directa con el instrumento. El Genesis FE500 (Tecan) es un ejemplo de un sistema frontal independiente que clasifica, centrifuga, retira tapas y toma alícuotas. Algunos laboratorios han adoptado un enfoque modular de extremo en fase con dispositivos para sólo ciertas funciones automatizadas. Ciba-Corning Clinical Laboratories instaló sistemas autómatas en varios laboratorios regionales.¹⁹ Lo primordial es que la robótica y la automatización frontal están aquí para permanecer. Conforme más y más laboratorios clínicos cambian hacia la automatización total del labo-

ratorio, ellos están construyendo laboratorios núcleo que contienen todos sus analizadores automatizados como la primera etapa necesaria para enlazar con más facilidad los distintos instrumentos en un sistema ATL.²⁵

Fase analítica (análisis químicos)

Ha habido cambios y mejoras que ahora son comunes para muchos analizadores de química en general. Entre otros están el micromuestreo siempre más pequeño y la entrega de reactivo con múltiples adiciones posibles desde reactivos restituidos al azar; menús de prueba totales y expandidos a bordo, en particular fármacos y hormonas; tiempos de reacción acelerados con características químicas para rendimiento más rápido y menor tiempo de permanencia; mayor óptica de resolución con monocromadores de rejilla y conjuntos de diodos para análisis policromático; electrodos de flujo directo mejorados; software interactivo mejorado de fácil manejo para control de calidad, mantenimiento y diagnóstico; módems integrados para solución de problemas en línea; sistemas de manejo de datos con interfaz para el SIL; frecuencias reducidas de calibración y controles; modos automatizados para calibración, dilución, repetición de la ejecución y mantenimiento; así como mejoras de diseño ergonómicas y físicas para facilidad del operador, funcionalidad y reducción de mantenimiento. De acuerdo con los datos de estudio recientes del CAP, los ocho analizadores de química más populares son Aeroset (Abbott Diagnostics); Advia (Bayer Health); sistemas AU (Olympus); Dimension (Dade Behring); sistemas Hitachi (Roche Diagnostics); sistemas Integra (Roche Diagnostics); sistemas Synchron (Beckman Instruments), y Vitros (Ortho-Clinical Diagnostics).²⁶ Las características y especificaciones de estos ocho sistemas se resumen en el cuadro 5-1. Una ventaja principal de los analizadores de química modulares es la escalabilidad. Conforme aumenta la carga de trabajo, se pueden agregar más módulos para incrementar el rendimiento. Un esquema del sistema MODULAR ANALYTICS (Roche) se muestra en la figura 5-20. Este sistema puede acomodar desde uno hasta cuatro módulos D, P o E. Esto provee flexibilidad para adaptar a cargas de trabajo cambiantes. Es posible combinar las pruebas de inmunoensayo y química, sin considerar la necesidad de dividir las muestras. Las pruebas repetidas se pueden llevar a cabo de forma automática con la disolución amortiguadora de reejecución, que soporta todas las muestras hasta completar todo el análisis.

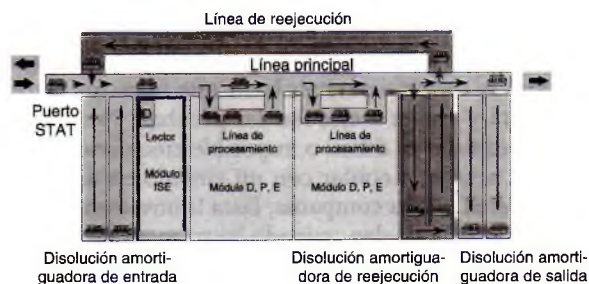


FIGURA 5-20. Esquema del sistema Roche MODULAR ANALYTICS. (Foto cortesía de Roche Diagnostics.)

Fase posanalítica (manejo de datos)

Aunque la mayor parte de la atención en años recientes en el concepto de automatización del laboratorio se ha dedicado a sistemas frontales para el manejo de muestras, varios fabricantes han estado desarrollando y mejorando el manejo de datos de extremo posterior. La comunicación bidireccional entre el (los) analizador(es) y la computadora central o SIL se ha vuelto un enlace absolutamente esencial para solicitar pruebas e introducir datos demográficos del paciente, transferir de forma automática esta información personalizada al analizador, así como enviar los resultados al registro del paciente. La evaluación y manejo de datos desde el momento del análisis hasta el envío se ha vuelto una tarea más compleja y automatizada con la integración de administradores de estaciones de trabajo en todo el sistema de comunicación.²⁷ La mayor parte de los dispositivos de manejo de datos son módulos de computadoras personales con software patentado de los fabricantes que interactúa con uno o más de sus analizadores y el SIL anfitrión. Ellos ofrecen manejo automatizado de datos de control de calidad con almacenaje y evaluación de resultados contra los perímetros de control de calidad del laboratorio predefinidos del laboratorio con capacidades de graficación, representación visual e información de resultados. La revisión y edición de resultados del paciente antes de la comprobación y transmisión a la computadora central se incrementa mediante los perímetros definidos por el usuario para límites de alcance declarables, límites de valores de pánico, comprobaciones delta y comparaciones de control de calidad para cambio clínico, pruebas repetidas y análisis de algoritmo. El inventario de reactivos y el control de calidad, junto con el monitoreo de las funciones del instrumento, son controlados mediante el software de la estación de trabajo. La mayor parte de vendedores de SIL tienen software de interconexión disponible para los principales analizadores químicos.

Algunas necesidades de manejo de datos relacionadas con la automatización no se pueden manejar de manera adecuada mediante la mayor parte de los SIL actuales. Por ejemplo, la mayor parte de los analizadores actuales son capaces de evaluar el grado de hemólisis de la muestra, ictericia y lipidemia (cuadro 5-1). Sin embargo, hacer que esta información esté disponible y sea útil para el médico clínico o el laboratorista de un modo automatizado requiere manejo adicional de los datos. De modo ideal, se requieren determinar las pruebas solicitadas para la muestra, el umbral para interferencia de cada muestra por cada uno de los tres agentes, y si la interferencia es positiva o negativa. En el caso de la lipidemia, los resultados para pruebas afectadas se deben mantener hasta que se pueda clarificar la muestra y volver a ejecutar las pruebas. Para los sistemas SIL actuales es difícil o imposible efectuar esta última tarea. Es necesario contar con un vínculo entre el instrumento y el SIL. Una compañía, Data Innovations, ha desarrollado un sistema denominado Instrument Manager, que enlaza al analizador con el SIL y provee la capacidad para que el usuario defina reglas para la liberación de información al SIL. Además, se pueden mostrar banderas al operador del instrumento para la ejecución de operaciones

adicionales, como clarificación de la muestra y repetición del análisis. La capacidad para automatizar por completo la revisión de datos por medio del análisis basado en reglas es un factor clave para pasar hacia la ATL.

TENDENCIAS FUTURAS EN LA AUTOMATIZACIÓN

La automatización de la química clínica continuará evolucionando a un paso rápido de 2004 a 2010 como en la década de 1990. Con la mayor parte de las mismas fuerzas que impulsan el mercado de automatización en 2005, como las analizadas en este capítulo, los analizadores continuarán desempeñándose de manera más eficaz en cuanto a costos y con eficiencia. Más integración y miniaturización de componentes y sistemas persistirá para acomodar analizadores portátiles más avanzados para el exitoso mercado de pruebas en el lugar de la atención. La comunicación efectiva entre los participantes de la automatización para un determinado proyecto es clave para la ejecución exitosa.²⁸

Se desarrollarán más pruebas nuevas para menús expandidos, con una combinación de técnicas de medición empleadas en los analizadores para incluir más inmunoensayos y ensayos basados en RCP. El mapeo espectral, o el monitoreo de longitud de onda múltiple, con los fotómetros de alta resolución en los analizadores será rutina para las muestras y pruebas conforme se diseñan más instrumentos con el dispositivo monocromador en la trayectoria de la luz después de la cubeta, no antes. Las capacidades de mapeo espectral permitirán el análisis simultáneo de diversos analitos en el mismo recipiente de reacción. Esto tendrá un impacto tremendo en el rendimiento y tiempo de respuesta de los resultados de prueba. La espectrometría de masas y la electroforesis capilar se usarán de manera más extensa en los laboratorios clínicos para identificación y cuantificación de elementos y compuestos en concentraciones en extremo pequeñas. En los años venideros ocurrirá más integración de sistemas y flujo de trabajo con la robótica y el manejo de datos incluso automatización total del laboratorio.²⁹ Para llevar a cabo esto, más compañías formarán alianzas para colocar sus productos de instrumentación en los laboratorios. La incorporación de inteligencia artificial en los sistemas analíticos evolucionará, con sistemas expertos y redes neurales.^{30,31} Esto hará que avancen en gran medida las tecnologías de la robótica, el procesamiento digital de datos, el diagnóstico asistido por computadora y la integración de datos con registros electrónicos.

Por último, los avances tecnológicos en chips y biosensores acelerarán el desarrollo del análisis *in vivo* no invasivo.³²⁻³⁴ El monitoreo transcutáneo ya está disponible con algunos gases sanguíneos. Los valores “verdaderos” o dinámicos del monitoreo *in vivo* de constituyentes en la sangre u otros líquidos corporales revolucionarán la medicina de laboratorio como la conocemos hoy. Esto suena futurista, pero así pasó con el primer autoanalizador hace 50 años.

RESUMEN

Desde la introducción del primer analizador por Technicon, los instrumentos automatizados han proliferado en el laboratorio de química clínica. Entre las fuerzas impul-

soras detrás del desarrollo y mejoramiento de los analizadores están el volumen incrementado de prueba, tiempo de respuesta más rápido y costos disparados. Los analizadores automatizados pueden usar uno de los tres métodos básicos para análisis de muestras: flujo continuo, análisis centrífugo y análisis discreto, pero la mayor parte en la actualidad usan análisis discreto. Los fabricantes han diseñado sus instrumentos para imitar los pasos en un procedimiento manual para incluir la preparación e identificación de muestras, medición de la muestra y entrega, sistemas de reactivos y prueba, fase de reacción química, fase de medición y procesamiento de señales y manejo de datos. Cada enfoque del fabricante para la automatización es único.

Al seleccionar un analizador automatizado para el laboratorio de química clínica es necesario considerar varios

factores: necesidades del laboratorio, consumibles, capacidades analíticas, espacio y facilidad de uso. La automatización química clínica continuará evolucionando. La ATL provee en la actualidad la integración de las tres fases del análisis de laboratorio, y enlaza el procesamiento de muestra frontal y el manejo de datos de extremo posterior con la fase analítica. Las tendencias futuras incluirán sin duda más capacidad de computadora, más probabilidad, uso incrementado de robótica, mapeo espectral, mejoramiento continuo en el software de computadora, y el desarrollo de sistemas computarizados con inteligencia artificial. Nuevas tecnologías, como las reacciones en cadena de la polimerasa y el análisis *in vivo* no invasivo, tendrán también un gran impacto.

PREGUNTAS DE REPASO

- De lo siguiente, ¿cuál no es una fuerza impulsora para más automatización?
 - Prueba de alta concentración.
 - Tiempo de respuesta rápido.
 - Esperanza de resultados más exactos de alta calidad.
 - Mayor uso de paneles de química.
- ¿Cuál de los siguientes enfoques para la automatización del analizador puede usar paletas de mezclado para agitar?
 - Análisis para centrifugar.
 - Flujo continuo.
 - Análisis discreto.
 - Análisis de placa química seca.
- ¿Cuál de los siguientes tipos de analizadores ofrecen capacidad de acceso aleatorio?
 - Analizadores de flujo continuo.
 - Analizadores centrífugos.
 - Analizadores discretos.
 - Ninguno de los anteriores.
- Las siguientes son consideraciones primarias en la selección de un analizador de química automatizado EXCEPTO:
 - El costo de consumibles.
 - El costo total del instrumento.
 - El componente de trabajo.
 - Cómo se agregan o mezclan los reactivos.
- Un ejemplo de un analizador de inmunoensayo automatizado sería:
 - Advia Centaur.
 - Paramax.
 - Synchron.
 - Vitros.
- El tiempo de permanencia se refiere a:
 - Número de pruebas que un instrumento puede manejar en un tiempo especificado.
 - La capacidad del instrumento para efectuar una carga de trabajo definida en un tiempo especificado.
 - El tiempo entre la iniciación de una prueba y la terminación del análisis.
 - Ninguna de las anteriores.
- ¿En qué año se introdujo el primer analizador centrífugo comercial?
 - 1957.
 - 1967.
 - 1970.
 - 1976.
- Las siguientes son ventajas para la automatización EXCEPTO:
 - El número cada vez mayor de pruebas efectuadas.
 - El componente de trabajo minimizado.
 - La corrección de deficiencias inherentes en las metodologías.
 - El uso de cantidades pequeñas de muestras y reactivos en comparación con los procedimientos manuales.
- ¿Cuáles de los pasos siguientes en la automatización es por lo general un proceso manual en la mayor parte de los laboratorios?
 - Preparación de la muestra.
 - Medición de la muestra y entrega.
 - Entrega de reactivo.
 - Fase de reacción química.
- ¿Cuál de los siguientes analizadores de química emplean placas para contener todo el sistema de reactivos?
 - Analizadores Vitros.
 - Analizadores ACA.
 - Analizadores Paramax.
 - Ninguno de los anteriores.

REFERENCIAS

1. Hodnett J. Automated analyzers have surpassed the test of time. *Adv Med Lab* 1994;8.
2. Schoeff L, et al. *Principles of Laboratory Instruments*. St. Louis: Mosby-Year Book, 1993.
3. Jacobs E, Simson E. Point of care testing and laboratory automation: the total picture of diagnostic testing at the beginning of the next century. *Clin Lab News* 1999;December:12-4.
4. Boyce N. Why hospitals are moving to core labs. *Clin Lab News* 1996;22(11):1-2.
5. Boyce N. Why labs should discourage routine testing. *Clin Lab News* 1996;22(12):1, 9.
6. Eisenwiener H, Keller M. Absorbance measurement in cuvettes lying longitudinal to the light beam. *Clin Chem* 1979;25(1): 117-121.
7. Burtis CA. Factors influencing evaporation from sample cups, and assessment of their effect on analytic error. *Clin Chem* 1975;21:1907-1917.
8. Burtis CA, Watson JS. Design and evaluation of an anti-evaporative cover for use with liquid containers. *Clin Chem* 1992;38:768-775.
9. Dudley RE. Chemiluminescence immunoassay: an alternative to RIA. *Lab Med* 1990;21(4):216.
10. Haboush L. Lab equipment management strategies: balancing costs and quality. *Clin Lab News* 1997;23(6):20-21.
11. Schoeff L. Clinical instrumentation (general chemistry analyzers). *Anal Chem* 1997;69(12):200R-203R.
12. Ringel M. National survey results: automation is everywhere. *MLO Med Lab Obs* 1996;28:38-43.
13. Douglas L. Redefining automation: perspectives on today's clinical laboratory. *Clin Lab News* 1997;23(7):48-49.
14. Felder R. Front-end automation. In: Kost G, ed. *Handbook of Clinical Laboratory Automation and Robotics*. New York: Wiley, 1995.
15. Sasaki M. A fully automated clinical laboratory. *Lab Inform Mgmt* 1993;21:159-168.
16. Markin R, Sasaki M. A laboratory automation platform: the next robotic step. *MLO Med Lab Obs* 1992;24:24-29.
17. Bauer S, Teplitz C. Total laboratory automation: a view of the 21st century. *MLO Med Lab Obs* 1995;27:22-25.
18. Bauer S, Teplitz C. Laboratory automation, Part 2. Total lab automation: system design. *MLO Med Lab Obs* 1995;27:44-50.
19. Felder R. Cost justifying laboratory automation. *Clin Lab News* 1996;22(4):10-11, 17.
20. Felder R. Laboratory automation: strategies and possibilities. *Clin Lab News* 1996;22(3):10-11.
21. Boyd J, Felder R, Savory J. Robotics and the changing face of the clinical laboratory. *Clin Chem* 1996;42(12):1901-1910.
22. Hawker CD, Garr SB, Hamilton LT, Penrose JR, Ashwood ER, Weiss RL. Automated transport and sorting system in a large reference laboratory: Part 1. Evaluation of needs and alternatives and development of a plan. *Clin Chem* 2002;48(10):1751-1760.
23. Hawker CD, Roberts WL, Garr SB, Hamilton LT, Penrose JR, Ashwood ER, Weiss RL. Automated transport and sorting system in a large reference laboratory: Part 2. Implementation of the system and performance measures over three years. *Clin Chem* 2002; 48(10):1761-1767.
24. Richardson P, Molloy J, Ravenhall R, et al. High speed centrifugal separator for rapid online sample clarification in biotechnology. *J Biotechnol* 1996;49(1-3):111-118.
25. Zenie F. Re-engineering the laboratory. *Autom Chem* 1996;18(4): 135-141.
26. CAP Surveys, Proficiency Testing Program. Northfield, IL: College of American Pathologists, 2002.
27. Saboe T. Managing laboratory automation. *J Autom Chem* 1995; 17(3):83-88.
28. Fisher JA. Laboratory automation: communicating with all stakeholders is the key to success. *Clin Lab News* 2000;July:38-40.
29. Brzezicki L. Workflow integration: does it make sense for your lab? *Adv Lab* 1996;23:57-62.
30. Place J, Truchaud A, Ozawa K, et al. Use of artificial intelligence in analytical systems for the clinical laboratory. *J Autom Chem* 1995;17(1):1-15.
31. Boyce N. Neural networks in the lab: new hope or just hype? *Clin Lab News* 1997;23(1):2-3.
32. Boyce N. Tiny "lab chips" with huge potential? *Clin Lab News* 1996;22(12):21.
33. Rosen S. Biosensors: where do we go from here? *MLO Med Lab Obs* 1995;27:24-29.
34. Aller RD. Chemistry analyzers branching out. *CAP Today* 2002; July:84-106.

Inmunoensayos y técnicas con sonda de ácido nucleico

Susan Orton

CAPÍTULO

6

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- INMUNOENSAYOS
 - Consideraciones generales
 - Inmunoensayos no marcados
 - Inmunoensayos marcados
- SONDAS DE ÁCIDO NUCLEICO
 - Química del ácido nucleico
 - Técnicas de hibridación
 - Aplicaciones de la sonda de ácido nucleico
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al terminar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Enunciar el principio de cada uno de los siguientes métodos:
 - Difusión doble
 - Inmudifusión radial
 - Inmunolectroforesis
 - Electroforesis de inmunofijación
 - Nefelometría
 - Turbidimetría
 - Inmunoensayo competitivo
 - Inmunoensayo no competitivo
 - Inmunotransferencia
 - Inmunocitoquímica directa
 - Inmunocitoquímica indirecta
 - Inmunofenotipia por citometría de flujo
 - Reacción en cadena de la polimerasa
 - Southern blot
 - Hibridación *in situ*
 - Polimorfismo de la longitud del fragmento de restricción
- Comparar y contrastar los tipos generales de marcadores empleados en inmunoensayos.
- Clasificar un inmunoensayo, dado su formato, como homogéneo o heterogéneo, competitivo o no competitivo y mediante su marcador.
- Explicar cómo se relaciona la concentración del analito en la muestra de prueba con la cantidad de reactivo marcado enlazado para inmunoensayos competitivos y no competitivos.
- Describir los tres métodos empleados para separar reactivo marcado no enlazado de reactivo marcado enlazado.
- Describir la reducción de datos en el radioinmunoensayo competitivo clásico.
- Comparar y contrastar las metodologías, EMIT, DELFIA, MEIA, RIA, FPIA, ELISA, CEDIA, ICON y OIA.
- Explicar los principios de la hibridación.
- Expresar el papel de la transcriptasa, polimerasa y endonucleasa de restricción en los ensayos con sonda de ácido nucleico.
- Describir el principio de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia como se emplea en el ensayo de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

TÉRMINOS CLAVE

Afinidad	Hibridación <i>in situ</i>	Inmunohistoquímica	Reacción en cadena de la
Amplicón	Índice de DNA (ID)	Inmunotransferencia	transcriptasa polimerasa
Anillar	Inmunocitoquímica	Monoclonal	inversa (RT-PCR)
Anticuerpo	Inmunodifusión radial (RID)	Nefelometría	Reactividad cruzada
Antígeno	Inmunoelectroforesis (IEF)	<i>Northern blot</i>	Replicación de secuencia
Aidez	Inmunoensayo competitivo	Policlonal	autosostenida (3SR)
Citometría de flujo	Inmunoensayo heterogéneo	Polimorfismo de la longi-	Sonda de ácido nucleico
Contrainmunolectroforesis	Inmunoensayo homogéneo	tud del fragmento de	<i>Southern blot</i>
Dúplex	Inmunoensayo no compe-	restricción	Técnica del cohete
Electroforesis por inmu-	titivo	Postzona	Transferencia de energía
nofijación (EIF)	Inmunofenotipia	Prozona	por resonancia de fluo-
Epitopo	Inmunofluorescencia directa	Reacción en cadena de la	rescencia (FRET)
Fase sólida	(IFD)	ligasa (LCR)	Trazador
Hapteno (Hp)	Inmunofluorescencia indi-	Reacción en cadena de la	Turbidimetría
Hibridación	recta (IFI)	polimerasa (PCR)	<i>Western blot</i>

En este capítulo se introducen dos métodos analíticos genéricos empleados en el laboratorio clínico: uno conlleva el enlace de anticuerpo a antígeno y el otro depende del enlace a una secuencia de ácido nucleico con su secuencia complementaria de ácido nucleico blanco. Comunes a ambos métodos son la naturaleza complementaria de los reactivos, que determina la especificidad, y el sistema detector, que determina el alcance de la reacción de enlace y se relaciona con la sensibilidad analítica. En inmunoensayos, un antígeno se une a un anticuerpo. Las interacciones antígeno-anticuerpo podrían tener que ver con reactivos no marcados en técnicas menos sensibles desde el punto de vista analítico o con un reactivo marcado en técnicas más sensibles. El diseño, marcador y sistema de detección se combinan para crear muchos ensayos distintos, que permiten la medición de una amplia variedad de moléculas.

En el enlace de ácido nucleico, por lo común, una sonda se unirá con una secuencia de ácido nucleico complementaria. El ácido nucleico blanco puede ser amplificado o no antes de la detección o cuantificación, o ambas cosas. Así, los métodos basados en ácido nucleico están diseñados para detectar cambios en la concentración de DNA o RNA y no en detectar un producto génico sintetizado, como una proteína detectada en inmunoensayos. De nuevo, muchos diseños de ensayo usan sondas. Para dar una explicación más clara, los inmunoensayos serán considerados por separado de los ensayos con sonda de ácido nucleico. En este capítulo se revisan los conceptos del enlace, se describe la naturaleza de los reactivos empleados y se analiza el diseño de ensayo básico de técnicas seleccionadas utilizadas en el laboratorio clínico; como tal, pretende ser un repaso y no una revisión exhaustiva.

INMUNOENSAYOS

Consideraciones generales

En un inmunoensayo, una molécula de *anticuerpo* reconoce y se une con un *antígeno*. La molécula de interés

puede ser un antígeno o un anticuerpo. El enlace se relaciona con la concentración de cada reactivo, la especificidad del anticuerpo para el antígeno, la afinidad y avidez para ambas y las condiciones ambientales. Aunque este capítulo se enfoca en inmunoensayos que usan una molécula de anticuerpo como el reactivo de enlace, otros ensayos, como los de receptor y los de proteína de enlace, competitivos, emplean proteínas receptoras o de transporte como reactivo de enlace, respectivamente. Los mismos principios se aplican a estos ensayos. Una molécula de anticuerpo es una inmunoglobulina con un dominio funcional conocido como F(ab); esta área de la proteína de inmunoglobulina se une con un sitio en el antígeno. Éste es relativamente grande y complejo y, por lo común, tiene sitios múltiples que se pueden unir a anticuerpos con diferentes especificidades; cada sitio en el antígeno se conoce como un determinante antigénico o *epitopo*. Existe cierta confusión en la terminología usada: algunos inmunólogos se refieren a un *inmunógeno* como la molécula que induce la respuesta biológica y síntesis de anticuerpo, y algunos usan *antígeno* para referirse a lo que se une con el anticuerpo. Sin embargo, todos concuerdan que el sitio antigénico al que se puede unir F(ab) es el epitopo.

El grado de enlace es una consideración importante en un inmunoensayo. El enlace de un anticuerpo con un antígeno se relaciona de modo directo con la afinidad y avidez del anticuerpo para el epitopo, así como la concentración del anticuerpo y el epitopo. En condiciones estándar, la *afinidad* de un anticuerpo se mide usando un *hapteno* (Hp) porque éste es un antígeno de peso molecular bajo que se considera tiene sólo un epitopo. La afinidad hacia el hapteno se relaciona con la probabilidad para enlazar o con el grado de naturaleza complementaria de cada uno. La reacción reversible se resume en la ecuación 6-1:



(Ec. 6-1)

El enlace entre un hapteno y el anticuerpo obedece la ley de acción de masas y se expresa matemáticamente en la ecuación 6-2:

$$K_a = \frac{k_1}{k_2} = \frac{[\text{Hp} - \text{Ab}]}{[\text{Hp}][\text{Ab}]} \quad (\text{Ec. 6-2})$$

K_a es la constante de afinidad o equilibrio y representa el recíproco de la concentración de hapteno libre cuando están ocupados 50% de los sitios de enlace. Mientras mayor sea la afinidad del hapteno hacia el anticuerpo, menor es la concentración del hapteno necesaria para saturar 50% de los sitios de enlace del anticuerpo. Por ejemplo, si la constante de afinidad de un anticuerpo monoclonal es 3×10^{11} L/mol, significa que una concentración de hapteno de 3×10^{-11} mol/L es necesaria para ocupar la mitad de los sitios de enlace. Por lo común, la constante de afinidad de anticuerpos que se emplea en procedimientos de inmunoensayo varía de 10^9 a 10^{11} L/mol, mientras que la constante de afinidad para proteínas de transporte varía de 10^7 a 10^8 L/mol, y la afinidad para los receptores va de 10^8 a 10^{11} L/mol.

Como con todas las reacciones químicas (moleculares), las consideraciones iniciales de los reactivos y productos afectan el grado de enlace complejo. En inmunoensayos, la reacción es directa (hacia la derecha) (ecuación 6-1) cuando la concentración de los reactivos (Ag y Ab) excede la concentración del producto (complejo Ag-Ab) y cuando hay una constante de afinidad favorable.

Las fuerzas que agrupan a un determinante antigénico y un anticuerpo son enlaces reversibles, no covalentes, que resultan de los efectos acumulados de fuerzas hidrófobas, hidrofílicas, de puente de hidrógeno y de van der Waals. El factor más importante que afecta la resistencia acumulada de enlace es la bondad (o cercanía) de ajuste entre el anticuerpo o el antígeno. La resistencia de la mayor parte de estas fuerzas interactivas se relaciona de manera inversa con la distancia entre los sitios interactivos. Mientras más se aproximen el anticuerpo y el oxígeno, mayores son las fuerzas de atracción.

Después que se forma el complejo antígeno-anticuerpo, la probabilidad de separación (que se relaciona de manera inversa con la tensión de enlace) se conoce como *avidez*. Ésta representa un fenómeno de valor añadido en el que la resistencia de enlace de todos los pares anticuerpo-epitopo excede la suma del enlace único anticuerpo-epitopo. En general, mientras más fuertes sean la afinidad y la avidez, mayor es la posibilidad de reactividad cruzada.

La especificidad de un anticuerpo se describe en la mayor parte de los casos mediante el antígeno que indujo la producción de anticuerpo, el antígeno homólogo. De manera ideal, este anticuerpo reaccionaría sólo con ese antígeno. Sin embargo, un anticuerpo puede reaccionar con un antígeno que en estructura es similar con el antígeno homólogo; esto se conoce como *reactividad cruzada*. Considerando que un determinante antigénico puede tener cinco o seis aminoácidos o un azúcar inmunodominante, no es sorprendente que sea común la similitud del antígeno. Mientras mayor sea la similitud entre el antígeno

de reacción cruzada y el homólogo, más fuerte es el enlace con el anticuerpo.¹ La producción de anticuerpo de reactivo se logra mediante técnicas policlonales o monoclonales. En la producción de anticuerpo *policlonal*, el antígeno estimulante se inyecta en un animal sensible al antígeno; el animal detecta este antígeno extraño y prepara una respuesta inmune para eliminar el antígeno. Si parte de esta respuesta inmune incluye producción intensa de anticuerpo, entonces se colecta la sangre y se recoge el anticuerpo, caracterizado y purificado para producir el reactivo anti-sérico comercial. Este reactivo de anticuerpo policlonal es una mezcla de especificidades de anticuerpo. Algunos anticuerpos reaccionan con los epitopos estimulantes y algunos son endógenos para el huésped. Múltiples anticuerpos dirigidos contra los epitopos múltiples en el antígeno están presentes, y pueden formar un enlace cruzado con el antígeno multivalente. Los anticuerpos policlonales se emplean por lo común como anticuerpos de “captura” en inmunoensayos de emparedado o indirectos.

En contraste, una línea de células inmortales produce anticuerpos *monoclonales*; cada línea produce un anticuerpo específico. Este método se desarrolló como una extensión del trabajo de hibridoma que publicaron Kohler y Milstein en 1975.² El proceso comienza con la selección de células con las características que permitirán la síntesis de un anticuerpo homogéneo. Primero, un huésped (por lo común, un ratón) se inmuniza con un antígeno (aquél para el que se desea un anticuerpo); después, se recogen del bazo los linfocitos sensibilizados. Segundo, una línea de células inmortales (por lo regular una línea de células de mieloma de ratón no secretoria que es deficiente en fosforibosiltransferasa de guanina hipoxantina) se requiere para asegurar que sea viable la propagación continua *in vitro*. Estas células se mezclan en presencia de un agente de fusión, como el glicol de polietileno, que promueve la fusión de dos células para formar un hibridoma. En un medio de crecimiento selectivo, sólo sobrevivirán las células híbridas. Las células B tienen un lapso de vida natural limitado *in vitro* y no pueden sobrevivir, y las células de mieloma no fusionadas no sobreviven debido a su deficiencia de enzimas. Si las células fusionadas viables sintetizan anticuerpo, entonces se evalúan la especificidad y el isotipo de cualquier anticuerpo. El reactivo de anticuerpo monoclonal se produce en el comercio mediante el crecimiento de hibridoma en cultivo de tejido o en animales compatibles. Una característica importante acerca del reactivo de anticuerpo monoclonal es que el anticuerpo es homogéneo (un solo anticuerpo, no una mezcla de anticuerpos). Por tanto, reconoce sólo un epitopo o un antígeno multivalente, y no puede formar un enlace cruzado con un antígeno multivalente.

Inmunoensayos no marcados

Precipitación inmune en gel

En uno de los inmunoensayos no marcados más simples introducidos en el laboratorio clínico, el anticuerpo no marcado se impregnó en la parte superior del antígeno no marcado (ambos en la fase de líquido); durante el período

de incubación, el anticuerpo y el antígeno se difundieron y se registró la presencia de precipitación. La precipitación ocurrió porque cada anticuerpo reconoció un epitopo, y los antígenos multivalentes formaron enlaces cruzados con anticuerpos múltiples. Cuando el complejo antígeno-anticuerpo es de tamaño suficiente, la interacción con el agua es limitada, de modo que el complejo se vuelve insoluble y precipita.

Se ha observado que si se incrementa la concentración de antígeno mientras la concentración de anticuerpo permanece constante, la cantidad formada de precipitado se relaciona con el anticuerpo a antígeno. Como se muestra en la figura 6-1, hay una relación óptima entre la concentración de anticuerpo y la concentración de antígeno que da como resultado la precipitación máxima; es decir la zona de equivalencia. Fuera de esta zona, la cantidad de precipitado se reduce o está ausente debido a que la relación de anticuerpo a antígeno está fuera de proporción y se reduce el entrecruzamiento de antígeno. Cuando la concentración de anticuerpo está en exceso y se reduce el entrecruzamiento, el ensayo está en *prozona*. A la inversa, cuando la concentración de antígeno está en exceso y disminuye el entrecruzamiento, el ensayo está en *poszona*. Aunque en un principio se describió con reacciones de precipitación, este concepto se aplica a otros ensayos en los que la relación de anticuerpo a antígeno es muy importante.

Las reacciones de precipitación en gel se llevan a cabo por lo común en el laboratorio clínico actual. El gel es agarosa diluida (por lo regular menos de 1%) disuelta en una disolución amortiguadora acuosa. Esto provee un medio semisólido por el que puede pasar con facilidad el antígeno soluble y el anticuerpo. Los complejos inmunes precipitados son más fáciles de discernir en gel en oposición a una suspensión líquida. Los métodos de precipitación inmune en gel se pueden clasificar como métodos pasivos o los que usan electroforesis, y se resumen en el cuadro 6-1. El método

CUADRO 6-1. MÉTODOS DE PRECIPITACIÓN INMUNE

Gel

Pasivo

Difusión doble (técnica de Ouchterlony)

Difusión simple (inmunodifusión radial)

Electroforesis

Contrainmunolectroforesis

Inmunolectroforesis

Electroforesis de inmunofijación

Electroforesis de cohete

Fase soluble

Turbidimetría

Nefelometría

más simple y menos sensible es la difusión doble (la técnica de Ouchterlony).³ La agarosa se coloca en una superficie sólida y se permite que solidifique. Los pozos se cortan en la agarosa. Una plantilla común son seis pozos de anticuerpo, que rodean un solo pozo de antígeno en el centro. El antígeno y el anticuerpo solubles se agregan para separar los pozos y ocurre la difusión. Se interpretan la intensidad y el patrón de la banda de precipitación. Como se ilustra en la figura 6-2, la banda de precipitina de una muestra desconocida se compara con de una muestra que se conoce contiene el anticuerpo. Un patrón de identidad confirma la presencia del anticuerpo en la muestra desconocida. Los patrones de

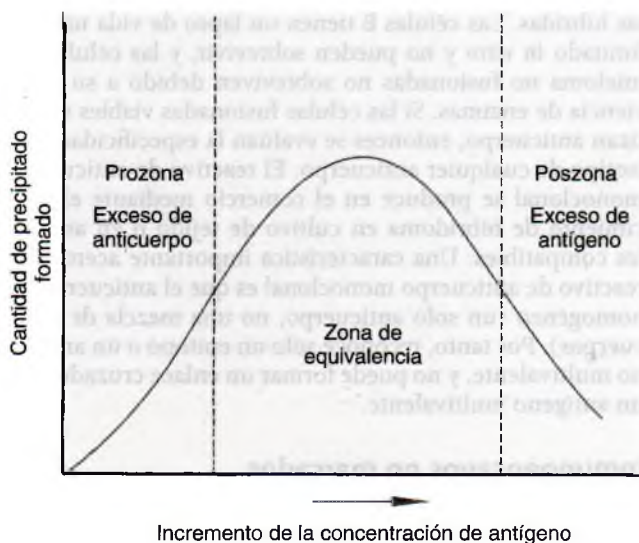


FIGURA 6-1. Curva de precipitina que muestra la cantidad de precipitado en función de la concentración de antígeno. La concentración de anticuerpo es constante.

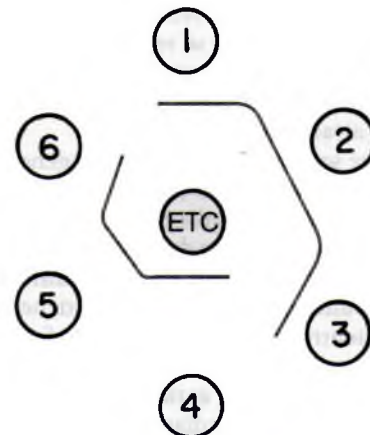


FIGURA 6-2. Esquema que demuestra el patrón de identidad. El pozo del centro contiene el antígeno, extracto de timo de conejo. El pozo 1 se llena con un suero que contiene anticuerpo Sm. Los pozos de prueba están en los pozos 2 y 3; el patrón de identidad, la línea continua entre los tres pozos, confirma la presencia de anticuerpo Sm en los sueros de prueba. El pozo 4 se llena con un suero que contiene anticuerpo U1-RNP. Los sueros de prueba en los pozos 5 y 6 también contienen anticuerpo U1-RNP confirmado por el patrón de identidad entre el suero conocido y los sueros de prueba.

identidad parcial y sin identidad son ambiguos. Esta técnica se empleó para detectar anticuerpos relacionados con enfermedades, como Sm y RNP detectados en lupus eritematoso sistémico, SSA y SSB en el síndrome de Sjögren y Scl-70 en la esclerosis sistémica progresiva.

La técnica de difusión simple, *inmunodifusión radial* (RID), es un método de precipitación inmune empleado para cuantificar proteína (el antígeno). En este método, el antisuero monoespecífico se agrega a la agarosa líquida; luego, la agarosa se vacía en una placa y se enfría. Los pozos se cortan en la agarosa solidificada. Los estándares múltiples, una o más muestras de control de calidad, y muestras del paciente se añaden a los pozos. El antígeno se difunde desde el pozo en todas direcciones, se une al anticuerpo soluble en la agarosa y forma un complejo visto como un anillo de precipitina concéntrico (fig. 6-3). El diámetro del anillo se relaciona con la concentración del antígeno que se difunde desde el pozo. Se construye una curva estándar para determinar la concentración en las muestras de control de calidad y del paciente. El alcance analítico utilizable está entre los estándares mínimo y máximo. Si el anillo es mayor que el estándar superior, se debe diluir la muestra y volverla a analizar. Si el anillo es menor que el estándar mínimo, la muestra se debe ejecutar en una placa de concentración baja. Existen dos variantes: el método de punto final (Mancini)⁴ y el método cinético (Fahey-McKelvey).⁵ El método de punto final requiere que el antígeno se difunda desde el pozo, y la concentración del antígeno se relaciona con el cuadrado del diámetro del anillo de precipitina; la curva estándar se grafica en papel de gráfica lineal y es la recta del mejor ajuste. Para asegurar que se ha difundido todo el antígeno, el tiempo de incubación es 48 a 72 horas, lo que depende del peso molecular del antígeno; por ejemplo, la cuantificación de IgG requiere 48 horas, IgM requiere 72 horas. En cambio, el método cinético requiere que los anillos sean medidos en un tiempo fijo de 18 horas; una muestra con una concentración mayor se difundirá a una mayor rapidez y será más grande un

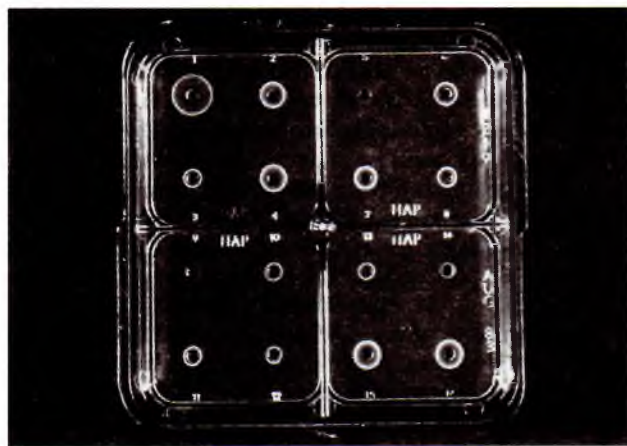


FIGURA 6-3. Una placa de inmunodifusión radial para detectar haptoglobina. El diámetro del círculo de precipitina se relaciona con la concentración de haptoglobina en el suero.

tiempo fijo. Si se utiliza papel de gráficas semilogarítmico, la concentración del antígeno se grafica contra el diámetro del anillo de precipitina; la línea se dibuja punto a punto. Para los que llevan a cabo RID, se favorece el método de punto final debido a su estabilidad e indiferencia a variaciones de temperatura; sin embargo, el tiempo de respuesta es más grande comparado con el método cinético.

La *contrainmunolectroforesis* es un método de precipitación inmune que emplea un campo eléctrico para hacer que el antígeno y el anticuerpo migren uno hacia el otro. Se cortan dos líneas de pozos paralelas en la agarosa; el anticuerpo se coloca en una línea y el antígeno en la otra. El anticuerpo migrará hacia el cátodo y el antígeno hacia el ánodo; una línea de precipitina se forma donde se encuentran. La prueba cualitativa es útil para detectar ciertos antígenos bacterianos en el líquido cefalorraquídeo y otros líquidos cuando se necesita una respuesta de laboratorio rápida.

La *inmunolectroforesis* (IEF) y la *electroforesis de inmunofijación* (EIF) son dos métodos empleados en el laboratorio clínico para caracterizar proteínas monoclonales en suero y orina. En 1964, Grabar y Burtin publicaron métodos para examinar proteínas séricas por medio de electroforesis acoplada con reacciones inmunoquímicas en agarosa.⁶ Las proteínas de suero se separan electroforéticamente y después el anticuerpo de reactivo se coloca en un canal que corre paralelo a las proteínas separadas. El reactivo de anticuerpo y las proteínas séricas separadas se difunden; cuando el anticuerpo de reactivo reconoce la proteína sérica y la reacción es en la zona de equivalencia, se ve un arco de precipitina (fig. 6-4). La placa de agarosa se tiñe (por lo común, con una tinción de pro-

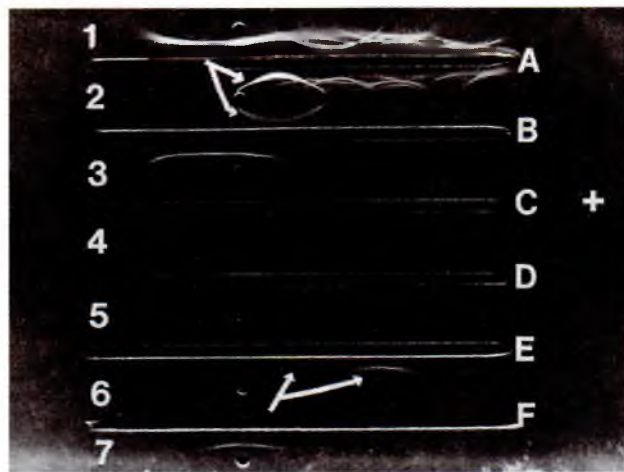


FIGURA 6-4. Inmunolectroforesis. Los pozos 1, 3, 5 y 7 contienen suero humano normal, y los pozos 2, 4 y 6 contienen el suero de prueba. El reactivo antisérico está en los canales: A contiene suero completo antihumano; B contiene IgG antihumana; C contiene IgA antihumana; D contiene IgM antihumana; E contiene κ antihumana; F contiene λ antihumana. Las flechas en la parte superior apuntan hacia una cadena γ y anormal que reacciona con el reactivo anti-IgG. Una banda similar se muestra en el fondo con el reactivo anti- κ . También hay un patrón de identidad con el reactivo anti- κ que muestra cadenas κ libre en el suero de prueba.

teína como el negro de Amido 10), se destiñe y seca para incrementar la legibilidad de los arcos de precipitina, en particular los arcos débiles. El tamaño, forma, densidad y ubicación de los arcos ayuda en la interpretación de la proteína. Toda la interpretación se hace comparando los arcos de la muestra del paciente con los de control de calidad, un suero humano normal. Debido a que la IEF se emplea para evaluar una proteína monoclonal, se debe determinar la clase de cadena pesada y el tipo de cadena ligera. Para evaluar las proteínas monoclonales más comunes, se usan los siguientes antisueros: suero completo antihumano (que contiene una mezcla de anticuerpos contra las proteínas séricas principales), IgG antihumana (específica de cadena γ), IgM antihumana (específica de cadena μ), IgA antihumana (específica de cadena α), λ antihumana (específica de cadena λ) y κ antihumana (específica de cadena κ). El tiempo de respuesta de prueba y la sutileza en la interpretación han disuadido de usar la IEF como la técnica primaria para evaluar anticuerpos monoclonales.

La EIF⁷ ha reemplazado a la IEF en muchos laboratorios. Se coloca una muestra de suero, orina o líquido cefalorraquídeo en los seis carriles de un gel de agarosa y se somete a electroforesis para separar las proteínas. El acetato de celulosa (o algún otro material poroso) se satura con reactivo de anticuerpo y se aplica después a un carril de la proteína separada. Si el reactivo de anticuerpo reconoce la proteína, se forma un complejo insoluble. Después de teñir y secar la película de agarosa, la interpretación se basa en la migración y apariencia de las bandas. Como se muestra en la figura 6-5, la proteína monoclonal aparecerá como una banda discreta (con un antisuero monoespecífico de cadena pesada y ligera que está en la misma posición). Las proteínas policlonales lo hacen como una banda difusa. La concentración de la muestra del paciente

podría requerir ajuste para asegurar que la reacción está en la zona de equivalencia.

El último método de precipitación inmune en gel que se analiza es la *técnica de cohete* (técnica de Laurell o electroinmunoensayo).^{8,9} En esta técnica cuantitativa, el anticuerpo de reactivo se mezcla con agarosa; el antígeno se coloca en el pozo y se somete a electroforesis. Conforme el antígeno se mueve por la agarosa, reacciona con el anticuerpo de reactivo y forma un “cohete”, con precipitación a lo largo de los bordes. La altura del cohete es proporcional a la concentración de antígeno presente; la concentración se determina con base en una curva de calibración. El alcance estrecho de linealidad podría requerir dilución o concentración de la muestra desconocida.

Detección de complejos de antígeno-anticuerpo en fase líquida

Una estrategia diferente para cuantificar los complejos antígeno-anticuerpo es usar un instrumento para detectar los complejos antígeno-anticuerpo solubles cuando interactúan con luz. Cuando el antígeno y el anticuerpo se combinan, se forman complejos que actúan como partículas en suspensión y, por tanto, pueden dispersar luz. El tamaño de las partículas determina el tipo de dispersión que dominará cuando la disolución interactúa con luz casi monocromática.¹⁰ Cuando la partícula, como albúmina o IgG, es relativamente pequeña en comparación con la longitud de onda de la luz incidente, la partícula dispersará luz de forma simétrica, hacia delante y hacia atrás. Un mínimo de luz dispersada es detectable a 90° de la luz incidente. Las moléculas más grandes de complejos antígeno-anticuerpo tienen diámetros que aproximan la longitud de onda de la luz incidente y dispersan luz con una intensidad mayor en la dirección directa. La longitud de onda de la luz se selecciona con base en su capacidad para ser dispersada en dirección directa y la capacidad de los complejos antígeno-anticuerpo para absorber la longitud de onda de la luz.

La *turbidimetría* mide la luz transmitida y la *nefelometría* la luz dispersada. Los turbidímetros (espectrofotómetros o colorímetros) están diseñados para medir la luz que pasa por una disolución, de modo que el fotodetector está colocado a un ángulo de 180° desde la luz incidente. Si la absorbancia de luz es insignificante, la turbidez se puede expresar como la absorbancia, que está relacionada de forma directa con la concentración de partículas suspendidas y la longitud de la trayectoria. Los nefelómetros miden la luz a un ángulo distinto a 180° a partir de la luz incidente; la mayor parte miden luz directa dispersada a menos de 90° porque la sensibilidad se incrementa (véase el capítulo 4, *Técnicas analíticas e instrumentación*). La concentración relativa del reactivo de anticuerpo y el antígeno es muy importante para asegurar que el tamaño del complejo generado sea mejor detectado por el nefelómetro o turbidímetro, y que la reacción inmune no esté en poszona o prozona. Por tanto, podría ser importante probar más de una concentración de muestra del paciente, monitorear la presencia de anticuerpo en exceso o añadir más antisuero y vigilar la tasa máxima. El exceso

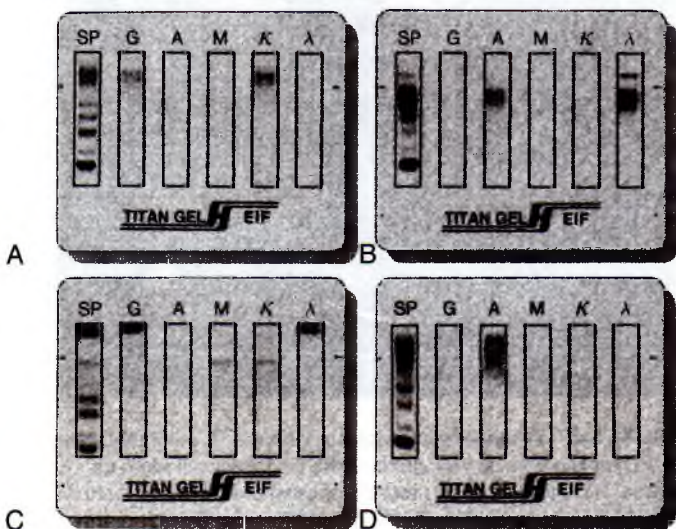


FIGURA 6-5. Electroforesis de inmunofijación. **A.** Inmunoglobulina monoclonal IgG κ . **B.** Inmunoglobulina monoclonal IgA κ con cadenas ligeras de κ libre. **C.** Inmunoglobulinas biclonales IgG λ e IgM κ . **D.** Banda de cadena pesada de IgA difusa sin una cadena ligera correspondiente.

de anticuerpo indicaría que hay poco antígeno y que se subestimó la reacción.

Para turbidimetría y nefelometría, todos los reactivos y sueros deben estar libres de partículas que podrían dispersar luz. El pretratamiento de suero con polietilenglicol, un polímero hidrofílico, no iónico, mejora la interacción antígeno-anticuerpo. Debido a que el polímero es más hidrofílico que el antígeno o el anticuerpo, el agua es atraída desde el antígeno y el anticuerpo al polietilenglicol. Esto da como resultado una tasa más rápida y mayor cantidad de formación de complejo antígeno-anticuerpo.

Ambos métodos se pueden efectuar en un modo de punto final o cinético. En el modo de punto final, se toma una medición al comienzo de la reacción (la señal de fondo) y otra en un tiempo fijo en la reacción (señal de meseta o punto final); la concentración se determina por medio de una curva de calibración. En el modo cinético, la tasa de formación de complejo se monitorea sin interrupción y se determina la tasa máxima. Ésta se relaciona de manera directa con la concentración del antígeno, aunque esto no necesariamente es lineal. Así, se requiere una curva de calibración para determinar la concentración de muestras desconocidas.

Inmunoensayos marcados

Consideraciones generales

Por lo general, en todos los inmunoensayos marcados, un reactivo (antígeno o anticuerpo) se marca al unir una partícula o molécula que se detecta mejor a menores concentraciones de los complejos antígeno-anticuerpo. Por tanto, el marcador mejora la sensibilidad analítica. Todos los ensayos tienen un reactivo de enlace, que puede unirse al antígeno o ligando. Si el reactivo de enlace es un anticuerpo, el análisis es un inmunoensayo. Si el agente

de enlace es un receptor (p. ej., receptor de estrógeno o progesterona), el ensayo es un análisis de receptor. Si el reactivo de enlace es una proteína de transporte (como globulina ligadora de tiroxina o transcortina), el ensayo se puede llamar prueba competitiva de enlace a proteína. En la actualidad los inmunoensayos se emplean casi de modo exclusivo, con dos excepciones notables: ensayos de receptor de estrógeno y progesterona, y la relación de enlace de hormona tiroidea, que emplea globulina ligadora de tiroxina.

Los inmunoensayos se pueden describir con base en su marcador; cuál reactivo está marcado, la concentración relativa y la fuente del anticuerpo, el método empleado para separar reactivos libres de los marcados por enlace, la señal que se mide y el método utilizado para asignar la concentración de analito en la muestra. Por tanto, el diseño de inmunoensayo tiene muchas variables por considerar, que conducen a diversos ensayos.

Marcadores

La forma más simple de identificar un ensayo es mediante el marcador utilizado. En el cuadro 6-2 se listan los marcadores de uso común y los métodos empleados para detectarlos.

Marcadores radiactivos. Los átomos con núcleos inestables que emiten radiación en forma espontánea son radiactivos y se conocen como radionúclidos. La emisión se conoce como decaimiento radiactivo y es independiente de los parámetros químicos o físicos, como temperatura, presión o concentración. De las tres formas de radiación, sólo se emplean beta y gamma en el laboratorio clínico. En la emisión beta, el núcleo puede emitir electrones con carga negativa o partículas con carga positiva llamados positrones. Los electrones emitidos se conocen también como partículas beta. El tritio (^3H) es el radionúclido empleado

CUADRO 6-2. MARCADORES Y MÉTODOS DE DETECCIÓN

INMUNOENSAYO	MARCADOR COMÚN	MÉTODO DE DETECCIÓN
RIA	^3H	Contador de centelleo líquido
	^{125}I	Contador gamma
EIA	Peroxidasa de rábano	Fotómetro, fluorómetro, luminómetro
	Fosfatasa alcalina	Fotómetro, fluorómetro, luminómetro
	β -D-Galactosidasa	Fluorómetro, luminómetro
	Deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato	Fotómetro, luminómetro
CLA	Derivado de isoluminol	Luminómetro
	Ésteres de acridinio	Luminómetro
FIA	Fluoresceína	Fluorómetro
	Europio	Fluorómetro
	Ficobiliproteínas	Fluorómetro
	Rodamina B	Fluorómetro
	Umbeliferona	Fluorómetro

RIA, radioinmunoensayo; EIA, inmunoensayo enzimático; CLA, ensayo quimioluminiscente; FIA, inmunoensayo fluorescente.

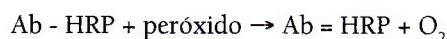
por lo común en ensayos de inmunología celular para diagnóstico e investigación.

La emisión gamma es radiación electromagnética con longitudes de onda muy cortas que se originan de núcleos inestables. Cuando un radionúclido libera energía y se vuelve más estable, se desintegra o decae, liberando energía. Un espectro específico de niveles de energía se relaciona con cada radionúclido. La unidad estandarizada de radiactividad es el becquerel (Bq), que es igual a una desintegración por segundo. La unidad tradicional es el curie (Ci), que es igual a 3.7×10^{10} Bq; $1 \mu\text{Ci} = 37 \text{ kBq}$. La vida media del radionúclido es el tiempo necesario para que 50% del radionúclido decaiga y se vuelva más estable. Mientras más larga sea la vida media, decae con mayor lentitud y, por tanto, se incrementa el tiempo en que se puede medir. Para sustancias radiactivas empleadas en pruebas diagnósticas, es preferible que la emisión tenga un nivel de energía apropiado, y que la vida media sea relativamente larga; ^{125}I satisface estos requisitos y es el radionúclido de emisión gamma que más se utiliza en el laboratorio clínico.

Los radionúclidos de emisión gamma son detectados por medio de un detector de centelleo de cristal (conocido también como contador gamma). La energía liberada durante el decaimiento excita una fluorita, como el yoduro de sodio activado con talio. La fluorita excitada libera un fotón de luz visible, que es amplificada y detectada por un tubo fotomultiplicador; la energía de luz amplificada se traduce entonces en energía eléctrica. El decaimiento detectable del radionúclido se expresa como cuentas por minuto (CPM).

En los inmunoensayos, un reactivo se radiomarca. En ensayos competitivos, el antígeno se marca y se le denomina *trazador*. El radiomarcador debe permitir al trazador ser funcional por completo y competir por igual con el antígeno no marcado por los sitios de enlace. Cuando el anticuerpo detector se radiomarca, el sitio de combinación con antígeno debe permanecer activo biológicamente y libre.

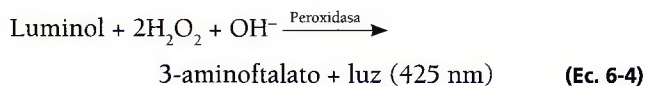
Marcadores enzimáticos. Las enzimas se emplean por lo común para marcar el antígeno/hapteno o anticuerpo.^{11,12} La peroxidasa de rábano (HRP), fosfatasa alcalina (ALP) y deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato se emplean en la mayor parte de los casos. Las enzimas son catalizadores biológicos que incrementan la tasa de conversión de sustrato a producto y no se consumen en la reacción. Como tal, una enzima puede catalizar muchas moléculas de sustrato y, por consiguiente, amplificar la cantidad de producto generado. La actividad de la enzima se puede monitorear de manera directa al medir el producto formado o el efecto del producto en una reacción acoplada. Dependiendo del sustrato empleado, el producto puede ser fotométrico, fluorométrico o quimioluminiscente. Por ejemplo, una reacción fotométrica representativa con anticuerpo marcado con HRP (Ab-HRP) y el sustrato (un peróxido) generan el producto (oxígeno). El oxígeno puede oxidar entonces un cromógeno reducido (ortofenilendiamina reducida [OPD]) para producir un compuesto coloreado (OPD oxidada) que se mide por medio de un fotómetro.



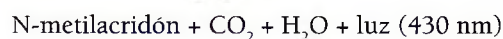
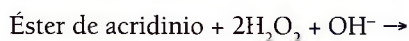
Marcadores fluorescentes. Los marcadores fluorescentes (fluorocromos o fluoróforos) son compuestos que absorben energía radiante de una longitud de onda y emiten energía radiante de una longitud de onda más grande en menos de 10^{-4} segundos. Por lo común, la luz emitida se detecta a un ángulo de 90° desde la trayectoria de luz de excitación con un fluorómetro o un espectrofotómetro modificado. La diferencia entre la longitud de onda de excitación y la de emisión (cambio de Stokes) varía entre 20 y 80 nm para la mayor parte de los fluorocromos. Algunos inmunoensayos de fluorescencia simplemente sustituyen un marcador fluorescente (como la fluoresceína) por un marcador enzimático y cuantifican la fluorescencia.¹³ Otro método, el inmunoensayo de fluorescencia de resolución en el tiempo, utiliza un marcador fluorescente muy eficaz, como un quelato de europio,¹⁴ que fluoresce casi 1000 veces más lento que la fluorescencia de fondo natural y tiene un cambio de Stokes amplio. El retraso permite que el marcador fluorescente sea detectado con interferencia mínima desde la fluorescencia de fondo. El cambio de Stokes largo facilita la medición de radiación de emisión al tiempo que se excluye la radiación de excitación. El ensayo resultante es muy sensible y de resolución en el tiempo, con fluorescencia de fondo minimizada.

Marcadores luminiscentes. Los marcadores luminiscentes emiten un fotón de luz como resultado de una reacción eléctrica, bioquímica o química.^{15,16} Algunos compuestos orgánicos se excitan cuando se oxidan y emiten luz cuando vuelven al estado basal. Los oxidantes incluyen peróxido de hidrógeno, hipoclorito u oxígeno. A veces se requiere un catalizador, como peroxidasa, fosfatasa alcalina o iones metálicos.

El luminol, el primer marcador quimioluminiscente empleado en inmunoensayos, es una diacilhidracida cíclica que emite energía luminosa en condiciones alcalinas en presencia de peróxido o peroxidasa. Debido a que la peroxidasa puede servir como catalizador, en los ensayos se puede usar esta enzima como marcador; el sustrato quimioluminogénico, luminol, producirá luz que es directamente proporcional a la cantidad de peroxidasa presente (ecuación 6-4):



Un marcador quimioluminiscente popular, ésteres de acridinio, es una molécula orgánica de anillo triple enlazada mediante un enlace de éster con una cadena orgánica. En presencia de peróxido de hidrógeno y en condiciones alcalinas, el enlace de éster se rompe y permanece una molécula inestable (N-metilacridón). La luz es emitida cuando la molécula inestable vuelve a su estado basal más estable.



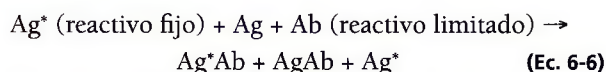
(Ec. 6-5)

La fosfatasa alcalina conjugada por lo común con un anticuerpo ha sido empleada en los analizadores de inmunoensayo automatizados para producir algunos de los ensayos quimioluminiscentes más sensibles. La ALP cataliza los sustratos fosfato de arilo 1,2-dioxetano adamantilo (AMPPD) para liberar luz a 477 nm. El límite de detección se aproxima a 1 zmol, o aproximadamente 602 moléculas de enzima.^{17,18}

Diseño del ensayo

Inmunoensayos competitivos. El primer ensayo fue un *inmunoensayo competitivo* en el que el antígeno radiomarcado (Ag^* ; llamado también trazador) compite con antígeno no marcado (Ag) por un número limitado de sitios de enlace (Ab) (fig. 6-6). La proporción de Ag y Ag^* que se une con el Ab se relaciona con la concentración de Ag y Ag^* y requiere anticuerpo limitado en la reacción. En el ensayo competitivo, la concentración de Ag^* es constante y limitada. A medida que aumenta la concentración de Ag , más se enlaza con el anticuerpo, lo que da como resultado menos enlace de Ag^* . Estos ensayos de reactivo limitado eran muy sensibles porque las concentraciones bajas de antígeno no marcado produjeron una señal mensurable grande a partir del antígeno enlazado marcado. Si el ensayo competitivo está diseñado para alcanzar el equilibrio, los tiempos de incubación suelen ser largos.

La reacción de antígeno-anticuerpo se puede realizar en una etapa cuando el antígeno marcado (Ag^*), el antígeno no marcado (Ag) y el anticuerpo de reactivo (Ab) se incuban de forma simultánea juntos para producir antígeno enlazado marcado (Ag^*Ab), antígeno no marcado enlazado ($AgAb$) y marcador libre (Ag^*) como se muestra en la figura 6-6 y la ecuación 6-6:



Un ensayo simultáneo competitivo, genérico, heterogéneo, comienza al pipetear la muestra de prueba (control de calidad, calibrador o muestra del paciente) en tubos de ensayo. A continuación, se añaden el antígeno marcado y

los reactivos de anticuerpo. Después de la incubación y la separación de antígeno libre marcado (no enlazado), se mide el antígeno enlazado marcado.

Como opción, el ensayo competitivo se puede llevar a cabo en etapas sucesivas. Primero, el antígeno marcado se incubaba con el anticuerpo de reactivo y luego se agrega el antígeno marcado. Después de un tiempo de incubación largo y un paso de separación, se mide el antígeno enlazado marcado. Este método incrementa la sensibilidad analítica del ensayo.

Considere el ejemplo del cuadro 6-3. Un número relativamente pequeño, pero constante, de sitios de combinación de Ab están disponibles para combinarse con una cantidad constante, relativamente grande, de Ag^* (trazador) y calibradores con concentraciones de antígeno conocidas. Debido a que la cantidad de trazador y anticuerpo son constantes, la única variable en el sistema de prueba es la cantidad de antígeno no marcado. Cuando se incrementa la concentración de antígeno no marcado, aumenta la concentración (o porcentaje) de trazador libre.

Si se emplean varios calibradores, se establece una curva de respuesta. Cuando se incrementa la concentración de Ag no marcado, disminuye la concentración de trazador que se une con el Ab . En el ejemplo presentado en el cuadro 6-3, si la cantidad de antígeno no marcado es cero, el trazador máximo se combinará con el anticuerpo. Cuando no está presente el antígeno no marcado, es posible el máximo enlace mediante el trazador; esto se conoce como E_0 , $E_{\text{máx}}$, enlace máximo o el estándar cero. Cuando la cantidad de antígeno no marcado es la misma que el trazador, cada uno se unirá con igual cantidad de anticuerpo. A medida que la concentración de antígeno se incrementa en un ensayo competitivo, la cantidad de trazador que se acompleja con el reactivo de enlace disminuye. Si el trazador es de bajo peso molecular, con frecuencia se mide el trazador libre. Si el trazador es de alto peso molecular, se mide el trazador enlazado. Los datos se pueden graficar en una de tres maneras: enlazado/libre contra la dosis aritmética de antígeno no marcado; porcentaje enlazado contra el log de la dosis del antígeno no marcado; y logit enlazado/ E_0 contra el log de la dosis del antígeno no marcado (fig. 6-7).

La fracción enlazada se puede expresar en varios formatos. Enlazado/libre (E/L) son las CPM de la fracción enlazada comparada con las CPM de la fracción libre. El porcentaje enlazado (% E) es la CPM de la fracción enlazada comparada con la CPM del enlace máximo del trazador (E_0) multiplicadas por 100. La transformación logit E/E_0 es el log natural de $(E/E_0)/(1 - E/E_0)$.

Al usar papel para gráficas logit-log en el que E/E_0 se grafica en el eje de las ordenadas y el log de la dosis del antígeno no marcado se grafica en el eje de las abscisas, se produce una recta con una pendiente negativa. La mayor parte de las veces, las microcomputadoras calculan la mejor recta por medio de la regresión lineal; los valores del paciente se pueden calcular mediante la computadora con esta relación.

Es importante recordar que el mejor tipo de técnica de ajuste de curva se determina mediante experimento, y no hay certeza de que la gráfica logit-log de los datos genere siempre una recta. Para determinar el mejor método,

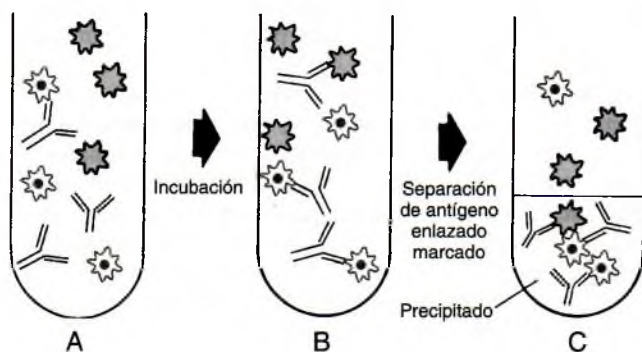


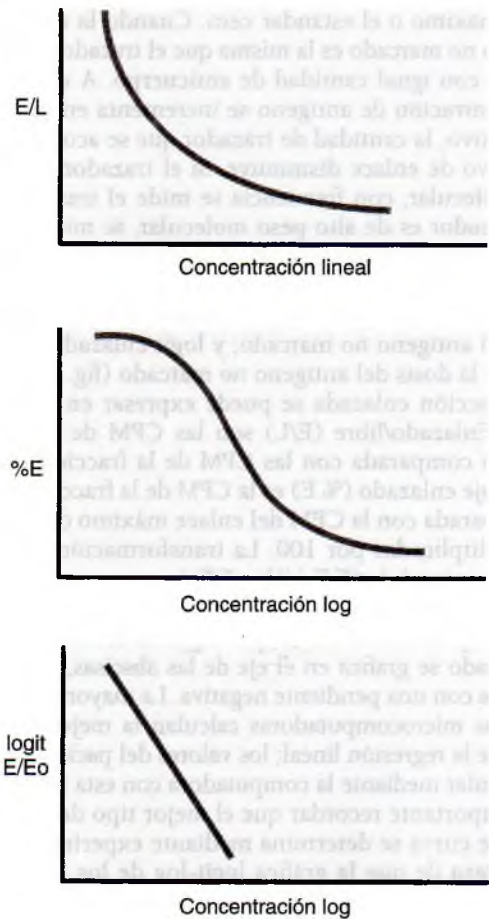
FIGURA 6-6. Inmunoensayo marcado competitivo. Durante la incubación simultánea, el antígeno marcado (estrella con punto) y el antígeno no marcado (estrella) compiten por los sitios de enlace de anticuerpo (Y). Con frecuencia se mide el marcador enlazado en el precipitado.

CUADRO 6-3. EJEMPLO DE ENSAYO DE ENLACE COMPETITIVO

Ag	+	Ag*	+	Ab	→	AgAb	+	Ag*Ab	+	Ag*
CONCENTRACIÓN DE REACTIVOS						CONCENTRACIÓN DE PRODUCTOS				
Ag		Ag*		Ab		AgAb		Ag*Ab		Ag*
0		200		100		0		100		100
50		200		100		20		80		120
100		200		100		34		66		134
200		200		100		50		50		150
400		200		100		66		34		166

CÁLCULOS DE MUESTRA

DOSIS DE [Ag]	% B	B/F
0	$\frac{100}{200} = 50$	$\frac{100}{100} = 1$
50	$\frac{80}{200} = 40$	$\frac{80}{120} = .67$
100	$\frac{60}{200} = 33$	$\frac{66}{134} = .49$
200	$\frac{50}{200} = 25$	$\frac{50}{150} = .33$
400	$\frac{34}{200} = 17$	$\frac{34}{166} = .20$



se deben probar varios de graficación de datos cuando se introduce un nuevo ensayo. Cada vez que se lleva a cabo el ensayo, se debe preparar una curva de respuesta de dosis para comprobar el desempeño del ensayo. Recuerde que el error relativo para todas las curvas de respuesta de dosis de radioinmunoensayo (RIA) es mínimo cuando E/E_0 es 0.5 y se incrementa a concentraciones altas y bajas de la gráfica. Como se muestra en la gráfica de E/E_0 contra log de la concentración de antígeno (fig. 6-7), un cambio relativamente grande en la concentración en cualquier extremo de la curva produce poco cambio en el valor de E/E_0 . Los valores del paciente obtenidos de un valor de E/E_0 mayor que 0.9 o menor que 0.1 se debe interpretar con precaución. Cuando se muestran los mismos datos usando la gráfica logit-log, es fácil pasar por alto el error en cualquier extremo de la recta.

Inmunoensayos no competitivos. Conocidos a veces como ensayos inmunométricos, los *inmunoensayos no competitivos* emplean un anticuerpo de reactivo marcado para detectar el antígeno. Se requiere exceso de anticuerpo marcado para asegurar que el anticuerpo de reactivo marcado no limita la reacción. La concentración del antígeno es directamente proporcional al anticuerpo marcado enlazado como se muestra en la figura 6-8. La relación es lineal hasta un límite y luego está sujeta al efecto de gancho de dosis alta.

FIGURA 6-7. Curvas de respuesta de dosis en un ensayo competitivo. E = antígeno enlazado marcado. F = antígeno libre marcado. E_0 = enlace máximo. % E = $E/E_0 \times 100$.

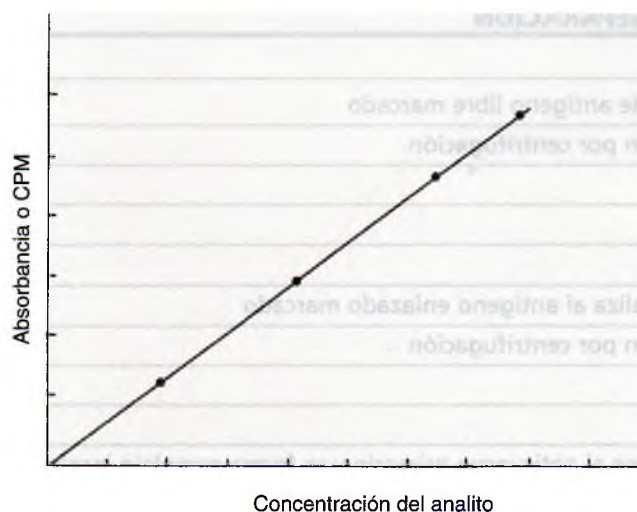


FIGURA 6-8. Curva de dosis respuesta en un inmunoensayo no competitivo.

En el ensayo de emparedado para detectar antígeno (conocido también como ensayo de captación de antígeno), el anticuerpo no marcado, inmovilizado, capta el antígeno. Después del lavado para eliminar moléculas que no reaccionaron, se añade el anticuerpo detector marcado. Después de otro lavado para eliminar el anticuerpo detector marcado libre, la señal del anticuerpo marcado enlazado es proporcional al antígeno captado. Este formato depende de la capacidad del reactivo de anticuerpo para reaccionar con un solo epítipo en el antígeno. La especificidad y cantidad de anticuerpos monoclonales ha permitido la expansión rápida de diversos ensayos. En la figura 6-9 se muestra un esquema.

El ensayo de emparedado es otro estudio no competitivo empleado para detectar anticuerpo, en el cual el antígeno inmovilizado capta anticuerpo específico. Después de lavar, el anticuerpo detector marcado se añade y se enlaza con el anticuerpo captado. La cantidad de anticuerpo marcado enlazado es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo específico presente (fig. 6-10). Este estudio

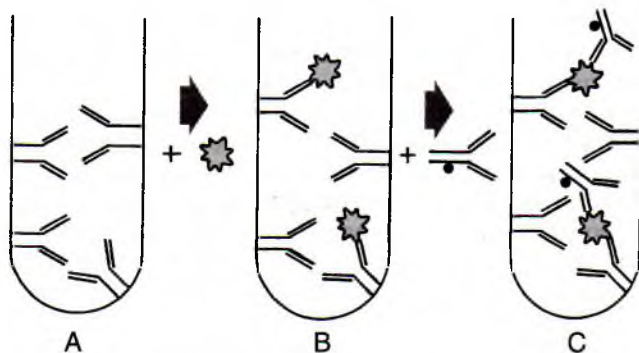


FIGURA 6-9. Ensayo de emparedado no competitivo de dos sitios para detectar antígeno. El anticuerpo inmovilizado (Y) capta al antígeno (X). Entonces, se añade el anticuerpo marcado (Y*), se enlaza con el antígeno captado y se detecta.

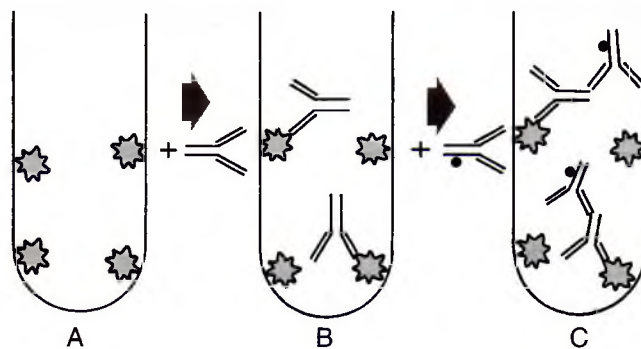


FIGURA 6-10. Ensayo de emparedado no competitivo de dos sitios para detectar anticuerpo. El antígeno inmovilizado (X) capta al anticuerpo (Y). Entonces, se añade el anticuerpo marcado (Y*), se enlaza con el anticuerpo captado y se detecta.

se puede modificar para determinar la clase de inmunoglobulina del anticuerpo específico presente en el suero. Por ejemplo, si el anticuerpo detector fuera marcado y no específico (p. ej., IgM antihumana de conejo [específica de cadena μ]), detectaría y cuantificaría sólo la IgM humana captada por el antígeno inmovilizado.

Técnicas de separación

Los inmunoensayos requieren que el reactivo marcado libre se distinga del marcado enlazado. En *ensayos heterogéneos*, la separación física es necesaria y se logra mediante absorción, precipitación o interacción con una fase sólida como se lista en el cuadro 6-4. Mientras mejor sea la separación del reactivo enlazado del libre, más confiable será el ensayo. Esto contrasta con los *ensayos homogéneos* en los que la actividad o expresión del marcador depende de si el reactivo marcado está libre o enlazado. No se requiere ninguna etapa de separación en ensayos homogéneos.

Adsorción. Las técnicas de adsorción emplean partículas para captar antígenos pequeños, marcados o no marcados. Por lo común se usa una mezcla de carbón vegetal y dextrano entrecruzado. El carbón vegetal es poroso y se combina fácil con moléculas pequeñas para eliminarlas de la disolución; el dextrano evita que proteína no específica se enlace con el carbón vegetal. El tamaño del dextrano afecta el de la molécula que puede ser absorbida; mientras menor sea el peso molecular del dextrano empleado, más pequeño es el peso molecular del antígeno libre que puede ser absorbido. Otros adsorbentes son sílice, resina de intercambio iónico o Sephadex. Después de la absorción y la centrifugación, el antígeno libre marcado se encuentra en el precipitado.

Precipitación. La precipitación no inmune ocurre cuando el ambiente se modifica afectando la solubilidad de la proteína. Los compuestos como el sulfato de amonio, sulfato de sodio, polietilenglicol y etanol precipitan proteína de manera no específica; precipitarán tanto anticuerpo libre como complejos antígeno-anticuerpo. El sulfato de amonio y el sulfato de sodio “separan” las globulinas libres y los complejos antígeno-anticuerpo. El etanol desnatura proteína y complejos antígeno-anticuerpo, y causa precipitación. El polietilenglicol precipita moléculas

CUADRO 6-4. CARACTERÍSTICAS DE TÉCNICAS DE SEPARACIÓN

TÉCNICA DE SEPARACIÓN	EJEMPLO	ACCIÓN
Adsorción	Carbón vegetal y dextrano	Trampas de antígeno libre marcado
	Sílice	Separación por centrifugación
	Resina de intercambio iónico	
	Sephadex	
Precipitación		
No inmune	Etanol	Desnaturaliza al antígeno enlazado marcado
	Sulfato de amonio	Separación por centrifugación
	Sulfato de sodio	
	Polietilenglicol	
Inmune	Segundo anticuerpo	Se reconoce al anticuerpo primario y se forma complejo insoluble
	Proteína estafilocócica A	
Fase sólida	Poliestireno	Separación por centrifugación
	Membranas	Se absorbe un reactivo o se une por enlace covalente con la superficie inerte
	Partículas magnetizadas	Separación por lavado

de proteína más grandes con o sin el antígeno unido. Idealmente, después de la centrifugación, todo el antígeno enlazado marcado estará en el precipitado, y dejará al antígeno libre marcado en el sobrenadante.

Los complejos solubles antígeno-anticuerpo pueden ser precipitados mediante un segundo anticuerpo que reconoce al anticuerpo primario en el complejo soluble. El resultado es un complejo más grande que se vuelve insoluble y precipita. La centrifugación se utiliza de nuevo para ayudar a la separación. Este método de separación inmune se conoce también como método de anticuerpo doble o segundo anticuerpo. Por ejemplo, en un ensayo de hormona de crecimiento, el anticuerpo primario o específico de antígeno producido en un conejo reconoce a la hormona de crecimiento. El segundo anticuerpo, producido en una oveja o cabra, reconocería al anticuerpo de conejo. Los complejos antígeno-anticuerpo marcados, complejos antígeno-anticuerpo no marcados y anticuerpos primarios libres precipitan con el segundo anticuerpo. Este método de separación es más específico que la precipitación no inmune porque sólo precipita el anticuerpo primario. Una separación similar ocurre cuando la proteína estafilocócica A (SPA) sustituye al segundo anticuerpo. La SPA se une con IgG humana y causa precipitación.

Fase sólida. El uso de una *fase sólida* para inmovilizar anticuerpo de reactivo o antígeno provee un método para separar reactivo marcado enlazado del libre después de lavar. El soporte de fase sólida es una superficie inerte a la que se une el antígeno del reactivo o anticuerpo. El soporte de fase sólida puede ser, pero no está limitado a, superficies de poliestireno, membranas y cuentas magnéticas. El antígeno inmovilizado o anticuerpo puede ser absorbido o enlazado de forma covalente con el soporte de fase sólida; el enlace covalente evita la liberación espontánea del antígeno inmo-

vilizado o anticuerpo. Los inmunoensayos con separación de fase sólida son más fáciles de efectuar y automatizar, y su ejecución requiere menos manipulación y tiempo que otros inmunoensayos. Sin embargo, es necesaria una cantidad relativamente grande de anticuerpo de reactivo o antígeno para cubrir la superficie de la fase sólida y es difícil lograr la cobertura uniforme de la fase sólida. Cuesta más producir ensayos de fase sólida y requieren mayor habilidad técnica a fin de minimizar la variabilidad intraensayo e interensayo. El lavado insuficiente es una fuente de error común.

Ejemplos de inmunoensayos marcados

El inmunoensayo de inhibición turbidimétrico mejorado por partículas (PETINIA) es un inmunoensayo competitivo homogéneo en el que los haptenos de bajo peso molecular enlazados a partículas compiten con analito no marcado por un anticuerpo específico. El grado de aglutinación de partículas es inversamente proporcional a la concentración de analito no marcado y se evalúa midiendo el cambio en la luz transmitida en un analizador clínico automático (ACA) (DuPont; ahora, Dade).¹⁹

Los análisis de inmunoabsorción ligados a enzimas (ELISA), un grupo popular de inmunoensayos heterogéneos, tienen un marcador enzimático y usan una fase sólida como la técnica de separación. Cuatro formatos están disponibles: un ensayo competitivo con antígeno marcado, un ensayo competitivo con anticuerpo marcado, un ensayo no competitivo para detectar antígeno y un ensayo no competitivo para detectar anticuerpo.

Uno de los primeros ensayos homogéneos fue la técnica de inmunoensayo de multiplicación de enzimas (EMIT), un ensayo enzimático que produce en la actualidad Syva Corporation.²⁰ Como se muestra en la figura 6-11, los reactivos en la mayor parte de los sistemas de

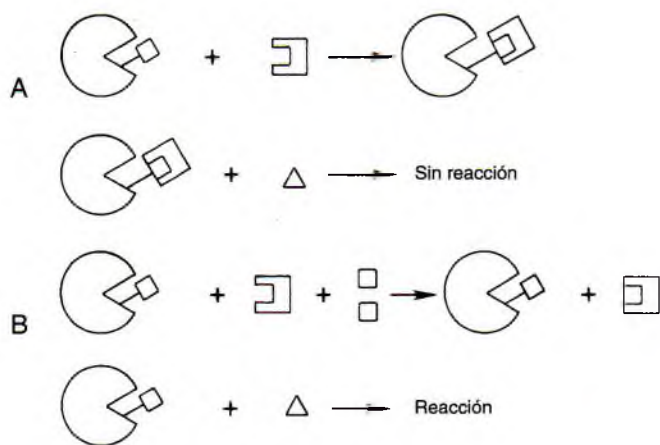


FIGURA 6-11. Técnica de inmunoensayo multiplicado por enzima. (A) Cuando el antígeno marcado con enzima se une con el anticuerpo, se inhibe la actividad enzimática. (B) El antígeno libre del paciente se une con el anticuerpo y evita que éste se enlace con el antígeno marcado. El sustrato indica la cantidad de antígeno libre marcado.

prueba incluyen un antígeno marcado con enzima (por lo común, un analito de bajo peso molecular, como un fármaco), un anticuerpo dirigido contra el antígeno, el sustrato y el antígeno de prueba. La enzima es catalíticamente activa cuando el antígeno marcado está libre (no enlazado al anticuerpo). Se cree que el anticuerpo se combina con el antígeno marcado, el anticuerpo impide estéricamente a la enzima. Los cambios conformacionales que ocurren durante la interacción antígeno-anticuerpo inhiben la actividad enzimática. En este ensayo homogéneo, el antígeno no marcado en la muestra compite con el antígeno marcado por los sitios de enlace de anticuerpo; cuando se incrementa la concentración de antígeno no marcado, menos antígeno marcado con enzima se puede unir al anticuerpo. Por tanto, más antígeno marcado está libre, y la actividad enzimática es mayor.

Los inmunoensayos de donador de enzima clonada (CEDIA) son ensayos homogéneos competitivos en los que el marcador diseñado genéticamente es β -galactosidasa.²¹ La enzima está en dos piezas inactivas: el aceptor y el donador de enzima. Cuando se unen estas dos piezas, se restablece la actividad enzimática. En el ensayo, el antígeno marcado con el donador de enzima y el antígeno no marcado en la muestra compiten por sitios específicos de enlace de anticuerpo. Cuando el anticuerpo se une con el antígeno marcado, el aceptor de enzima no se puede unir con el donador de enzima; por tanto, la enzima no se restablece y permanece inactiva. Más antígeno no marcado en la muestra da como resultado más actividad enzimática.

El inmunoensayo enzimático de captación de micropartículas (MEIA) es un análisis automatizado disponible en el IMx (Abbott Laboratories). Las micropartículas sirven como fase sólida, y una matriz de fibra de vidrio separa el reactivo marcado enlazado. Están disponibles tanto estudios competitivos como no competitivos. Aunque el marcador es una enzima (fosfatasa alcalina), el sustrato (fosfato de 4-metilumbeliferilo) es fluorogénico.

Los inmunoensayos de fluorescencia de fase sólida (SPFIA) son análogos a los métodos ELISA excepto que el marcador fluoresce. De especial importancia es FIAx (BioWhittaker, Walkersville, MD). En este ensayo, el anticuerpo en la fase sólida capta al antígeno no marcado de fase líquida; después de lavar, el anticuerpo detector (con un marcador fluorescente adherido) reacciona con el antígeno captado de fase sólida.

El inmunoensayo de fluorescencia por concentración de partículas (PCFIA) es un inmunoensayo competitivo, heterogéneo, en el cual las partículas se emplean para localizar y concentrar la fluorescencia. El antígeno marcado y el antígeno no marcado en la muestra compiten por el anticuerpo enlazado a partículas de poliestireno. Las partículas son captadas y se mide la fluorescencia. El ensayo se puede diseñar también de modo que el anticuerpo marcado y el anticuerpo no marcado compitan por antígeno fijado en las partículas.

El inmunoensayo de transferencia de excitación por fluorescencia (FETI) es un inmunoensayo homogéneo, competitivo, con dos fluoróforos (como la fluoresceína y la rodamina).²² Cuando los dos marcadores están próximos, la luz emitida de la fluoresceína la absorbe la rodamina. Así, se extingue la emisión de la fluoresceína. El antígeno marcado con fluoresceína y el antígeno no marcado compiten por el anticuerpo marcado con rodamina. Más antígeno no marcado disminuye la cantidad de antígeno marcado con fluoresceína que se une; por tanto, hay más fluorescencia (menos extinción).

El inmunoensayo de fluorescencia de nivel de sustrato (SLFIA) es otro análisis homogéneo, competitivo. Esta vez, el hapteno se marca con un sustrato; cuando se cataliza mediante una enzima apropiada se genera producto fluorescente. El hapteno marcado con sustrato y el no marcado en la muestra compiten con el anticuerpo; la enzima no puede catalizar al hapteno marcado enlazado.

El inmunoensayo de polarización por fluorescencia (FPIA) es otro ensayo en el que se emplea un marcador fluorescente.^{23,24} Este inmunoensayo homogéneo emplea luz polarizada para excitar al marcador fluorescente. La luz polarizada se crea cuando la luz pasa por filtros especiales y consta de ondas luminosas paralelas orientadas en un plano. Cuando se emplea luz polarizada para excitar un marcador fluorescente, la luz emitida podría ser polarizada o despolarizada. Las moléculas pequeñas, como el hapteno marcado fluorescente libre, giran con rapidez y al azar, interrumpiendo la luz polarizada. Las moléculas más grandes, como las que se crean cuando el hapteno fluorescente marcado se une a un anticuerpo, giran con más lentitud y emiten luz polarizada paralela a la de excitación. La luz polarizada se mide a un ángulo de 90° en comparación con la trayectoria de la luz de excitación. En un FPIA competitivo, el hapteno marcado fluorescente y el no marcado en la muestra compiten por sitios de anticuerpo limitados. Cuando no hay hapteno no marcado, el marcado se une al máximo con el anticuerpo, así que se crean complejos grandes que giran con lentitud y emiten un nivel alto de luz polarizada. Cuando el hapteno está presente, compite con el marcado por los sitios de anticuerpo; a medida que

se incrementa la concentración de hapteno, más hapteno marcado es desplazado y está libre. El hapteno marcado libre gira con rapidez y emite menos luz polarizada. El grado de desplazamiento de hapteno marcado se relaciona de modo inverso con la cantidad de hapteno no marcado presente.

El fluoroinmunoensayo de lantánido mejorado por disociación (DELFA) es un sistema automatizado (Pharmacia) que mide la fluorescencia retardada en el tiempo del marcador europio. Este análisis se puede designar como un ensayo heterogéneo, competitivo o un ensayo heterogéneo no competitivo (emparedado).²⁵

El RIA clásico es un ensayo competitivo, heterogéneo, con un trazador.²⁶ Cuando se mide el trazador enlazado, la señal del marcador (cuentas por minuto) está relacionada inversamente con la concentración del antígeno no marcado en la muestra.

Inmunoensayo rápido

La sensibilidad y especificidad de los estudios marcados automatizados y la tendencia para el examen de laboratorio descentralizado han originado el desarrollo de estudios que son fáciles de usar, simples (muchos clasificados como descartados o moderadamente complejos en relación con las Enmiendas de 1988 de Mejoramiento del Laboratorio Clínico), rápidos, de sitio neutro y sin requisito de instrumentación. Los descritos aquí son representativos de equipos comerciales disponibles en la actualidad; sin embargo, esta descripción no pretende ser exhaustiva. Surgen tres categorías de inmunoensayos rápidos: a) partículas látex para visualización de la reacción, b) flujo de líquido y reactivo marcado y c) cambios en la propiedad física o química después del enlace antígeno-anticuerpo.

Las primeras pruebas rápidas fueron aquellas en las que se añadió suspensión de partículas látex a la muestra; si el componente inmunorreactivo unido a la partícula reconocía a su contraparte en la muestra, ocurría aglutinación macroscópica. Ahora están disponibles partículas látex coloreadas para facilitar la lectura de la reacción.

Han surgido dispositivos independientes que usan la naturaleza líquida de la muestra. En los sistemas de flujo directo, un reactivo de captación se inmoviliza en una membrana, la fase sólida. La naturaleza porosa de las membranas incrementa el área superficial a la que puede enlazar el reactivo de captación. Mientras más reactivo de captación se una a la membrana, mayor es la sensibilidad del ensayo potencial. Después que el reactivo de captación se une a la membrana, otros sitios de enlace se saturan con un compuesto químico de bloqueo no reactivo para reducir el enlace no específico mediante sustancias en la muestra del paciente. En el ensayo, se permite que la muestra que contiene al analito pase por la membrana y el analito se enlace con el reactivo de captación. Por lo común, el líquido es atraído por la membrana mediante un material absorbente. El analito es detectado mediante un reactante marcado, así como la señal del reactante marcado.

El siguiente paso en el desarrollo de los dispositivos de un solo uso, autónomos, fue incorporar controles internos. Un esquema para detectar gonadotropina coriónica huma-

na, el ensayo de inmunoconcentración (ImmunoConcentration Assay [ICON; Hybritech]),^{27,28} crea tres zonas en las que se depositan partículas tratadas de modo específico. En la zona de ensayo, las partículas están cubiertas con anticuerpo de reactivo específico para el ensayo; en la zona de control negativa, las partículas están cubiertas con anticuerpo no inmune; y, en la zona de control positiva, las partículas están cubiertas con un complejo inmune para el ensayo. La muestra del paciente (suero u orina) pasa por la membrana, y en la zona de ensayo el anticuerpo de reactivo específico capta al analito. A continuación, el anticuerpo marcado pasa por la membrana, que fija al complejo inmune específico formado en la zona de ensayo o en la zona de control positiva. Después de la formación de color, se nota una reacción positiva cuando se colorean las zonas de ensayo y positiva.

Un segundo inmunoensayo homogéneo conlleva el flujo tangencial de líquido por una membrana. El líquido se disuelve y se enlaza con el reactivo de captación seco; el complejo fluye hacia el área de detección, donde se concentra y observa.

Un tercer inmunoensayo homogéneo, la inmunocromatografía enzimática, tiene que ver con flujo de líquido a lo largo de una membrana.²⁹ Éste es cuantitativo y no requiere ninguna instrumentación. Una tira de papel seco con anticuerpo inmovilizado se sumerge en la disolución de analito no marcado y un analito marcado con enzima; el líquido asciende por la tira mediante acción capilar. Conforme migran el analito marcado y el no marcado, compiten y se une con el anticuerpo inmovilizado. Se absorbe una cantidad finita de mezcla de analito marcado y no marcado. La distancia de migración del analito marcado se observa cuando la tira reacciona con un reactivo de sustrato y se forma un producto de reacción coloreado. Comparar la distancia de migración de la muestra con el calibrador permite asignar la concentración de ligando no marcado.

La siguiente generación de inmunoensayos rápidos se relaciona con el cambio de las propiedades físicas o químicas después que ocurre una interacción antígeno-anticuerpo. Un ejemplo es el inmunoensayo óptico (OIA).³⁰ Se emplea una oblea de silicón para soportar una película fina de recubrimiento óptico; luego, ésta se cubre con el anticuerpo de captación. La muestra se aplica directamente al dispositivo. Si se forma un complejo antígeno-anticuerpo, el espesor de la superficie óptica se incrementa y cambia la trayectoria óptica de la luz. El color cambia de dorado a púrpura. Algunos estudios hacen pensar que este método tiene una mejor sensibilidad analítica en comparación con los inmunoensayos, que dependen del flujo de líquido.

Inmunotransferencias

Casi todos los estudios descritos hasta aquí están diseñados para medir un solo analito. En algunas circunstancias, es benéfico separar múltiples antígenos mediante electroforesis para poder detectar al mismo tiempo múltiples anticuerpos séricos. La *Western blot* es una técnica de transferencia que se emplea para detectar anticuerpos

específicos. Como se ilustra en la figura 6-12, múltiples antígenos de proteína (como los relacionados con el virus de la inmunodeficiencia humana [HIV]) se aíslan, desnaturalizan y separan mediante dodecil sulfato de sodio-electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). El SDS desnaturaliza la proteína y añade una carga negativa global proporcional al peso molecular de la proteína. La PAGE de proteínas tratadas con SDS permite la separación de proteína con base en el peso molecular. Las proteínas separadas se transfieren entonces a un nuevo medio (como membrana de nylon, nitrocelulosa o de difluoruro de polivinilideno). Las proteínas separadas se fijarán en el nuevo medio y se pueden teñir para asegurar la separación. Cada carril en la membrana se incuba con una

muestra del paciente o de control. El anticuerpo reconoce al antígeno y se enlaza con él para formar un complejo insoluble. Después del lavado, un reactivo de anticuerpo marcado detecta el complejo. Dependiendo del marcador, se podría obtener un producto fotométrico, fluorescente o quimioluminiscente que aparece como una banda. Las bandas de la muestra del paciente se comparan con las del control que contienen anticuerpo que reaccionará con antígenos conocidos. Los marcadores de peso molecular se separan también y se tiñen para proveer una guía para la interpretación del peso molecular.

Inmunocitoquímica e inmunohistoquímica

Cuando los reactivos de anticuerpo se emplean para detectar antígenos en células o tejidos, los métodos se conocen como *inmunocitoquímica* e *inmunohistoquímica*, respectivamente. Cuando el antígeno es una parte integral de la célula o el tejido, éste es un análisis directo. Una segunda estrategia, el análisis indirecto, emplea células o tejido como sustrato; este complejo se detecta entonces por medio de un reactivo de anticuerpo marcado.

Los marcadores fluorescentes son los más comunes en inmunocitoquímica o inmunohistoquímica. Cuando se emplean para identificar microscópicamente bacterias o constituyentes en tejido (como complejos inmunes depositados *in vivo*), el método se llama *inmunofluorescencia directa* (IFD) o ensayo de fluorescencia directa (EFD). Se requiere un microscopio de fluorescencia configurado de modo especial. Se seleccionan longitudes de onda de luz mediante un filtro monocromador para excitar el marcador fluorescente; éste emite luz de una segunda longitud de onda que se selecciona para ver por un segundo filtro monocromador. Ejemplos de EFD son la detección de *Treponema pallidum* en líquido de lesión o detección de complejos inmunes en la glomerulonefritis relacionada con el síndrome de Goodpasture y nefritis del lupus.

Cuando se emplea un marcador fluorescente en el análisis indirecto, éste es *inmunofluorescencia indirecta* (IFI) o un ensayo de inmunofluorescencia indirecto (EIF). El sustrato se coloca en una placa de microscopio, se cubre con una capa de suero y se permite que reaccione con el antígeno, y el anticuerpo enlazado se detecta mediante el reactivo de globulina antihumana marcada. La placa se ve con un microscopio de fluorescencia. El EIF más común llevado a cabo en el laboratorio clínico detecta anticuerpos para antígenos nucleares (AAN). Tanto el título como el patrón de fluorescencia proveen información útil para diagnosticar enfermedad tisular conectiva. Otros autoanticuerpos y anticuerpos para enfermedad infecciosa se pueden detectar mediante el EIF.

Inmunofenotipia

Un avance importante y más reciente en la inmunocitoquímica es el uso de un citómetro de flujo para detectar antígenos de superficie intracelulares y celulares. Esta técnica, *inmunofenotipia*, se emplea para clasificar linaje celular e identificar la etapa de maduración de la célula. En particular, la inmunofenotipia ayuda en el diagnóstico de leucemias y linfomas. Diferenciar entre leucemia mielóge-

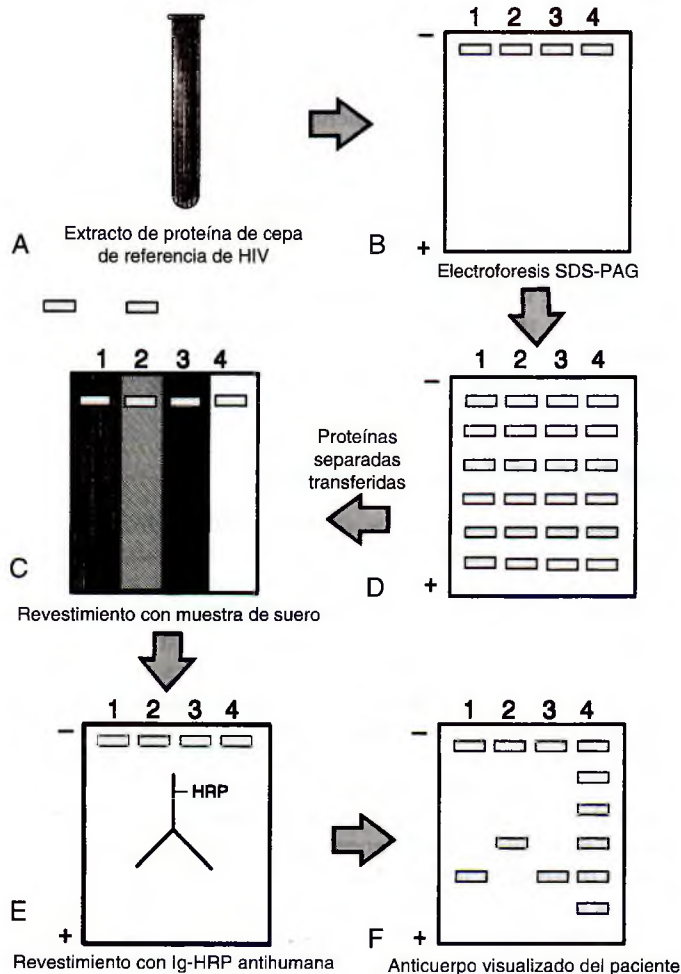


FIGURA 6-12. Inmunotransferencia (*Western blot*) para detectar anticuerpos para antígenos de HIV. (A) Se desestabiliza al HIV y se extrae para generar sus antígenos. (B) Los antígenos de HIV son separados mediante electroforesis en gel de dodecil sulfato de sodio poliacrilamida. (C) Se visualizan los antígenos separados y luego se transfieren a una membrana. (D) Cada carril de la membrana se recubre con un suero de paciente o de control. (E) Después de la incubación y el lavado los carriles se recubren con reactivo de anticuerpo marcado. (F) Se detecta el anticuerpo enlazado marcado.

na aguda y leucemia linfoblástica aguda es difícil, desde el punto de vista morfológico, y requiere más información para identificar las moléculas expresadas fenotípicamente. En las leucemias linfoides y linfomas, la identificación de células tumorales, como linfocitos T o B, puede ser un predictor importante de resultado clínico. Otra aplicación es determinar la relación CD4/CD8 (la relación del número de linfocitos T colaboradores a linfocitos T citotóxicos) y, más reciente, el número absoluto de células positivas CD4. Éste es el método estándar para diagnosticar infección, e iniciar y monitorear el tratamiento aunque la cuantificación de carga viral sea considerada por muchos como un mejor marcador.

La inmunofenotipia comienza con una suspensión de células vivas. Las células pueden provenir de sangre periférica, médula ósea o tejido sólido. Los leucocitos o células mononucleares se pueden aislar por medio de separación de gradiente de densidad (centrifugación por Ficoll-Hypaque) o mediante lisis de eritrocitos. El tejido, como ganglio linfático o médula ósea, requiere eliminación de mecánica de células del tejido para colectar una suspensión de células. Con base en los antecedentes del paciente y el tipo de muestra, se emplea un panel de anticuerpos monoclonales (MAb) marcados con fluorocromo. Los fluorocromos de uso común en inmunofenotipia son isotiocianato de fluoresceína, ficoeritrina, clorofila de peridina, CY-5, alofocianina e isotiocianato de tetrametil rodamina. Una alícuota de la suspensión celular se incuba con uno o más MAb, lo cual depende del diseño del citómetro de flujo. Si la célula expresa el antígeno, entonces el MAb marcado se enlaza y se puede detectar el marcador fluorescente. La *citometría de flujo* se basa en células transportadas bajo presión fluidica pasando una por una por un haz láser. La dispersión de luz directa, la dispersión de luz lateral y la emitida de marcadores fluorescentes se detectan mediante tubos fotomultiplicadores. La dispersión de luz directa se relaciona con el tamaño de la célula, y la dispersión lateral con la granularidad de la célula. Cuando se emplean estos dos parámetros juntos en un diagrama de dispersión (histograma de dos parámetros), la población de células deseada se puede seleccionar por medios electrónicos. En esta población de células se evalúa también la emisión del MAb marcado. Para un solo parámetro, la frecuencia de las células contra la intensidad de fluorescencia (el número de canal) se registra y presenta como un histograma de un solo parámetro. Por otro lado, si se evalúan dos parámetros en la misma celda, se genera un diagrama de dispersión que muestra la expresión de dos antígenos en forma simultánea. Con un panel de MAb, se puede identificar la célula y determinar el número relativo o absoluto de la célula.

Análisis de DNA mediante citometría de flujo

En la citometría de flujo, otro uso del citómetro de flujo es medir el contenido de ácido desoxirribonucleico (DNA) nuclear y la capacidad proliferativa de las células malignas. Esto ayuda a distinguir entre enfermedad benigna y maligna, para vigilar el avance de la enfermedad y predecir la respuesta al tratamiento. Las células normales en reposo

están en la fase G_0 y G_1 del ciclo celular, y el contenido de DNA nuclear son dos conjuntos de 23 cromosomas, conocido como *diploide*. Cuando una célula se prepara para la replicación, se sintetiza DNA (fase S) y el contenido de DNA es *aneuploide*. Siguen la mitosis (fase M) y la división celular. El estado de ploidía reflejado en el *índice de DNA* (*DNA index*, *DI*) compara la cantidad de DNA medido en las células tumorales con el de las células normales (ecuación 6-7):

$$DI = \frac{\text{número de canales máximo del pico aneuploide } G_0/G_1}{\text{número de canales máximo del pico diploide } G_0/G_1}$$

(Ec. 6-7)

Si se midieran las células diploides normales, entonces el DI es uno. Si el DI no es uno, entonces las células son aneuploides. Si el DI es menor que uno, las células son hipodiploides; a la inversa, un DI mayor que uno es hiperploidie. El porcentaje de células en la fase S se determina también y por lo regular es menor que 5%.

Es posible emplear células nuevas fijadas en alcohol o células rehidratadas removidas de un bloque de parafina. Las células se tratan con un detergente para permitir que la tinción entre al núcleo. Las tinciones, como el yoduro de piridinio o el de etidinio, intercalan el DNA, y la fluorescencia se mide con el citómetro de flujo. El contenido de DNA se relaciona con la intensidad de fluorescencia (número de canales). Medir el DI y el porcentaje de células de la fase S son indicadores de pronóstico en cáncer de mama, ovario, vejiga y colorrectal.

SONDAS DE ÁCIDO NUCLEICO

El examen molecular es un área en rápida expansión en el laboratorio clínico. Los laboratorios de investigación han empleado estas técnicas durante muchos años; sin embargo, es reciente el desarrollo de los estudios aprobados por la FDA para la detección y cuantificación de DNA y RNA en muestras químicas. Asuntos de calidad importantes que se atenderán en cualquier estudio clínico basado en DNA son la calidad y preparación de la muestra, sensibilidad de los reactivos a contaminantes inactivadores, sesgo de la amplificación y variabilidad, selección de controles apropiados, desempeño de la enzima de restricción, y reproducibilidad y contaminación cruzada de reacciones de amplificación.³¹ Los ácidos nucleicos almacenan toda la información genética y dirigen la síntesis de proteínas específicas. Al evaluar ácidos nucleicos, se podría intentar comprender mejor los cambios celulares antes de poder detectar productos proteínicos específicos. Las enfermedades con base genética, presencia de organismos infecciosos, diferencias entre individuos para propósitos forenses y de trasplantes y la regulación del crecimiento celular alterado son áreas que han sido investigadas con hibridación de ácido nucleico. El avance más reciente es el uso de sistemas moleculares (hasta 10^5 a 10^6 sondas por sistema) para análisis de alta velocidad de ligandos múltiples y el análisis de expresión génica.

Química del ácido nucleico

El DNA almacena información genética humana y dicta la secuencia de aminoácidos de péptidos y proteínas. El DNA está compuesto de dos hebras de nucleótidos; cada una es un polímero de moléculas de desoxirribosa unidas mediante enlaces fuertes de 3' 5' fosfodiéster que unen al grupo 3' hidroxilo de un azúcar con el grupo 5' fosfato de un segundo azúcar. Una base de purina o pirimidina está unida también a cada azúcar. Las dos hebras están dispuestas en una hélice doble con las bases apuntando hacia el centro. Las hebras son antiparalelas, de modo que el extremo 3' 5' de una hebra se enlaza con una hebra en la dirección 5' 3'. Debido a que los ésteres de fosfato son ácidos fuertes y se disocian a pH neutro, la hebra tiene una carga negativa que es proporcional a su longitud. Las bases de purina (adenina [A] y timina [T]) y las bases de pirimidina (citocina [C] y guanina [G]) mantienen la doble hélice al formar puentes de hidrógeno entre pares de bases como se muestra en la figura 6-13. La adenina forma pareja con la timina con dos puentes de hidrógeno, y la citosina se junta con la guanina con tres puentes de hidrógeno. Las hebras son complementarias debido a la manera fija mediante la cual se enlazan los pares de bases.

Bajo condiciones fisiológicas, la estructura helicoidal del DNA de doble hebra (dsDNA) es estable debido a los numerosos puentes de hidrógeno, aunque débiles, entre los pares, y la interacción hidrofóbica entre las bases en el centro de la hélice. Sin embargo, los enlaces débiles se pueden romper *in vitro* al cambiar las condiciones ambientales; las hebras se desnaturalizan y separan entre sí. Una vez desnaturalizadas, la carga negativa de cada hebra impide

que una se acerque a la otra. Las dos hebras complementarias se pueden volver a unir o anillar si las condiciones cambian y favorecen esto. La renaturalización seguirá las reglas de la formación de pares de bases de modo que se recupere la molécula original de DNA.

El ácido ribonucleico (RNA) también está presente en las células humanas y es similar al DNA desde el punto de vista químico. El RNA difiere del DNA en tres formas: *a*) la ribosa sustituye a la desoxirribosa como el azúcar; *b*) el uracilo reemplaza a la timina como una purina base, y *c*) el RNA es de una sola hebra. El DNA y el RNA trabajan juntos para sintetizar proteínas. El dsDNA genómico es dividido por enzimas en sus dos hebras, una de las cuales sirve como la plantilla para la síntesis de RNA mensajero complementario (mRNA). Cuando el mRNA se libera de la plantilla de DNA, la hebra de DNA se vuelve a anillar. El mRNA especifica el aminoácido que se añadirá a la cadena de péptido mediante RNA de transferencia, que transporta el aminoácido al ribosoma, donde se prolonga la cadena peptídica.

Esta descripción de síntesis de proteínas remarca que desde el punto de vista fisiológico el DNA se desnaturaliza de forma rutinaria, se une con el RNA y se vuelve a anillar para restablecer el DNA original, siguiendo siempre las reglas de pares de bases. Estos procesos forman la base de los estudios de *hibridación* de ácido nucleico en los que las hebras complementarias de ácido nucleico de fuentes no relacionadas se unen para formar un híbrido o *dúplex*. El examen molecular en el laboratorio clínico consiste en dos áreas principales: *a*) el uso de sondas de DNA para detectar de manera directa o caracterizar un blanco específico, y *b*) el uso de tecnologías de amplificación de ácido nucleico para detectar o caracterizar un DNA o RNA blanco específico. Entre los procedimientos en los que se emplean sondas están los estudios de fase sólida (hibridación de captación, *Southern blot* y *Northern blot*), estudios con base en disolución (estudios de protección, análisis de captación de híbrido) y estudios de hibridación *in situ*. Los procedimientos de amplificación incluyen amplificación de ácido nucleico (reacción en cadena de la polimerasa, amplificación de secuencia con base en ácido nucleico, amplificación mediada por transcripción, amplificación por desplazamiento de hebra), amplificación de sonda (reacción en cadena de la ligasa) y amplificación de señal (ensayo de DNA de cadena ramificada).

Técnicas de hibridación

Una *sonda de ácido nucleico* es una hebra corta de DNA o RNA de una secuencia conocida que está bien caracterizada y es complementaria para la secuencia base en el blanco de prueba. Las sondas pueden ser fragmentos de ácidos nucleicos genómicos, DNA clonado (o RNA) o DNA sintético. Los ácidos nucleicos genómicos se aíslan de organismos purificados. Algunas sondas son clonadas molecularmente en el huésped bacteriano. Primero, la secuencia de DNA que se empleará como sonda debe ser aislada por medio de endonucleasas de restricción bacterianas para el DNA en una secuencia base específica. La secuencia base deseada (la sonda) se inserta en un vector

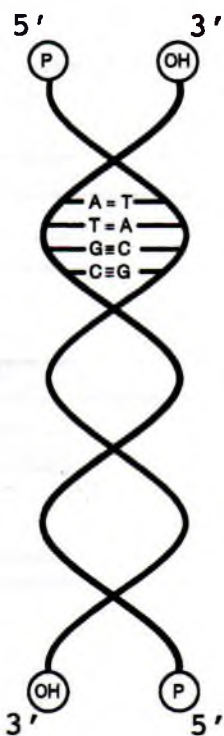


FIGURA 6-13. Representación de una molécula de DNA.

plasmídico, dsDNA circular. El vector con el inserto se incorpora en una célula huésped, como *Escherichia coli*, donde se duplica el vector. La secuencia base deseada duplicada se aísla y purifica. Para fragmentos de DNA cortos, se puede sintetizar una sonda de oligonucleótido por medio de un proceso automatizado; si se conoce la secuencia de aminoácido de la proteína, es posible determinar la secuencia base a partir de la secuencia de aminoácido.

En una reacción de hibridación, la sonda debe ser detectada. La sonda se puede marcar de forma directa con una radionúclido (como ^{32}P), enzima o biotina. ^{32}P se detecta mediante autorradiografía cuando el marcador radiactivo expone la película de rayos X siempre que la sonda esté localizada. Si la sonda se marca de forma directa con una enzima, se debe añadir un sustrato apropiado para generar un producto colorimétrico, fluorescente o quimioluminiscente. Las sondas marcadas con biotina se pueden unir a avidina, que es acomplejada a una enzima (como ALP o HRP); entonces se puede detectar la actividad enzimática. Por otro lado, la sonda biotinilada se puede detectar mediante un reactivo de anticuerpo de avidina marcado.

Las técnicas con sonda que se analizan se listan en el cuadro 6-5. Un método clásico para el análisis de DNA, atribuido a EM Southern,³¹ es la *Southern blot*. En este método, el DNA se extrae de una muestra con un reactivo fenólico y luego se digiere de forma enzimática por medio de endonucleasas de restricción para producir fragmentos de DNA. Estos fragmentos se separan después mediante electroforesis en gel de agarosa. Los fragmentos de DNA se desnaturalizan y transfieren a un medio de soporte sólido; la mayor parte de las veces, nitrocelulosa o una membrana

de nylon con carga. La transferencia ocurre por la acción capilar de una disolución salina, y el DNA se transfiere a la membrana, o bien, se usa corriente eléctrica para transferir el DNA. Cuando el DNA está en la membrana, se añade una sonda que se une con la secuencia base complementaria y aparece como una banda. En un método similar, la *Northern blot*, el RNA experimenta extracción, digestión, electroforesis, transferencia y, por último, sondeo.

La *reacción en cadena de la polimerasa (PCR)* que desarrollo KB Mullis de Cetus Company^{32,33} es una técnica de hibridación amplificada que sintetiza de forma enzimática millones de copias del DNA blanco para incrementar la sensibilidad analítica. La mezcla de reacción de prueba incluye la muestra de DNA (células disueltas o tejido digerido enzimáticamente con RNAasa y proteinasa y extraído después), cebadores de oligonucleótido, polimerasa de DNA termoestable (p. ej., polimerasa *Taq*, de *Thermus aquaticus*) y trifosfatos de nucleótido (ATP, GTP, CTP y TTP) en una disolución amortiguadora. El proceso, mostrado en la figura 6-14, comienza con el calentamiento de

CUADRO 6-5. TÉCNICAS CON SONDA

No amplificada

Southern blot

Northern blot

Hibridación *in situ*

Polimorfismo de la longitud del fragmento de restricción (PLFR)

Amplificación del blanco

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Reacción en cadena de la transcriptasa polimerasa inversa (RT-PCR)

Replicación de secuencia autosostenida (3SR)

Amplificación de sonda

Replicasa Q-beta

Reacción en cadena de la ligasa (LCR)

Amplificación de señal

Múltiples marcadores por sonda

Múltiples sondas por blanco

Sistema de sonda de estratificado doble

Ensayo de DNA ramificado (bDNA)

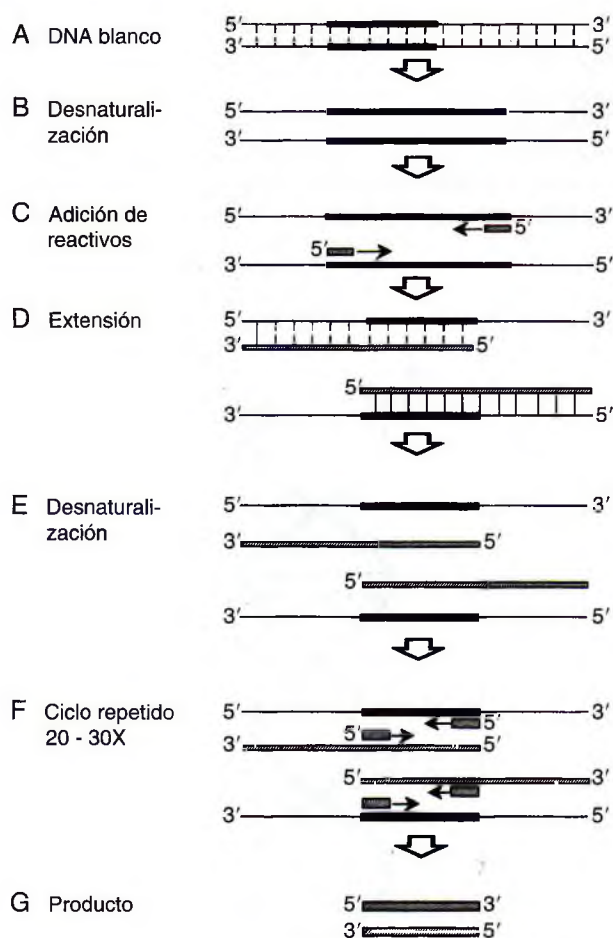


FIGURA 6-14. Reacción en cadena de la polimerasa. (A) La secuencia de DNA blanco se indica mediante la línea en negra; (B) el DNA de doble hebra se desnaturaliza (separa) por calentamiento; (C) se añaden los reactivos, y el cebador se une con la secuencia de DNA blanco; (D) la polimerasa extiende los cebadores, y (E-G) se repiten el calentamiento, anillado del cebador y la extensión.

DNA blanco para desnaturalizarlo, separando las hebras. Dos cebadores de oligonucleótido (sondas) que reconocen los bordes del DNA blanco se añaden y anillan al DNA blanco. La polimerasa de DNA termoestable y los trifosfatos de dinucleótido extienden el cebador. El proceso de desnaturalización por calor, enfriar para permitir que los cebadores anillen y calentar de nuevo para extender los cebadores, se repite muchas veces (15 a 30 veces o más). La PCR es una reacción de amplificación exponencial en la que después de n ciclos hay $(1 + x)^n$ veces la cantidad de blanco que estuvo presente al inicio, donde x es la eficiencia media de la reacción para cada ciclo. En teoría, unos 20 ciclos producirían casi 1 millón de veces la cantidad de DNA blanco presente en un principio. Sin embargo, en realidad, nunca se alcanzan los máximos teóricos, y se requieren más ciclos para alcanzar tales niveles de amplificación.

Las secuencias de DNA blanco amplificadas, conocidas como *amplicones*, se pueden analizar mediante electroforesis en gel, *Southern blot* o con sondas marcadas de modo directo. Cuando el blanco es RNA o mRNA microbiano, el RNA debe ser convertido de forma enzimática a DNA mediante la transcriptasa inversa; el producto, DNA complementario (cDNA), se puede analizar entonces por PCR. Este método se denomina *reacción en cadena de la transcriptasa polimerasa inversa* (RT-PCR). Al principio, la PCR era un ensayo cualitativo, pero se han desarrollado estudios que permiten la cuantificación de amplicones. La RT-PCR cuantitativa se usa para medir cargas virales en pacientes infectados con HIV y hepatitis C. Estos números permiten a los médicos determinar el estado mórbido y evaluar la eficacia de los tratamientos antivirales. La reciente innovación de la PCR es el desarrollo de la RT-PCR de "tiempo real", que permite la medición directa de acumulación de amplicón durante la fase exponencial de la reacción. Dos hallazgos importantes condujeron al descubrimiento de la PCR de tiempo real. Primero, encontrar que la polimerasa *Taq* posee actividad de 5' → 3'-exonucleasa^{34,35}; segundo, la construcción de sondas de oligonucleótido con marcador dual que emiten una señal de fluorescencia sólo en la división, con base en el principio de la *transferencia de energía de resonancia por fluorescencia* (FRET).³⁶ La FRET conlleva la transferencia no radiactiva de energía de una molécula donadora a una molécula aceptora. Los sistemas basados en sonda, como las sondas Taq-Man,³⁷ guías moleculares³⁸ y cebadores Scorpion,³⁹ dependen de la proximidad de los fluoróforos donadores y las moléculas aceptoras de no fluoróforo (supresores) en la sonda no hibridada, de modo que se genera poca señal o ninguna cuando el aceptor extingue la fluorescencia del donador. En la hibridación para el blanco, el fluoróforo y el supresor se separan por cambios conformacionales (guías moleculares y cebadores Scorpion) o división enzimática del fluoróforo desde el supresor como resultado de la actividad de nucleasa 5' a 3' de la polimerasa de *Taq*. La detección en tiempo real ocurre cuando la emisión de fluorescencia de la sonda reportera (impulsada por la acumulación de amplicones) se monitorea ciclo a ciclo. Los resultados están disponibles de inmediato y, lo más impor-

tante, no hay procesamiento de la muestra de posamplificación, así que se reduce la probabilidad de contaminar otras muestras con productos amplificados.

La PCR está limitada por el gasto, la necesidad de contar con termocicladores, posible contaminación con aerosol de una muestra a otra, anillado no específico y grado de tirantez. La rigidez se relaciona con la estabilidad del enlace entre el DNA o RNA blanco y la sonda, y se basa en el grado de correspondencia y la longitud de la sonda. La estabilidad del dúplex es afectada energicamente por la temperatura, pH y fuerza iónica de la disolución de hibridación. En condiciones de baja rigidez (temperatura baja o fuerza iónica incrementada), ocurre un enlace imperfecto.

Se han desarrollado otras técnicas para vencer algunos de estos defectos, para estandarizar métodos de uso en laboratorios clínicos o proveer nuevos métodos patentados. Se ha descrito la amplificación del blanco, la sonda y la señal. El método clásico de amplificación del blanco, PCR, incrementa el número de ácidos nucleicos blanco de modo que se puedan usar sistemas simples de detección de señal. Otro método de amplificación del blanco es la *replicación de secuencia autosostenida* (3SR), que detecta RNA blanco y se relaciona con ciclos isotérmicos continuos de transcripción inversa.^{40,41} Un cebador (polimerasa T7RNA) se une con el RNA y la transcriptasa inversa extiende el cebador anillado. La ribonucleasa H se degrada a RNA y permite que se una el segundo cebador, seguida de la síntesis de las secuencias de cDNA y RNA. El cDNA sirve como plantilla para la producción de múltiples copias de RNA antisentido, que se convierte a cDNA. Así, el ciclo se perpetua por sí mismo.

La *reacción en cadena de la ligasa* (LCR) es una técnica de amplificación de sonda en la que se emplean dos pares de sondas marcadas que son complementarias para dos secuencias de DNA blanco cortas muy próximas.⁴² Después de la hibridación, la ligasa de DNA interpreta la rotura entre los extremos como una mella y une los pares de sondas.

El sistema de replicasa Q-beta utiliza replicasa Q-beta para sintetizar copias adicionales de la secuencia MDV-1 del RNA Q-beta de doble hebra.⁴³ Después que se calienta el DNA o RNA blanco para desnaturalizarlo, se añade una sonda con la secuencia específica de blanco y la secuencia de MDV-1 y se hibrida. Se elimina la sonda no ligada, se añaden la replicasa Q-beta y las bases de ribonucleótido en exceso, y la amplificación sigue.

Los métodos de amplificación de señal están diseñados para incrementarla al aumentar la concentración del marcador. Una sonda puede tener múltiples marcadores unidos, o bien podrían estar marcadas varias sondas cortas complementarias para cada uno de los blancos. Se ha desarrollado un sistema de sonda con doble estratificación en el cual parte de la sonda primaria se une al DNA blanco y otra parte se extiende lejos del DNA blanco. Se añaden sondas secundarias marcadas que hibridan la porción de la sonda primaria, que no está ligada al DNA blanco. Un poderoso sistema de amplificación de señal emplea sondas múltiples. Las sondas primarias múltiples se emplean para

enlazar al DNA blanco. Un brazo de una sonda secundaria puede reconocer un extremo de la sonda primaria; una sonda terciaria marcada con enzima reconoce los otros brazos de la sonda secundaria. El ensayo de DNA ramificado (bDNA) es un ejemplo del último método.⁴⁴

La *hibridación in situ* se lleva a cabo en células, tejido o cromosomas que se fijan en una placa de microscopio.⁴⁵ Después que el DNA se desnaturaliza por calentamiento, se añade una sonda marcada e hibridará la secuencia blanco después de que se enfría la placa. Por lo común se emplean productos colorimétricos o fluorescentes. Una ventaja de este método es el contexto morfológico en el que se considera la localización del DNA blanco.

El *polimorfismo de longitud del fragmento de restricción* (PLFR) es una técnica que evalúa diferencias en las secuencias de DNA genómico.⁴⁶ Esta técnica puede ayudar a establecer la identidad o no identidad en el examen forense o de paternidad, o para identificar un gen relacionado con una enfermedad. El DNA genómico se extrae de una muestra (como leucocitos sanguíneos periféricos) y se purifica y cuantifica. Se añade una endonucleasa de restricción, que rompe las secuencias de DNA en un sitio específico. Si hay una mutación o cambio en el fragmento de DNA, esto podría causar que la longitud del fragmento de DNA difiera de la usual. La transferencia *Southern* se puede usar para identificar las longitudes diferentes de los fragmentos de DNA. Se podría usar una sonda específica marcada para identificar una aberración específica. La PCR se puede usar para amplificar la secuencia de DNA blanco antes del análisis de PLFR.

Aplicaciones de la sonda de ácido nucleico

Las sondas de ácido nucleico se emplean para detectar microorganismos infecciosos; detectar configuraciones de genes, translocaciones cromosómicas o rotura cromosómica; detectar cambios en los oncogenes y factores supresores de tumores; ayudar en el diagnóstico prenatal de una enfermedad heredada o estado portador; identificar marcadores polimórficos empleados para establecer la identidad o no identidad, y para ayudar en la selección de donadores. Las sondas de ácido nucleico son útiles para identificar microorganismos en una muestra de paciente o confirmar un microorganismo aislado en cultivo. En la actualidad se dispone de sondas para confirmar especies de *Mycobacterium*, de *Legionella*, *Salmonella*, cepas de *Escherichia coli* diarreógenas, *Shigella* y especies de *Campylobacter*. También hay sondas para identificar hongos como *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans* e *Histoplasma capsulatum*. La identificación directa de microorganismos en muestras de pacientes incluye *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoea*, citomegalovirus, virus de Epstein-Barr y virus de herpes simple. Además, el examen de carga viral para HIV y el virus de la hepatitis C se detectan por medio de tecnología de sonda.

Los estudios de reconfiguración génica mediante transferencia *Southern* son útiles para distinguir entre linaje de linfocitos T y B.⁴⁷ Asimismo, se ha detectado y monito-

reado la translocación cromosómica relacionada con la mayor parte de los linfomas foliculares no hodgkinianos y ciertos linfomas difusos de grandes células. El cromosoma Filadelfia en la leucemia mielógena crónica se relaciona con la translocación que da como resultado la detección del gen de fusión bcr/abl.⁴⁸

El diagnóstico prenatal de enfermedades genéticas como la anemia drepanocítica, fibrosis quística,⁴⁹ corea de Huntington,⁵⁰ distrofia muscular tipo Duchenne,⁵¹ y la enfermedad de Willebrand ha sido posible con el uso de la tecnología de sondas. Además, se puede determinar el estado portador en la distrofia muscular tipo Duchenne y la enfermedad de Willebrand.

La PCR ha sido utilizada para detectar polimorfismo del complejo principal de histocompatibilidad clases I y II.⁵³ La exactitud incrementada de diferencias de detección en los genes, en vez del producto génico, se ha empleado para mejorar la compatibilidad de trasplante.

Los sistemas moleculares son conjuntos ordenados de moléculas de sonda de DNA únicas unidas a un soporte sólido.⁵⁴ Los sistemas consisten en cientos y cientos de sondas de DNA en lugares determinados con precisión en el sustrato fijo. Los sistemas moleculares se desarrollaron a partir del trabajo de Southern en la década de 1970 que demostró que las sondas de DNA marcadas se podían usar para interrogar a las moléculas de DNA unidas a un soporte sólido.³¹ Los microsistemas se emplean para dos aplicaciones principales, a) determinación de secuencias de DNA y detección de mutación y b) determinación de expresión génica. En la actualidad, Affymetrix, Inc. ha desarrollado GeneChips, microsistemas patentados de alta densidad que contienen 10 000 a 400 000 sondas de DNA cortas, diferentes, en una oblea de vidrio de 1.2 por 1.2 cm. Los GeneChips están disponibles para genotipia de HIV-1,⁵⁵ análisis de mutación de gen supresor tumoral p53 humano, y análisis de mutación de gen p450 citocromo humano, con otros GeneChips actualmente en desarrollo.

RESUMEN

En este capítulo se introdujeron las bases de los inmunoensayos y las técnicas de sonda de ácido nucleico. En todos los inmunoensayos se emplean anticuerpos para detectar analitos blanco. Los inmunoensayos no marcados en gel incluyen métodos para caracterizar proteínas monoclonales e identificar anticuerpos específicos para componentes nucleares. Los inmunoensayos no marcados en la fase soluble se tipifican mediante nefelometría y turbidimetría. Los inmunoensayos marcados han incrementado la sensibilidad analítica. La diversidad de diseños de ensayo, la especificidad mejorada y confiable de anticuerpos monoclonales y la automatización han hecho a los inmunoensayos cada vez más populares en el laboratorio clínico. Los inmunoensayos se describen en términos del marcador utilizado, el método para detectar el marcador, el requisito para realizar la separación (homogénea o heterogénea), el enlace competitivo o no competitivo, y la medición cualitativa o cuantitativa. Las técnicas especializadas en las que se emplean anticuerpos incluyen *inmuno-*

transferencias, inmunocitoquímica, inmunohistoquímica y citometría de flujo.

Las sondas de ácido nucleico, empleadas para detectar secuencias de DNA o RNA en genoma humano, bacteriano o viral, son un grupo diverso de métodos que son muy específicos en condiciones rigurosas. Las técnicas no amplificadas se utilizan por lo general para identificar cambios cualitativos. Las técnicas amplificadas que incrementan la cantidad de ácido nucleico blanco, sonda o señal se emplean para incrementar la sensibilidad analítica.

El futuro de los inmunoensayos y la tecnología de sonda de ácido nucleico será hacer más pruebas de forma simultánea en una sola muestra en un solo recipiente de reacción o en una sola superficie de chip. La capacidad para detectar diferentes marcadores y reconocer moléculas de captación permitirá la detección simultánea de un número exponencial de analitos o secuencias. El análisis múltiple reemplazará al panel de prueba, que ahora consiste en pruebas individuales preformadas por separado.

PREGUNTAS DE REPASO

- La resistencia del enlace entre un antígeno y un anticuerpo se relaciona con:
 - Concentración de antígeno y anticuerpo.
 - Fuente de producción de anticuerpo porque los anticuerpos monoclonales enlazan mejor.
 - Bondad del ajuste entre el epítipo y el F(ab).
 - Especificidad del anticuerpo.
- En la producción de anticuerpo monoclonal, la especificidad del anticuerpo se determina mediante:
 - La línea celular de mieloma.
 - Los linfocitos B sensibilizados.
 - Los linfocitos T sensibilizados.
 - El medio de crecimiento selectivo.
- ¿Cuál método de precipitación inmune no marcado se usa para cuantificar proteína sérica?
 - Difusión doble.
 - Inmunodifusión radial.
 - Contrainmunolectroforesis.
 - Electroforesis de inmunofijación.
- En la electroforesis de inmunofijación, las bandas discretas aparecen en el mismo lugar electroforético; una que reacciona con reactivo de IgA antihumana (específica de cadena α) y la otra que reacciona con reactivo de λ antihumana. Esto se describe mejor como:
 - Una proteína monoclonal IgA λ .
 - Una proteína policlonal IgA λ .
 - Proteínas biclonales de IgA.
 - Reactividad cruzada.
- En la nefelometría, la formación del complejo antígeno-anticuerpo se incrementa en presencia de:
 - Disolución salina de fuerza iónica alta.
 - Disolución salina normal.
 - Polietilenglicol.
 - Complemento.
- En un RIA heterogéneo, competitivo, clásico, para medir T_4 , ¿cuáles enunciados son ciertos y cuáles son falsos?
 - El ensayo requiere un paso de separación.
 - El trazador es T_4 con un radiomarcador.
 - La molécula detectora es anti- T_4 radio-marcado.
 - Cuando se incrementa la concentración de analito en la muestra de prueba, disminuye la concentración de la molécula marcada enlazada.
- ¿Cuál inmunoensayo no homogéneo depende de inhibir la actividad del marcador enzimático cuando se enlaza a reactivo de anticuerpo para eliminar reactivo de separación marcado libre del reactivo marcado enlazado?
 - EMIT.
 - CEDIA.
 - MEIA.
 - ELISA.
- Numere los pasos en una Western blot en el orden de ejecución. El paso 1 es el primer paso en el ensayo.
 - Se aíslan y desnaturalizan los antígenos de proteína.
 - El suero de prueba se incuba con las proteínas.
 - Las proteínas se transfieren a una membrana de nitrocelulosa.
 - Las proteínas se separan mediante SDS-PAGE.
 - Se evalúa el reactivo de antisuero marcado que reaccionó.
- En la citometría de flujo, el portador lateral reacciona con:
 - El contenido de DNA de la célula.
 - La granularidad de la célula.
 - El tamaño de la célula.
 - El número de células en G_0 y G_1 .
- Los reactivos que se requieren para una reacción de PCR son:
 - Polimerasa de DNA termoestable.
 - Desoxirribonucleótidos individuales.
 - Cebadores de oligonucleótido.
 - Polimerasa *Taq*.
 - Todo lo anterior.

11. La técnica de ácido nucleico en la que el RNA se convierte a cDNA, que después se amplifica, se conoce como:
 - a) PCR.
 - b) RT-PCR.
 - c) PLFR.
 - d) Hibridación *in situ*.
- 12-14. Compare el método con la descripción apropiada.
 - _____ 12. *Southern blot*
 - _____ 13. *Northern blot*
 - _____ 14. *Western blot*
 - a) El DNA de doble hebra es el blanco.
 - b) El RNA mensajero es el blanco.
 - c) Las proteínas son el blanco.

REFERENCIAS

1. Sheehan C. An overview of antigen-antibody interaction and its detection. In: Sheehan C, ed. *Clinical Immunology: Principles and Laboratory Diagnosis*, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997:109.
2. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975;256:495.
3. Ouchterlony O. Antigen-antibody reactions in gel. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1949;26:507.
4. Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry* 1965;2:235.
5. Fahey JL, McKelvey EM. Quantitative determination of serum immunoglobulins in antibody-agar plates. *J Immunol* 1965;98:84.
6. Grabar P, Burtin P. *Immunoelectrophoresis*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, 1964.
7. Alper CC, Johnson AM. Immunofixation electrophoresis: a technique for the study of protein polymorphism. *Vox Sang* 1969;17:445.
8. Laurell CB. Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Anal Biochem* 1966;15:45.
9. Laurell CB. Electroimmunoassay. *Scand J Clin Lab Invest* 1972;29(suppl 124):21.
10. Kusnetz J, Mansberg HP. Optical considerations: nephelometry. In: Ritchie RF, ed. *Automated Immunoanalysis. Part 1*. New York: Marcel Dekker, 1978.
11. Engvall E, Perlmann P. *Immunochemistry* 1971;8:871.
12. Van Weemen BK, Schuur AHWM. Immunoassay using antigen-enzyme conjugates. *FEBS Lett* 1971;15:232.
13. Nakamura RM, Bylund DJ. Fluorescence immunoassays. In: Rose NR, deMascario EC, Folds JD, Lane HC, Nakamura RM, eds. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 5th ed. Washington, D.C.: ASM Press 1997;39.
14. Diamandis EP, Evangelista A, Pollack A, et al. Time-resolved fluoroimmunoassays with europium chelates as labels. *Am Clin Lab* 1989;8(8):26.
15. Kricka LJ. Chemiluminescent and bioluminescent techniques. *Clin Chem* 1991;37:1472.
16. Kricka LJ. Selected strategies for improving sensitivity and reliability of immunoassays. *Clin Chem* 1994;40:347.
17. Bronstein I, Juo RR, Voyta JC. Novel chemiluminescent adamantyl 1,2-dioxetane enzyme substrates. In: Stanley PE, Kricka LJ, eds. *Bioluminescence and Chemiluminescence: Current Status*. Chichester, England: Wiley, 1991;73.
18. Edwards B, Sparks A, Voyta JC, et al. In: Campbell AK, Kricka LJ, Stanley PE, eds. *Bioluminescence and Chemiluminescence: Fundamentals and Applied Aspects*. Chichester, England: Wiley, 1994.
19. Litchfield WJ. Shell-core particles for the turbidimetric immunoassays. In: Ngo TT, ed. *Nonisotopic Immunoassay*. New York: Plenum Press, 1988.
20. Rubenstein KE, Schneider RS, Ullman EF. "Homogeneous" enzyme immunoassay. A new immunochemical technique. *Biochem Biophys Res Commun* 1972;47:846.
21. Henderson DR, Freidman SB, Harris JD, et al. CEDIA, a new homogeneous immunoassay system. *Clin Chem* 1986;32:1637.
22. Ullman EF, Schwartzberg M, Rubinstein KD. Fluorescent excitation transfer assay: a general method for determination of antigen. *J Biol Chem* 1976;251:4172.
23. Dandliker WB, Dandliker BJ, Levison SA, et al. Fluorescence methods for measuring reaction equilibria and kinetics. *Methods Enzymol* 1978;48:380.
24. Dandliker WB, Kelly RJ, Dandliker BJ, et al. Fluorescence polarization immunoassay: theory and experimental methods. *Immunochemistry* 1973;10:219.
25. Diamandis EP. Immunoassays with time-resolved fluorescence spectroscopy: principles and applications. *Clin Biochem* 1988;21:139.
26. Yalow RS, Berson SA. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J Clin Invest* 1960;39:1157.
27. Valkirs GE, Barton R. ImmunoConcentration: a new format for solid-phase immunoassays. *Clin Chem* 1985;31:1427.
28. Rubenstein AS, Hostler RD, White CC, et al. Particle entrapment: application to ICON immunoassay. *Clin Chem* 1986;32:1072.
29. Zuk RF, Ginsberg VK, Houts T, et al. Enzyme immunochemistry: a quantitative immunoassay requiring no instrumentation. *Clin Chem* 1985;31:1144.
30. Harbeck RJ, Teague J, Crossen GR, et al. Novel, rapid optical immunoassay technique for detection of group A streptococci from pharyngeal specimens: comparison with standard culture methods. *J Clin Microbiol* 1993;31:839.
31. Southern EM. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* 1975;98:503.
32. Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 1987;155:335.
33. Mullis KB. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am* 1990;262:56.
34. Foy CA, Parkes HC. Emerging homogenous DNA-based technologies in the clinical laboratory. *Clin Chem* 2001;47(6):990.
35. Holland PA, Abramson RD, Watson R, Gelfand DH. Detection of specific polymerase chain reaction by utilizing the 5' to 3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:7276.
36. Szollosi J, Damjanovich S, Matyus L. Application of fluorescence resonance energy transfer in the clinical laboratory: routine and research. *Cytometry* 1998;15:159.
37. Livak K, Flood S, Marmaro J, Giusti W, Deetz K. Oligonucleotides with fluorescent dyes at opposite ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR product and nucleic acid hybridization. *PCR Meth Appl* 1995;4:357.

38. Tyagi S, and Kramer F. Molecular Beacons: probes that fluoresce upon hybridization. *Nat Biotechnol* 1996;14:303.
39. Whicombe D, Theaker J, Guy S, Brown T, Little S. Detection of PCR products using self-probing amplicons and fluorescence. *Nat Biotechnol* 1999;17:804.
40. Guatelli JC, Whitfield KM, Kwoh DY, et al. Isothermal in vitro amplification of nucleic acids by a multienzyme reaction modeled after retroviral replication. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:1874.
41. Fahy E, Kwoh DY, Gingeras TR. Self-sustained sequence replication (3SR): an isothermal transcription-based amplification system alternative to PCR. *PCR Meth Appl* 1991;1:25.
42. Barany E. Genetic disease detection and DNA amplification using cloned thermostable ligase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:189.
43. Klinger JD, Pritchard CG. Amplified probe-based assay: possibilities and challenges in clinical microbiology. *Clin Microbiol Newsletter* 1990;12:133.
44. Wiedbrauk DL. Molecular methods for virus detection. *Lab Med* 1992;23:737.
45. Hankin RC. In situ hybridization: principles and applications. *Lab Med* 1992;23:764.
46. Bishop JE, Waldholz M. *Genome*. New York: Simon & Schuster, 1990.
47. Farkas DH. The Southern blot: application to the B- and T-cell gene rearrangement test. *Lab Med* 1992;23:723.
48. Ni H, Blajchman MA. Understanding the polymerase chain reaction. *Transfusion Med Rev* 1994;8:242.
49. Gasparini P, Novelli G, Savoia A, et al. First-trimester prenatal diagnosis of cystic fibrosis using the polymerase chain reaction: report of eight cases. *Prenat Diag* 1989;9:349.
50. Thies U, Zuhlke C, Bockel B, et al. Prenatal diagnosis of Huntington's disease (HD): experience with six cases and PCR. *Prenat Diag* 1992;12:1055.
51. Clemens PR, Fenwick RG, Chamberlain JS, et al. Carrier detection and prenatal diagnosis in Duchenne and Becker muscular dystrophy families, using dinucleotide repeat polymorphism. *Am J Hum Genet* 1991;49:951.
52. Peake IR, Bowen D, Bignell P. Family studies and prenatal diagnosis in severe von Willebrand disease by polymerase chain reaction amplification of variable number tandem repeat region of the von Willebrand factor gene. *Blood* 1990;76:555.
53. Erlich H, Tugawan T, Begovich AB, et al. HLA-DR, DQ, and DP typing using PCR amplification and immobilized probes. *Eur J Immunogenet* 1991;18:33.
54. Southern E, Mir K, and Shchepinov M. Molecular interactions on microarrays. *Natl Genet* 1999;21(Suppl):5.
55. Vahey M, Nau ME, Barrick S, et al. Performance of the Affymetrix GeneChip HIV PRT 440 platform for antiretroviral drug resistance genotyping of human immunodeficiency virus type 1 clades and viral isolates with length polymorphisms. *J Clin Microbiol* 1999; 37:2533.

Pruebas en el lugar de la atención

Elizabeth E. Porter

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- ADMINISTRACIÓN Y ESTRUCTURA
 - Licencia y regulación CLIA
 - Personal de apoyo
 - Estandarización
 - Estructura de supervisión
- COMUNICACIÓN
 - Manejo de una petición para PLDA nueva o adicional
 - Selección preliminar de dispositivos o métodos
 - Validación
 - Negociación de contrato
 - Ejecución
- EXAMEN DE APTITUD
- APLICACIONES EN EL LUGAR DE LA ATENCIÓN
 - Determinación de glucosa en el LDA
 - Constituyentes químicos y gases sanguíneos determinados en el LDA
 - Coagulación en el LDA
 - Hematología en el LDA
 - Conectividad en el LDA
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Definir la prueba en el lugar de la atención (PLDA).
- Explicar qué estructura básica se requiere para manejar un programa de PLDA
- Explicar los aspectos generales de poner en práctica una prueba en el lugar de la atención.
- Enunciar los principios básicos en que se sustentan estas aplicaciones comunes de PLDA.
 - Glucosa en el LDA
 - Determinación de componentes químicos y gases sanguíneos en el LDA
 - Coagulación en el LDA
 - Hematología en el LDA
 - Conectividad en el LDA

TÉRMINOS CLAVE

Conectividad
Enmiendas de 1988 de
Mejoramiento del Labo-
ratorio Clínico (CLIA 88)

Estandarización
Mejoramiento del
desempeño

Prueba en el lugar de la
atención (PLDA)
Prueba exenta

Prueba moderadamente
compleja
Prueba muy compleja

El *College of American Pathologists* (CAP) ha definido a la prueba en el lugar de la atención (PLDA) como “las actividades analíticas de examen del paciente proporcionadas dentro de la institución, pero llevadas a cabo fuera de las instalaciones físicas de los laboratorios clínicos”.¹

El personal de enfermería, perfusión o terapia respiratoria o médicos residentes o tratantes pueden llevar a cabo la PLDA. Estos miembros del personal de atención de la salud por lo común no son capacitados de manera específica en ciencia del laboratorio clínico. Los especialistas del laboratorio clínico y de laboratorio profesional están calificados de manera única para apoyar, asistir y proveer supervisión para tal prueba. De ese modo, se mejoran la calidad de los resultados de la PLDA y la de la atención del paciente. Los laboratorios actuales, laboratoristas e instituciones de atención de la salud pueden llevar a cabo esto si:

1. Construyen una **administración y estructura** para apoyar y facilitar la calidad de la PLDA.
2. Mantienen la **base de conocimiento y habilidad** para poner en práctica de manera apropiada la PLDA.
3. Transforman la PLDA preexistente en cumplimiento normativo y producción de resultados de alta calidad para el paciente.

ADMINISTRACIÓN Y ESTRUCTURA

Los componentes esenciales para establecer un programa de PLDA se incluyen en el recuadro 7-1.

Licencia y regulación CLIA

Hay un concepto erróneo de que la PLDA puede estar exenta a veces del organismo de regulación que se aplica al examen llevado a cabo en el laboratorio clínico. Todas las pruebas, sin importar la ubicación, caen dentro del ámbito de las *Enmiendas de 1988 de Mejoramiento del Laboratorio Clínico* (CLIA 88). CLIA 88 es un organismo de regulación federal de Estados Unidos. Históricamente, CLIA 88 se puso en práctica, en parte, como una respuesta al “escándalo” percibido de la prueba de Papanicolaou (pap) de la década de 1980. Ciertos laboratorios clínicos y laboratorios de consultorios tuvieron operaciones de pruebas problemáticas, como falta de documentación y resultados de prueba de mala calidad que originaron ausencia de confianza clínica.

RECUADRO 7-1 ELEMENTOS DEL PROGRAMA PLDA

Licencias CLIA apropiadas
 Agencia de inspección o certificación elegida
 Personal de apoyo
 Estandarización
 Una estructura que define autoridad, responsabilidad y rendición de cuentas
 Comunicación y relaciones interdisciplinarias (redes)

La supervisión y aplicación de CLIA 88 ocurre vía la *Food and Drug Administration* (FDA) y centros para servicios de Medicare y Medicaid (CMS), antes HCFA. CLIA 88 incluye regulaciones de control de calidad y estándares de personal y divide las pruebas en categorías de complejidad básicas.

Las *pruebas exentas* constan de ensayos “simples”. La lista de pruebas exentas original sólo contenía metodologías para nueve analitos; ahora, se incluyen muchos otros analitos. En el cuadro 7-1 se listan las pruebas exentas en la actualidad. Las *pruebas moderadamente complejas* incluyen casi 75% de alrededor de 12000 métodos de prueba. Estas pruebas se realizan según las instrucciones del fabricante sin ninguna modificación, los reactivos se obtienen con facilidad y se requieren pocos pasos de toma de decisión por parte del operador. El 25% restante son métodos de prueba muy complejos. Las *pruebas muy complejas* pueden modificarse en relación con las instrucciones del fabricante o se pueden desarrollar dentro de cada laboratorio, o requerir habilidad y toma de decisiones significativas por parte del operador.

La licencia CLIA se debe ajustar a la prueba que se lleva a cabo (es decir, complejidad apropiada). La institución también debe hacer varias elecciones respecto a la concesión de licencias CLIA. La institución puede optar por efectuar la PLDA bajo la licencia del laboratorio clínico. Por otro lado, se puede obtener una licencia CLIA independiente para la PLDA.

La institución debe decidir qué agencias de inspección y certificación aplicar a su programa de PLDA. Algunas agencias tienen reputación, lo que significa que la acreditación que otorgan estas agencias es aceptable bajo CLIA 88. Éstas son la *Joint Commission on Accreditation of Healthcare Organizations* (JCAHO), el *College of American Pathologists* (CAP) y la *Commission of Office Laboratory Accreditation* (COLA). Todas las instituciones, y en particular las no acreditadas por una agencia reputada, están sujetas a los CMS o inspección estatal de pruebas (cuadro 7-2).

Requisitos para prueba de microscopia realizada por el proveedor (MRP)

La MRP es una subcategoría de prueba de complejidad moderada. Estas pruebas requieren un microscopio. Por lo regular no existen materiales de control de calidad para estas pruebas. En general, las muestras son lábiles y no sobreviven al transporte al laboratorio clínico. El sitio debe tener certificación MRP (al menos). Se puede suponer que para médicos u odontólogos la competencia está dentro del alcance de su especialidad. El personal de nivel medio (es decir, personal que no es médico u odontólogo) debe tener como mínimo un certificado de secundaria, junto con su capacitación y orientación específicas para ejecutar la prueba.

Personal de apoyo

Las siguientes posiciones son útiles para establecer y mantener un programa PLDA de calidad.

- **Director.** Por lo general, la posición la ocupa un investigador con doctorado, maestría, o un doctor en osteopatía o patólogo. Las responsabilidades incluyen

CUADRO 7-1. ANALITOS EXENTOS ACTUALMENTE

NOMBRE DEL ANALITO	NOMBRE DEL ANALITO
Ácido ascórbico, tiras reactivas para orina	Hematócrito
Ácido láctico (lactato)	Hemoglobina glucosilada (HbA1c)
Albumina urinaria	Hemoglobina por sulfato de cobre, no automatizada
Alcohol en la saliva	HGB, instrumento para analito simple con características independientes
Amina	Hormona estimulante del folículo (FSH)
Aminotransferasa de alanina (ALT) (SGPT)	Hormona luteinizante (LH)
Analitos en tiras reactivas o en tableta para orina, no automatizado	Influenza A
Anfetamina	Influenza A/B
Anticuerpo de HIV-1	Influenza B
Anticuerpos de <i>Helicobacter pylori</i>	Instrumento para medir la glucosa (uso autorizado por la FDA/uso en el hogar)
Anticuerpos de la enfermedad de Lyme (<i>Borrelia burgdorferi</i> ABS)	Leucocitos, tiras reactivas para orina
Anticuerpos de mononucleosis infecciosa (MONO)	Metabolito de la cocaína
Antígeno relacionado con tumor de la vejiga	Metanfetamina/anfetamina
Bilirrubina, tiras reactivas para orina	Metanfetaminas
Canabinoide (THC)	Microalbumina
Catalasa, orina	Microhematócrito centrifugado
Cetona en orina	Morfina
Cetona en sangre	Nicotina, o metabolitos, o ambos
Cetona, tiras reactivas para orina	Nitrito, tiras reactivas para orina
Colesterol	N-telopéptidos entrelazados tipo I de colágeno (NTX)
Colesterol de HDL	Opiáceos
Compuestos químicos, tiras reactivas para orina	pH
Creatinina	pH de la vagina
Creatinina, tiras reactivas para orina	pH gástrico
Densidad relativa, tiras reactivas para orina	pH, tiras reactivas para orina
Estreptococo, grupo A	Proteína, tiras reactivas para orina
Etanol (alcohol)	Prueba de ovulación (LH) por comparación visual de color
Fenciclidina (PCP)	Prueba del hebrecho en saliva
Fructosamina	Sangre oculta en el tubo digestivo
Glucosa	Sangre oculta en heces
Glucosa líquida (aprobada por la FDA para uso en el hogar)	Sangre, tiras reactivas para orina
Glucosa, tiras reactivas para orina	Semen
Glucurónido de estrona-3	Tasa de sedimentación eritrocítica, exenta, no automatizada
hCG en la orina	Tiempo de protrombina (PT)
HCG en orina por pruebas visuales por comparación de colores	Triglicéridos
<i>Helicobacter pylori</i>	Urobilinógeno, tiras reactivas para orina

Fuente: www.fda.gov/cdrh/clla. Base de datos actualizada 8/03.

decisiones sobre qué política seguir, administrativas, financieras y técnicas. El director provee vinculación con la administración de alto nivel para la institución de atención de la salud. Un buen director será experto en resolución de problemas, relacionados con cuestiones técnicas e interacciones de personal.

- **Coordinador del LDA (CLDA).** El coordinador del lugar de la atención es responsable de ejecutar y coordinar las pruebas del paciente en el lugar de la atención, y facilitar el cumplimiento de procedimientos y políticas y requisitos administrativos. El CLDA lleva a cabo la revisión en el lugar donde se aplican las pruebas al

CUADRO 7-2. CENTERS FOR MEDICAID SERVICES (CMS) O INSPECCIÓN ESTATAL DE LA PRUEBA

EXENTA	MODERADA	ALTA
Se requiere certificado de exención CLIA.	Se requiere certificado de acreditación.	Se requiere certificado de acreditación.
El personal ha sido capacitado y orientado específicamente para ejecutar la prueba.	El personal tiene capacitación y orientación específicas para llevar a cabo la prueba. Se debe documentar la competencia en forma constante. El personal debe tener por lo menos certificado de bachillerato. Debe haber un director de laboratorio/ asesor técnico/asesor clínico.	El personal tiene capacitación y orientación específicas para llevar a cabo la prueba. Se debe documentar la competencia en forma constante. El personal debe tener por lo menos un grado de licenciatura o equivalente. Debe haber un director de laboratorio/asesor técnico/asesor clínico.
Es necesario apegarse a las instrucciones del fabricante cuando se efectúa la prueba.	Es necesario apegarse a las instrucciones del fabricante al efectuar la prueba. Por lo menos dos niveles de material de control al día. Verificación de la calibración cada seis meses. Prueba de competencia. Normas definidas: manual para el procedimiento, acción correctiva, conservación de registros.	Si las instrucciones del fabricante no se observan, se tienen que cumplir muchos requisitos para validar la prueba. Por lo menos dos niveles de material de control al día. Verificación de la calibración cada seis meses. Prueba de competencia. Normas definidas: manual para el procedimiento, acción correctiva, conservación de registros. Muchas normas rigurosas adicionales, las cuales son difíciles de cumplir fuera del laboratorio clínico. Rara vez ejecutada como PLDA.

paciente, control de calidad y registros de mantenimiento, e informa los problemas e incumplimientos normativos al personal administrativo apropiado. El CLDA facilita y garantiza documentación de capacitación de aptitud y supervisa la terminación de programas de pruebas de capacidad. El CLDA coordina la resolución de problemas para PLDA y provee asistencia de recursos técnicos *in situ* al personal que brinda la atención para resolución de problemas relacionados con el control de calidad y desempeño del instrumento. El CLDA facilita la comunicación entre el personal a cargo de las pruebas en el lugar de la atención y el personal del laboratorio clínico. El CLDA facilita el control de inventario adecuado del lugar de la atención. El CLDA debe exhibir excelentes habilidades de servicios al cliente, como aptitudes de comunicación superiores y buenas habilidades analíticas y de resolución de problemas. También son importantes las aptitudes de administración del tiempo, planificación y organizacionales. Cualquier individuo que busque la posición del CLDA debe poseer motivación propia y no requerir supervisión continua de la administración para asegurar desempeño en el trabajo. El CLDA debe exhibir aptitudes técnicas de alto nivel y tener excelentes habilidades interpersonales.

- **Contactos o instructores designados en departamentos distintos al laboratorio.** Para cada unidad, piso, clínica, que ejecuta la PLDA, es importante tener como contacto una persona o instructor designado. Esta persona facilita en gran medida la eficacia del programa de PLDA y es un

enlace de comunicación entre el CLDA y el personal que ejecuta las pruebas. Asimismo, facilitan las actividades de capacitación y aptitud cuando se emplea un proceso de “capacitar al instructor”. (En el proceso de capacitar al instructor, el coordinador del LDA puede capacitar al contacto o instructor designado, quien después capacita a otro personal del LDA en el departamento.) Esto es útil en particular para cuestiones relacionadas con turnos en horas en las que no se está de servicio y fines de semana.

Estandarización

La estandarización es el uso congruente del mismo instrumento, reactivo o método de prueba para cualquier analito en el sistema de atención de la salud designado. La estandarización produce los siguientes beneficios:

- La comparación de los resultados en ubicaciones produce atención mejorada del paciente. Esto reduce la confusión del médico clínico acerca de la interpretación de resultados de prueba distintos para el mismo analito, sin importar dónde se realizó la prueba.
- Ahorra costos. Casi todos los vendedores negocian los precios con base en volúmenes de prueba. Cuando la estandarización está presente, los volúmenes de prueba serán mayores para el vendedor elegido que si se emplearan varios vendedores. Se pueden lograr ahorros de costo importantes.
- Ahorra tiempo y trabajo. Con la estandarización, hay sólo un método de prueba, en vez de múltiples, para los

que se deben mantener procedimientos, listas de comprobación de capacitación y recertificación, registros en papel y equivalencias.

- Conformidad administrativa de las instalaciones. Los distintos métodos presentes en una sola institución hacen difícil mantener los factores antes mencionados y también casi imposible la conformidad administrativa congruente en relación con la comparación del resultado de prueba.

Estructura de supervisión

Es importante establecer una estructura para las PLDA que defina la autoridad, responsabilidad y rendición de cuentas. Los propósitos de tal estructura son:

- Facilitar el desempeño exacto y a tiempo de las pruebas del paciente cuando se llevan a cabo fuera del laboratorio.
- Facilitar el cumplimiento con las agencias reguladoras (como JCAHO, CAP, CLIA 88).
- Facilitar un proceso de estandarización en las múltiples instalaciones y sitios que llevan a cabo la PLDA, que dé como resultado calidad mejorada de prueba, eficiencia y contención de costos.
- Coordinar y facilitar la comunicación entre el laboratorio, enfermería y vendedores de instrumentos, suministros, reactivos o materiales de control de calidad utilizados en el lugar de la atención.
- Facilitar la educación del personal de PLDA mediante la provisión de materiales para capacitación o recertificación, o ambas cosas.

Los componentes de tal estructura incluyen por lo regular métodos o comités de dirección, o ambos. Este tipo de comités puede supervisar el cumplimiento, la utilización, la selección de métodos o instrumentos, estandarización, cuestiones de procedimiento y decisiones acerca de la expansión o limitación de las pruebas. Estos comités funcionan mejor cuando son multidisciplinarios o son de varios hospitales donde es aplicable (es decir, sistemas de hospitales). Su estructura y función se deben documentar mediante póliza escrita.

COMUNICACIÓN

La estructura descrita antes comprende la porción formal del programa. El trabajo o colaboración en red es la porción informal del programa. La colaboración en red tiene igual importancia para un programa de PLDA completamente funcional y debe ser en las disciplinas (p. ej., laboratorio, enfermería, perfusión, terapia respiratoria). El trabajo en red se facilita cuando el personal cuenta con las habilidades de comunicación y diplomacia, así como cuestiones técnicas. El programa efectivo de PLDA da alta prioridad para construir y mantener relaciones.

Manejo de una petición para PLDA nueva o adicional

Documente la solicitud, de preferencia vía una forma de petición estandarizada. En el recuadro 7-2 se indica cierta

información necesaria. Evalúe la petición con la estructura de programa descrita antes. Podría haber diversas justificaciones clínicas para ejecutar la PLDA. Antes de establecer cualquier prueba, es importante considerar si está disponible alguna prueba en el laboratorio clínico central. Algunas preguntas a considerar son:

- ¿Cuál es el tiempo de respuesta promedio y el costo promedio para pruebas que realiza el laboratorio clínico contra las PLDA?
- Si la PLDA puede reducir el tiempo de respuesta, ¿el tiempo de respuesta más corto dará como resultado un menor tiempo de estancia o mayor satisfacción del cliente?
- ¿El tiempo de respuesta más corto producirá eficiencia operacional mejorada para el departamento?
- ¿Qué otra opción, además del desempeño de la PLDA, existe para alcanzar los objetivos deseados?

Las instituciones deben considerar también otras opciones, como transportar muestras al laboratorio central mediante sistemas de tubos neumáticos, usar “rieles” para transportar muestras, o reestructurar el flujo de trabajo. Es importante determinar si la PLDA puede lograr una relación costo a beneficio favorable. Por ejemplo, si el volumen de prueba esperado es pequeño, podría no ser efectivo en cuanto a costos capacitar personal, mantener y documentar la competencia, comprar reactivos de control de calidad, así como supervisar la prueba.

Selección preliminar de dispositivos o métodos

Haga una selección preliminar del método e instrumentación para efectuar la prueba solicitada. Revisar las distintas opciones que hay en el mercado y limitar la selección a varios métodos o instrumentos. Los criterios para selección podrían incluir la facilidad de uso, costo, menú de prueba, comparación con la instrumentación de laboratorio clínico, compra de contratos de grupo y características de software. El manejo de datos y la conectividad (véase *Conectividad del LDA* en este capítulo) son criterios importantes a considerar, con un énfasis en la capacidad para interconectar los datos producidos mediante el dispositivo LDA.

RECUADRO 7-2 REQUISITOS DE INFORMACIÓN PARA SOLICITAR UNA NUEVA PLDA

- Prueba(s) solicitada(s)
- Objetivo(s)
- ¿Quién ejecuta la prueba?
- Cantidad de pruebas estimada
- ¿Cómo se documentarán o se alimentarán los datos?
- ¿Esta prueba se ejecuta en la actualidad mediante otro método? Si es así, ¿cuáles son los problemas con el método actual?

Realice una investigación bibliográfica para los datos existentes acerca del desempeño del instrumento o el método. La información escrita que proporciona el vendedor puede ser útil, pero se debe comprobar siempre con datos adicionales. También, contacte a otros usuarios para referencias y la posible distribución de validación de datos. Efectúe una validación preliminar, limitada, que incluya una minicorrelación con la instrumentación de su laboratorio clínico. Se puede revisar la información del proveedor de prueba de competencia para el coeficiente de variación (CV) esperado. Los estudios de precisión y linealidad pueden ser útiles sobre una base limitada. En este punto, se debe hacer una selección de método de prueba o instrumento, de preferencia con una estructura de programa LDA descrito con anticipación.

Validación

No se puede dar demasiada importancia a la validación del método. Además de los requisitos administrativos que se deben satisfacer, la validación del método es necesaria para asegurar resultados de prueba confiables que son necesarios para la atención de calidad del paciente. La validación del método incluye lo siguiente (según sea pertinente):

- Exactitud (resultado clínicamente correcto).
- Precisión (mismo resultado clínico repetidas veces).
- Sensibilidad y especificidad, incluso sustancias interferentes (la probabilidad de que una prueba positiva lo sea en realidad y una prueba negativa sea en verdad negativa).
- Alcance y linealidad que es posible informar (límites superior e inferior de la prueba).
- Alcance de referencia (resultados esperados para un individuo normal).
- Correlación de muestra dividida contra método de referencia.

Los métodos y muestras se deben validar también. Lleve a cabo correlaciones de muestra dividida para determinar la concordancia entre la PLDA y los métodos empleados en el laboratorio. Tome en cuenta la variabilidad entre productos de diferentes vendedores. La correspondencia entre la PLDA y el análisis en el laboratorio clínico es más probable si en ambas instalaciones se emplean productos del mismo vendedor. Sin embargo, aun cuando se usa el mismo vendedor, podría haber variación entre diferentes instrumentos. Al llevar a cabo las validaciones, es importante incluir tanto muestras positivas como negativas, o valores altos y bajos para los analitos que serán incluidos en el informe. Además, para obtener resultados más confiables, se debe reducir al mínimo cualquier retraso entre los análisis en el instrumento de laboratorio y el utilizado para la PLDA.

Negociación de contrato

Sólo después que ha sido validado por completo el método de prueba se debe negociar un contrato con el vendedor. La mayor parte de las instituciones tienen departamentos de compra para ayudar con este proceso. Muchas instituciones son también parte de grupos de compra; estos contratos deben ser considerados en el proceso.

Ejecución

Recolección de materiales

Antes de comenzar con la ejecución del proceso se deben reunir los siguientes materiales:

- Manual o manuales del instrumento.
- Instrucciones de empleo para reactivos.
- Instrucciones de empleo para controles de calidad.
- Hoja de datos de seguridad de los materiales (HDSM).
- Procedimiento de muestra del vendedor.
- Materiales de muestra para capacitación obtenidos del vendedor.
- Procedimiento de otra institución para la prueba.
- Estándares normativos o de certificación aplicables (es decir, estándares NCCLS [National Committee for Clinical Laboratory Standards], estándares de laboratorio JCAHO, lista de comprobación del CAP).

Procedimiento o política

El primer paso en el proceso de ejecución es escribir el procedimiento o política para la prueba o método. Inicie con su plantilla de formato de su institución. (Nota: los procedimientos para PLDA con frecuencia deben cumplir con los requisitos de formato de otros departamentos aparte del laboratorio además de satisfacer los requisitos básicos con los que están familiarizados los laboratoristas.) No haga conjeturas acerca del proceso de prueba, sino más bien detalle los pasos requeridos. El nivel de escritura debe ser comprendido por una persona que no sea laboratorista. También se debe seguir el formato NCCLS.

- **Principio.** Expresé de manera breve el tipo de reacción, o reacciones, que está ocurriendo. También es útil incluir la razón clínica para efectuar la prueba.
- **Personal para la prueba.** Describa quién está calificado para llevar a cabo la prueba (categoría de empleo, requisitos de competencia, discriminación de color). Se deben seguir las regulaciones CLIA 88 y las de la agencia de inspección de la institución. Para pruebas exentas, el personal debe tener capacitación específica y orientación para realizar la prueba. Para pruebas moderadamente complejas, el personal debe tener un certificado de educación media, y la administración debe designar las posiciones de director de laboratorio, asesor técnico y asesor clínico. Como siempre, todo esto se debe documentar. Cada institución debe determinar si todo el personal, incluso las enfermeras y los asistentes de enfermería, recibirá capacitación, o si ésta se limitará a ciertas áreas de responsabilidad y aptitudes. Mientras más reducido sea el personal y con mayor frecuencia un miembro del personal realice pruebas, es probable que sea mayor la calidad de la prueba. Sin embargo, también se deben considerar las necesidades de personal y planificación. Podría ser útil pedir que el departamento de enfermería designe instructores (como el método de capacitar al instructor).
- **Muestra.** Incluya requisitos para preparación del paciente, tipo de muestra requerida, requisitos de estabilidad y almacenamiento (o el requisito de analizar de inmediato la muestra), criterios para aceptación de la muestra y consideraciones de manejo.

- **Reactivos, suministros y equipo.** Enumere todos los reactivos requeridos, suministros y equipo. Incluya requisitos de almacenaje y estabilidad, incluso requisitos de fechado y marcado, y cualquier advertencia de seguridad aplicable.
- **Mantenimiento.** Provea las instrucciones para mantener el instrumento, incluida la frecuencia requerida.
- **Potencia.** Describa la fuente de energía para el instrumento (CA contra batería, o ambas). Si se emplean baterías, identifíquelas. Si son aplicables baterías recargables, explique cómo recargarlas.
- **Calibración y comprobación de la calibración.** Identifique los materiales requeridos y la frecuencia requerida.
- **Control de calidad (CC).** Identifique los materiales de CC, frecuencia, el proceso para llevar a cabo el CC, cómo determinar el éxito o fracaso del CC y el procedimiento para solucionar la falla del CC. (Asegúrese de incluir CC del líquido e instrucciones de CC electrónicas cuando sea apropiado.)
- **Procedimiento para examen del paciente.** Escriba las instrucciones detalladas por pasos. No omita los pasos simples con base en la suposición.
- **Alcances de referencia y terapéutico, límites técnicos, valores críticos.** Se deben incluir estos valores (de preferencia en formato de cuadro).
- **Informe de resultados.** Describa en detalle cómo la institución a la que pertenece registrará y dará a conocer los resultados del paciente.
- **Transferencia de datos, documentación electrónica, configuraciones.** Es útil documentar estos asuntos (específicos para su institución) en el procedimiento. Esto servirá como una herramienta de referencia útil y también facilitará la estandarización, en particular en sistemas multihospitales.
- **Limitaciones, notas.** Incluya sustancias interferentes y limitaciones de prueba. Es posible listar precauciones especiales. Se debe incluir información relacionada con posibles fuentes de error, situaciones clínicas que afectan los resultados y aplicaciones clínicas.
- **Examen de aptitud.** Documente los requisitos de examen de aptitud y el proceso.
- **Recepción de reactivos y lote de control:** identifique el proceso a seguir para la recepción de reactivos y controles.
- **Mejoramiento de la calidad (MC).** Describa el proceso de MC de su institución para la prueba o método.
- **Solución de problemas:** explique cómo dar solución a resultados inesperados, errores y problemas de instrumentos.
- **Método alternativo.** Expresé el proceso a seguir si el instrumento o prueba no están disponibles. Para PLDA, esto tiene que ver por lo común con tomar prestado o reemplazar el instrumento o enviar la muestra al laboratorio clínico para análisis.
- **Referencias.** Incluya la información escrita del producto que proporciona el fabricante, referencias de libros utilizados, publicaciones de estándares y cualquier referencia aplicable de artículos científicos.

Lista de comprobación de capacitación

Empiece con su plantilla de lista de comprobación. La lista de comprobación de capacitación debe ser clara y

con detalles suficientes que el instructor no perteneciente al laboratorio recordará para explicar con claridad las cuestiones de capacitación. La lista de comprobación de capacitación debe documentar toda la capacitación del operador. Es más eficaz usar un sistema de dos copias: una para el archivo de educación continua del empleado y otra para la oficina de PLDA.

En la lista de comprobación se deben incluir los siguientes asuntos:

- Procedimiento de lectura.
- Mantenimiento.
- Reactivos.
- Control de calidad.
- Requisitos de muestra.
- Observación directa (efectuar una prueba simulada del paciente).
- Informe de resultados: software o documentación en papel, o ambos, alcances de referencia y crítico.
- Seguridad.
- Información del operador (nombre, número de identificación del operador, piso).
- Firma del instructor.
- Puede complementar con cuestionario.

Lista de comprobación de recertificación

CLIA y otras agencias de certificación también requieren documentación de aptitud de continuidad para personal que lleva a cabo pruebas o recertificación. La lista de comprobación de recertificación puede ser más corta que la lista de comprobación de capacitación. Se debe adaptar o modificar según los problemas observados cuando se realiza la prueba. Espere hasta que la prueba se esté realizando durante un tiempo para poder observar estos problemas.

Crear formas o registros en papel

A menos que el instrumento o prueba tenga documentación o conectividad electrónica completa, las formas de papel serán necesarias para cumplimiento y monitoreo. Podrían ser necesarias algunas, o todas las formas siguientes:

- Registro de control de calidad.
- Registro de pruebas del paciente.
- Registro de problemas o acción correctiva.
- Forma de mejoramiento de la calidad.

La mayor parte de estas formas, si no es que todas, pueden ser eliminadas con una buena conectividad.

EXAMEN DE APTITUD

El examen de aptitud es una parte de la buena práctica de laboratorio que comprueba la capacidad para producir resultados confiables de prueba del paciente. Muchas agencias reguladoras y de certificación también la requieren. Para satisfacer estos objetivos, los pasos siguientes facilitan la organización y documentación:

- Asegúrese de tener una estructura.
- Ordene la prueba apropiada.
- Documente el recibo de envíos de PA.
- Programe la distribución.
- Distribuya al departamento de PLDA.

- Dé a conocer los resultados al proveedor de PA.
- Mantenga la documentación.

Comunicación

Antes de poner en práctica una nueva prueba o método, es importante notificar a todas las partes afectadas y usuarios de la ejecución, como médicos, departamentos de enfermería, administradores y laboratoristas clínicos. La notificación debe incluir una descripción corta de la prueba o método y los usos esperados.

Mantenimiento

Ciertos procesos administrativos deben ser monitoreados para asegurar el cumplimiento normativo y buenas prácticas de laboratorio, incluso:

- Añadir números de serie a su lista de instrumentos.
- Contribuir a su programa para comparaciones y comprobaciones de calibración.
- Agregar suministros y reactivos requeridos a su lista de información de pedido.
- Añadir la prueba a su registro de cuenta de volumen de prueba.
- Agregar la prueba al programa de examen de aptitud.

Mejoramiento del desempeño

Al igual que con todas las pruebas de laboratorio, debe existir un proceso de *mejoramiento del desempeño* (MD) para asegurar la calidad. Entre las cuestiones que se deben monitorear está el control de calidad (CC). ¿Se realizó el CC? ¿Estuvo dentro del alcance aceptable? Es necesario hacer un monitoreo regular de la media y la desviación estándar. Los asuntos de CC son importantes porque el CC evalúa el instrumento, reactivos, operador (persona que lleva a cabo la prueba) y el proceso de prueba. El mismo personal que analiza las muestras del paciente debe ejecutar el CC. Se debe notar que el CC para la PLDA tiene la misma importancia que la prueba de laboratorio clínico. La teoría básica de CC establece que cuando una prueba está funcionando de manera apropiada y con el tiempo se ejecutan muestras de concentración conocida, hay una distribución gaussiana de valores.² No es función de este capítulo describir con detalle el proceso de CC (para más información consulte el capítulo 3, *control de calidad y estadística*).

Se debe observar también el desempeño de monitores no relacionados con el CC. Se debe vigilar la aptitud de las personas que ejecutan la PLDA (es decir, operadores válidos). Es necesario documentar el uso de identificación correcta del paciente al ejecutar la PLDA. Mantenga un registro para asegurar que el mantenimiento del equipo se lleva a cabo de manera apropiada.

El proceso de mejoramiento del desempeño debe incluir comunicación con la unidad o el administrador del LDA, un proceso de acción correctiva y seguimiento claro. Este proceso posibilitará la confianza del operador en los resultados de prueba producidos y la confianza del médico en los resultados de prueba del paciente.

Informe de resultados

Los resultados de prueba del paciente y de control de calidad deben ser documentados. La prueba manual tiene

que ver, por lo general, con documentación en registros en papel, aunque están en desarrollo algunos sistemas electrónicos para registrar pruebas manuales. El registro manual en gráficas de pacientes introduce la posibilidad de errores de transcripción. Los resultados se deben registrar de modo que se cumpla con las regulaciones aplicables, como fecha y hora de la prueba, persona que la realizó, unidades de medición y ámbitos de referencia. Todo esto requiere capacitación y cooperación de los que llevan a cabo las pruebas. En la actualidad, mucho del análisis instrumentado tiene la capacidad de transferencia electrónica a un administrador de datos y, posiblemente, una interfaz para el sistema de información del laboratorio (SIL). Una explicación detallada se da en la sección de Conectividad en el LDA de este capítulo.

APLICACIONES EN EL LUGAR DE LA ATENCIÓN

Determinación de glucosa en el LDA

La determinación de glucosa en el LDA es la prueba de volumen más alto en la mayor parte de las instituciones de atención de la salud. Se emplea con frecuencia para monitorear el nivel de glucosa en pacientes con diabetes, pero se puede usar para otros propósitos. La mayor parte de los medidores de glucosa institucionales actuales utilizados en el LDA incluyen la capacidad para documentar la prueba de forma electrónica. También hay disponibles muchos medidores de glucosa de uso doméstico; la glucosa es la prueba LDA que se emplea con más frecuencia en el hogar.

Una pequeña gota de sangre, la mayor parte de las veces obtenida por punción capilar, se aplica a una tira de prueba. Ocurre una reacción entre la sangre y los reactivos en la tira de prueba. El medidor mide la reacción y la convierte en un resultado cuantitativo. La reacción real varía entre fabricantes.

Constituyentes químicos y gases sanguíneos determinados en el LDA

Varios fabricantes ofrecen instrumentación diseñada para medir constituyentes químicos (la mayor parte de las veces electrolitos) o gases sanguíneos, o ambos, en el LDA. Casi todos operan sobre el principio de medir cambios potenciométricos, amperométricos o conductimétricos vía sensores (electrodos). Esto ha sido realizado mediante sensores no desechables y desechables. Los instrumentos con sensores desechables pueden ser configurados para análisis de varias muestras antes de desecharlos del paquete de reactivo multimuestra, que incluye los sensores así como los reactivos requeridos. Por otro lado, algunos instrumentos LDA emplean un cartucho desechable de una sola muestra que contiene todos los componentes del sistema (reactivos, sensores y recipiente de desechos). En estos dispositivos, el instrumento recibe la transmisión de los sensores como una señal eléctrica y la convierte en un resultado.

Coagulación en el LDA

La prueba de coagulación en el LDA es el tiempo de coagulación activado (TCA). El TCA, que Hattersley describió primero en 1996,³ se emplea para monitorear la terapia de

heparina. Aunque la terapia de heparina es esencial para mantener la hemostasis durante muchos procedimientos médicos, los pacientes pueden variar mucho en su respuesta a la heparina. La sobredosis de heparina puede dar como resultado hemorragia, y una dosis baja de heparina origina la formación de un coágulo de sangre. Esto se puede evitar si se monitorea la terapia de heparina con un TCA.

La coagulación *in vivo* ocurre como resultado de una interacción compleja de componentes vasculares, celulares y no celulares (cascada de coagulación). El TCA provee una medición no específica *in vitro* de los componentes celulares y no celulares del proceso de coagulación.

Los primeros tiempos de coagulación en el LDA se llevaron a cabo mediante la extracción de sangre completa nueva, luego se mezclaba por períodos de forma manual, o se invertía el tubo y se observaba la formación del coágulo. En fechas recientes, la gran variabilidad de este proceso se ha reducido mediante: *a*) la adición de un activador (celita, sílice, caolín o partículas de vidrio), *b*) mantenimiento de una temperatura estable (37°C) durante el proceso de coagulación y medición y *c*) un sistema de agitación mecánica o detección de coágulo. Los instrumentos de coagulación en el LDA más recientes con técnicas de micromuestreo reducen la variabilidad al automatizar más el proceso, y se requiere menos técnica del operador para realizar la prueba. Los instrumentos de coagulación más nuevos utilizados en el LDA efectúan pruebas adicionales, como PT-INR y aPTT.

Hematología en el LDA

En el momento actual, sólo ha estado disponible la PLDA de hematología mínima. En años anteriores, el hematócrito centrifugado era la prueba de hematología más común realizada en el lugar de la atención. En fechas recientes, muchas instituciones están eliminando el hematócrito centrifugado debido a las cuestiones de seguridad y porque la variabilidad en la técnica del operador puede producir variación insignificante en los resultados de prueba. Muchas instituciones emplean en la actualidad un sistema que consiste en cubetas desechables y un analizador. La cavidad de la cubeta contiene reactivos depositados en sus paredes internas que hemolizan a los glóbulos rojos cuando se extrae la muestra de sangre en la cavidad por acción capilar. La hemoglobina liberada se convierte en hemoglobina de azida. La cubeta se coloca en el analizador, donde se mide la absorbancia y se calcula el nivel de hemoglobina.⁴

Conectividad en el LDA

La conectividad ha sido el avance reciente más significativo en la PLDA. Por tradición, los resultados de la PLDA han sido escritos de forma manual en el registro médico del paciente o, en ocasiones, registrados vía una impresión de instrumento que ha sido colocada en el registro médico. La *conectividad* es la capacidad para documentar la prueba de forma electrónica. En general, el instrumento tiene la capacidad de almacenar cierta cantidad de datos. Éste es el segmento de *dispositivo* de la conectividad. Múltiples instrumentos suben los datos vía la red de computadoras hasta una estación de trabajo central. Ésta es la porción de *manejo de*

datos de la conectividad. El siguiente paso en el proceso de conectividad es la transmisión de los resultados de la prueba desde el administrador de datos al sistema de información del laboratorio (SIL). Ésta es la porción de *interfaz* de la conectividad. Existen estándares para la conectividad de la PLDA, conocidos como estándares POCT1-A (*point-of-care testing* 1-A). Los estándares POCT 1-A se aplican a instrumentación (dispositivos), así como a estaciones de trabajo de manejo de datos e interfaces.^{6,7}

Muchos sistemas de conectividad son específicos del vendedor o del instrumento. Sin embargo, los sistemas más complejos recientes manejan los resultados de varios vendedores vía un sistema integrado simple. Esta clase de sistema permite al coordinador del lugar de la atención supervisar la prueba, el CC, los instrumentos y operadores para varios tipos de equipos de una sola estación de trabajo. Algunas ventajas del sistema son:

- La documentación electrónica de los resultados del paciente reduce los errores en la transcripción y asegura que los resultados de prueba del paciente se documenten de manera correcta en el registro médico.
- La documentación electrónica permite un sistema práctico para la facturación por PLDA.
- Las configuraciones de instrumentos estandarizadas se pueden mantener en el sistema.
- Se mejora el cumplimiento normativo.
- Se elimina el registro en papel o se reduce en gran medida.
- Monitorear casi todas las pruebas de modo eficaz en relación con el tiempo da como resultado calidad mejorada.
- Todos los resultados de prueba se pueden ejecutar por una sola interfaz.
- Los operadores para muchos dispositivos distintos de muchos lugares diferentes, junto con su documentación apropiada, se pueden manejar de una manera integrada.

RESUMEN

Las pruebas en el lugar de la atención son las actividades analíticas de examen del paciente provistas dentro de la institución, pero llevadas a cabo fuera de las instalaciones físicas de los laboratorios clínicos. El servicio de calidad para el paciente, así como el cumplimiento normativo, se facilita por la existencia de un programa estructurado de PLDA dentro de la institución. Los laboratoristas pueden proporcionar ayuda y apoyo al personal que realiza las pruebas. Cuando se pone en práctica la PLDA, se deben contemplar varias etapas preparatorias. El resultado final de la atención cuidadosa con estos detalles será un programa de PLDA de calidad que, a su vez, produce resultados de calidad en el examen del paciente.

La PLDA es un área en rápido crecimiento de la medicina de laboratorio. Como se describió en este capítulo, la PLDA proporciona diversas oportunidades para los laboratoristas y otros profesionales de la salud para trabajar de manera coordinada y proveer resultados confiables, congruentes, de alta calidad siempre que se lleve a cabo la prueba.

PREGUNTAS DE REPASO

- De lo que se menciona a continuación, ¿qué no aplica a la prueba exenta?
 - Emplea instrumentos simples.
 - El operador debe mezclar o preparar los reactivos.
 - Se siguen las instrucciones del fabricante.
 - El personal debe tener capacitación específica para realizar la prueba.
- ¿Cuál de las siguientes posiciones no es parte de un programa de PLDA bien organizado?
 - Instructor en el lugar de la atención.
 - Coordinador en el lugar de la atención.
 - Representante del fabricante.
 - Director.
- La información necesaria para determinar si se debe usar la PLDA incluye todo lo siguiente excepto:
 - ¿Quién efectuará la prueba?
 - ¿El coordinador del lugar de la atención se lleva bien con el administrador de la unidad?
 - ¿Cuántas pruebas se efectuarán por mes?
 - ¿Cómo se documentarán los resultados de las pruebas?
- La estandarización produce los siguientes resultados excepto:
 - Menor cantidad de trabajo.
 - Comparación de los resultados de prueba entre lugares separados en el hospital.
 - Mayor costo.
 - Cumplimiento normativo mejorado.
- La validación incluye:
 - Correlación de muestra dividida contra método de referencia.
 - Evaluación de precisión.
 - Comprobación del alcance notificable.
 - Todo lo anterior.
- ¿Cuál de los siguientes enunciados es correcto?
 - Al llevar a cabo validaciones, es importante incluir muestras positivas y negativas para los analitos que se incluirán en el informe.
 - Los resultados de instrumentos aprobados para PLDA siempre tienen una buena correlación con los métodos de laboratorio.
 - La validación no es necesaria para la PLDA porque los métodos de prueba son simples.
 - Las regulaciones no requieren validación de métodos de PLDA.
- La regulación federal con la que deben cumplir las instituciones al poner en práctica un sistema de PLDA es:
 - La *National Accrediting Agency for Clinical Laboratory Science*.
 - Enmiendas de Mejoramiento del Laboratorio Clínico.
 - El *National Committee for Clinical Laboratory Standards*.
 - La *American Society for Clinical Laboratory Science*.
- Llene los siguientes espacios en blanco:
 TCA significa _____.
 Los resultados del TCA se emplean para monitorear la terapia de _____.
 El TCA mide los componentes celulares y no celulares del proceso de _____.
 La automatización encontrada en los instrumentos de coagulación en el LDA reduce la _____ del operador al efectuar la prueba de TCA.

REFERENCIAS

- CAP Commission on Laboratory Accreditation, Laboratory Accreditation Program, Point-of-care Testing Checklist. 2002.
- Basic QC Practices. Madison, WI: Westgard QC, 2002. Available at: www.westgard.com.
- Hattersley P. Activated coagulation time of whole blood. *JAMA* 1966;136:436.
- Hemoglobin data management analyzer operating manual. Mission Viejo, CA: HemoCue, 2003.
- Point-of-care connectivity; approved standard. NCCLS document POCT1-A, Vol. 21, No. 24 (ISBN 1-56238-450-3). Wayne, PA: NCCLS, December 2001.
- 2002-2003 Standards for Pathology and Clinical Laboratory Services. Oakbrook Terrace, IL: Joint Commission on Accreditation of Healthcare Organizations, 2002.
- Price CP, Hicks JM, eds. Point-of-Care Testing. Washington, D.C.: AACC Press, 1999.

II

Correlaciones clínicas y procedimientos analíticos

Aminoácidos y proteínas

Barbara J. Lindsey

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

■ AMINOÁCIDOS

Estructura básica

Metabolismo

Aminoacidopatías

Análisis de aminoácidos

■ PROTEÍNAS

Características generales

Síntesis

Catabolismo y balance de nitrógeno

Clasificación

Función general de las proteínas

Proteínas plasmáticas

Proteínas diversas

Anormalidades de proteína total

Métodos de análisis

Proteínas en otros líquidos corporales

■ RESUMEN

■ PREGUNTAS DE REPASO

■ REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al terminar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Describir las estructuras y propiedades generales de aminoácidos y proteínas, incluso proteínas conjugadas y simples.
- Describir la síntesis de proteínas y el catabolismo.
- Explicar las características generales de las aminoacidopatías, incluso el defecto metabólico en cada una y el procedimiento empleado para la detección.
- Explicar de manera breve la función e importancia clínica de las siguientes proteínas:
 - prealbúmina
 - albúmina
 - α_1 -antitripsina
 - α_1 -fetoproteína
 - haptoglobina
 - ceruloplasmina
 - transferrina
 - fibrinógeno
 - proteína C reactiva
 - inmunoglobulina
 - troponina

- Explicar por lo menos cinco causas generales de concentraciones anormales de proteína sérica.
- Listar los intervalos de referencia para proteína total y albúmina y analizar algunos factores no patológicos que afectan las concentraciones.
- Describir y comparar metodologías empleadas en el análisis de proteína total, albúmina y fraccionamiento de proteína. Incluir las características estructurales o propiedades químicas que son pertinentes a cada medición y el uso clínico de cada una.
- Reconocer y nombrar las fracciones, e interpretar cualquier anomalía en el patrón, y relacionar estos patrones con etapas de enfermedad común dada una exploración densitométrica de una electroforesis de proteína sérica con el método de rutina (cinco zonas).
- Diferenciar los tipos de proteinuria con base en la causa y tipo de proteína encontrada en la orina, y describir el principio de los métodos usados para determinación cualitativa y cuantitativa e identificación de proteínas en la orina.
- Describir las enfermedades relacionadas con alteraciones en proteínas de líquido cefalorraquídeo.

TÉRMINOS CLAVE

Albúmina
Aminoácido
Aminoacidopatías
Anfotérico
Balance de nitrógeno

Desnaturalización
Enlace peptídico
Estructura cuaternaria
Fenilketonuria (PKU)
Globulinas

Hiperproteinemia
Hipoproteinemia
Inmunoglobulina mono-
clonal
Opsonización

Proteína conjugada
Proteína fetal principal
Proteína simple
Proteinuria
Punto isoelectrico (pI)

En 1839, el químico alemán G.J. Mulder estaba investigando las propiedades de una sustancia encontrada en la leche y claras de huevo que se coagulaba con el calor. El científico sueco J.J. Berzelius sugirió a Mulder que estas sustancias se llamaran *proteínas* (de la palabra griega *proteis*, que significa primer rango de importancia) porque sospechaba que podrían ser las más importantes de todas las sustancias biológicas. Mulder pensó que todas las sustancias proteínicas eran lo mismo porque contenían carbono, nitrógeno y azufre. Se encontró que esto no era cierto cuando C. Dumas descubrió que el contenido de nitrógeno variaba un poco en proteína obtenida de fuentes distintas.¹

En la actualidad se sabe que las proteínas son macromoléculas compuestas de polímeros de aminoácidos con enlace covalente, y que participan en todo proceso celular. En este capítulo se analizan las propiedades generales de los aminoácidos y proteínas, las anormalidades relacionadas con cada uno y métodos de análisis.

AMINOÁCIDOS

Estructura básica

Los *aminoácidos* α son biomoléculas pequeñas que contienen por lo menos un grupo amino ($-\text{NH}_2$) y un grupo carboxilo ($-\text{COOH}$) enlazados al carbono α . Difieren entre sí por la composición química de sus grupos R (cadenas laterales). La estructura general de un aminoácido α se ilustra en la figura 8-1. Veinte aminoácidos diferentes se emplean como bloques de construcción para la proteína. Los grupos R encontrados en estos aminoácidos α se muestran en el cuadro 8-1.

Metabolismo

Cerca de la mitad de los 20 aminoácidos que requiere el humano no se pueden sintetizar a una tasa suficientemente rápida para mantener el desarrollo. Estos nueve ami-

noácidos esenciales desde el punto de vista nutricional deben ser aportados en la dieta en la forma de proteínas. En circunstancias normales, las enzimas proteolíticas, como pepsina y tripsina, digieren por completo proteínas de la dieta en sus aminoácidos constituyentes. Entonces los aminoácidos se absorben rápido desde el intestino hacia la sangre portal y después se vuelven parte del grupo corporal de aminoácidos. Otros contribuyentes al grupo de aminoácidos son los recién sintetizados y los que se liberan por la descomposición normal de proteínas corporales.

El grupo de aminoácidos se utiliza sobre todo para la síntesis de proteínas corporales, como proteínas plasmáticas, intracelulares y estructurales. Los aminoácidos se emplean también para la síntesis de compuestos no proteínicos que contienen nitrógeno, como purinas, pirimidinas, porfirinas, creatina, histamina, tiroxina, adrenalina y la coenzima NAD. Además, la proteína provee 12 a 20% del requisito de energía corporal diaria total. El grupo amino se elimina de los aminoácidos por desaminación o transaminación. El cetoácido resultante puede entrar en una vía metabólica común con carbohidratos y grasas. Los aminoácidos que generan precursores de la glucosa, por ejemplo, piruvato o un intermediario del ciclo del ácido nítrico, se conocen como *glucogénicos*. Ejemplos son alanina, que se puede desaminar a piruvato; arginina, que se convierte a cetoglutarato, y aspartato, que se convierte a oxaloacetato. Los aminoácidos que son degradados a acetil-CoA o acetoacetil-CoA, como la leucina o la lisina, se denominan *cetogénicos* porque originan cuerpos cetónicos. Algunos aminoácidos pueden ser cetogénicos o glucogénicos porque algunos de sus átomos de carbono surgen en precursores cetónicos y otros aparecen en posibles precursores de glucosa. En la figura 8-2 se muestran los puntos de entrada de los átomos de carbono de aminoácidos en las vías metabólicas de carbohidratos y grasas. El ion amonio que se produce durante la desaminación de los aminoácidos se convierte en urea en el ciclo de la urea en el hígado.

Aminoacidopatías

Las *aminoacidopatías* son trastornos hereditarios raros del metabolismo de los aminoácidos. Las anormalidades existen en la actividad de una enzima específica en la vía metabólica o en el sistema de transporte de la membrana para aminoácidos. Han sido identificadas más de 100 enfermedades que resultan de errores innatos del metabolismo.

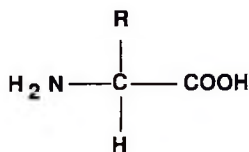


FIGURA 8-1. Estructura general de un aminoácido α .

CUADRO 8-1. AMINOÁCIDOS REQUERIDOS EN LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS

AMINOÁCIDO	R	AMINOÁCIDO	R
Glicina (Gli)	—H	Glutamina (Gln)	$\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—C(=O)—NH}_2$
Alanina (Ala)	—CH ₃	Serina (Ser)	$\text{—CH}_2\text{—OH}$
Valina (Val)*	$\text{—CH(CH}_3\text{)—CH}_3$	Treonina (Tr)*	$\text{—CH(CH}_3\text{)—CH}_2\text{—OH}$
Leucina (Leu)*	$\text{—CH}_2\text{—CH(CH}_3\text{)—CH}_3$	Tirosina (Tir)	$\text{—CH}_2\text{—C}_6\text{H}_4\text{—OH}$
Isoleucina (Ile)*	$\text{—CH(CH}_3\text{)—CH}_2\text{—CH}_3$	Lisina (Lis)*	$\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—NH}_2$
Cisteína (Cis)	—CH ₂ —SH	Arginina (Arg)	$\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—N(H)—C(=NH)—NH}_2$
Metionina (Met)*	$\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—S—CH}_3$	Histidina (His)*	$\text{—CH}_2\text{—C}_5\text{H}_4\text{N—NH}$
Triptófano (Trp)*	$\text{—CH}_2\text{—C}_8\text{H}_6\text{N}$	Aspartato (Asp)	—CH ₂ —COOH
Fenilalanina (Fen)*	$\text{—CH}_2\text{—C}_6\text{H}_5$	Glutamato (Glu)	—CH ₂ —CH ₂ —COOH
Asparagina (Asn)	$\text{—CH}_2\text{—C(=O)—NH}_2$	Prolina (Pro)†	$\text{C}_5\text{H}_7\text{N—COOH}$

El grupo R es el grupo unido al carbono α.

* Esencial nutricionalmente.

† La excepción a la unión α del grupo R es la prolina.

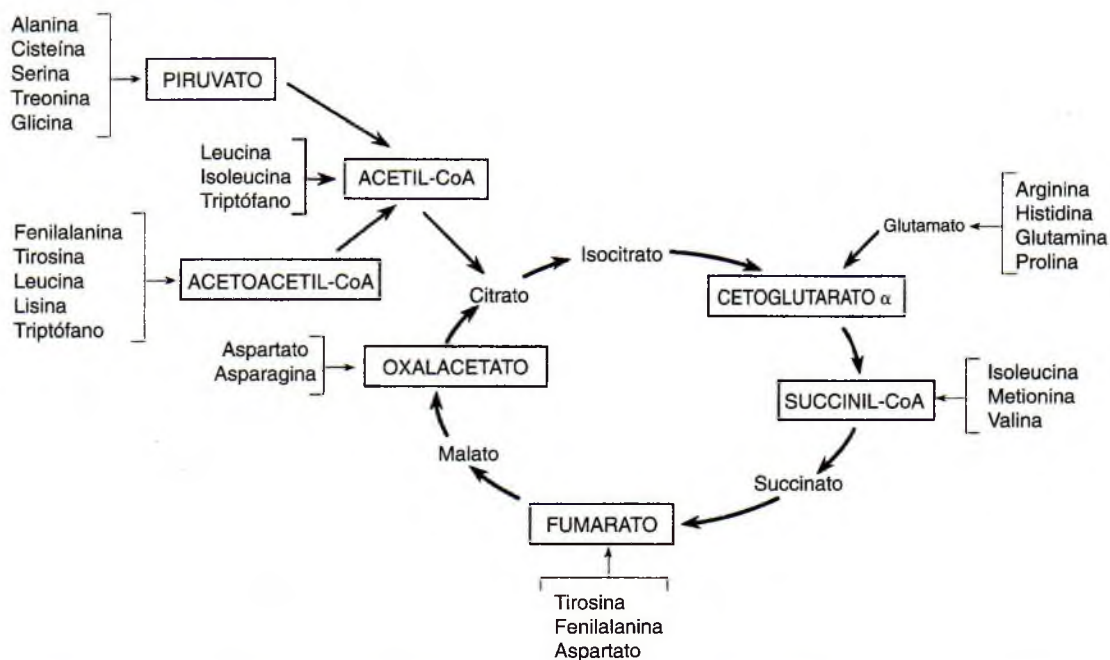


FIGURA 8-2. Conversión de las estructuras de carbono de aminoácidos en piruvato, acetil-CoA o derivados del ciclo del ATA para más catabolismo.

Fenilcetonuria

La *fenilcetonuria* (PKU) es heredada como un rasgo recesivo autosómico y ocurre en casi 1 de 15 000 nacimientos. El efecto autosómico en la forma clásica de PKU es una ausencia casi total de actividad de la enzima hidroxilasa de fenilalanina (PAH) (llamada también fenilalanina-4-monooxigenasa), que cataliza la conversión de fenilalanina a tirosina (fig. 8-3). En ausencia de la enzima, la fenilalanina se acumula hasta concentraciones que pasan de 1 200 $\mu\text{mol/L}$ y se metaboliza mediante una vía degradativa alterna. Los catabolitos son ácido pirúvico, que es el producto de la desaminación de la fenilalanina; ácido feniláctico, que es el producto de reducción del ácido fenilpirúvico; ácido fenilacético, que se produce por descarboxilación y oxidación de ácido fenilpirúvico; y fenilacetilglutamina, que es el conjugado de glutamina del ácido fenilacético. Aunque el ácido fenilpirúvico es el metabolito primario, todos estos compuestos se observan en la sangre y la orina de un paciente fenilcetonúrico, lo que da a la orina un olor a rancio característico. Las variantes de la enfermedad resultan de deficiencias parciales de actividad de PAH y suelen clasificarse como PKU leve si las concentraciones de fenilalanina están entre 600 y 1 200 $\mu\text{mol/L}$ o hiperfenilalaninemia leve no PKU que se presenta con concentraciones de fenilalanina en el intervalo de 180 a 600 $\mu\text{mol/L}$ y sin acumulación adjunta de fenilcetonas.

En infantes y niños con este defecto hereditario, ocurre desarrollo mental retardado como resultado de los efectos tóxicos del fenilpiruvato en el cerebro o unos de sus subproductos metabólicos. El deterioro de la función cerebral comienza en la segunda o tercera semana de vida. El daño cerebral se puede evitar si se detecta la enfermedad en el nacimiento y se mantiene al infante con una dieta que contiene concentraciones muy bajas de fenilalanina. En el pasado, la dieta se terminaba cuando el niño llegaba a los 5 o 6 años de edad. Esto se basaba en la creencia de que, a esa edad, el cerebro ya no era vulnerable a daño por parte de la hiperfenilalaninemia. Sin embargo, se conoce que hay una ligera reducción en el CI después de la discontinuación de la dieta. Los descendientes de mujeres con PKU que no fueron tratadas durante el embarazo, también fueron siempre microcefálicos y con retraso mental. Los efectos fetales de la PKU materna son prevenibles si se mantiene a la madre con una dieta baja en fenilalanina desde antes de la concepción hasta el término. Por estas razones, ahora se recomienda que el paciente PKU continúe con el tratamiento a base de dieta por tiempo indefinido.²

Hay casos de hiperfenilalaninemia, sin embargo, que no responden al tratamiento con dieta. El defecto en este caso es una deficiencia en las enzimas necesarias para la regeneración y síntesis de tetrahidrobiopterina (BH_4). La BH_4 es un cofactor requerido para la hidroxilación enzimática de los aminoácidos fenilalanina, tirosina y triptófano. Una deficiencia de BH_4 da como resultado concentraciones sanguíneas elevadas de fenilalanina y producción deficiente de neurotransmisores de tirosina y triptófano. El examen de las proteínas de la orina es útil en el diagnóstico. Aunque las deficiencias de cofactor explican sólo 1 a 5%

de los casos de concentraciones elevadas de fenilalanina, se deben identificar de modo que se puede iniciar el tratamiento apropiado. Se debe dar a los pacientes un cofactor activo junto con los precursores de neurotransmisor L-DOPA y 5-OH triptófano.³

En la actualidad, todos los estados en EUA han promulgado leyes para exigir el cumplimiento de programas de detección de modo que se puedan tomar medidas terapéuticas oportunas para prevenir la discapacidad y mortalidad resultantes relacionadas con la hiperfenilalaninemia. Un procedimiento de detección común es el ensayo de inhibición bacteriana de Guthrie. En esta prueba, las esporas del microorganismo *Bacillus subtilis* se incorporan en una placa de agar que contiene β -tirosilalanina, un antagonista metabólico al desarrollo de *B. subtilis*. En el agar se coloca un disco de papel filtro impregnado con sangre del infante. Si la concentración de fenilalanina en la sangre excede un intervalo de 2 a 4 mg/dl, la fenilalanina contrarresta al antagonista y ocurre el crecimiento bacteriano. Para evitar resultados falsos negativos, debe tener por lo menos 24 horas de haber nacido a fin de asegurar el tiempo adecuado para que se formen las concentraciones de enzimas y aminoácidos. Además, la muestra se debe tomar antes de la administración de antibióticos o transfusión de sangre o productos sanguíneos. Los infantes prematuros pueden mostrar resultados falsos positivos debido a la inmadurez de los sistemas enzimáticos del hígado.

Otro método para la detección de PKU requiere un ensayo microfluorométrico en discos de filtración con sangre seca. Este método produce resultados cuantitativos más que semicuantitativos de la prueba de Guthrie, es más adaptable a automatización y no resulta afectado por la presencia de antibióticos. El procedimiento se basa en la fluorescencia de un complejo formado de fenilalanina-ninhidrina-cobre en presencia de un dipéptido (es decir, L-leucil-L-alanina). La prueba requiere pretratamiento de la muestra de papel filtro con ácido tricloroacético (ATC). El extracto reacciona entonces en una placa de microtítulo con una mezcla de ninhidrina, succinato y leucilalanina en presencia de tartrato de cobre. La fluorescencia de un complejo se mide por medio de longitudes de onda de excitación y transmisión de 360 y 530 nm, respectivamente.⁴

Se debe detectar cualquier resultado positivo en estas pruebas de detección. El método de referencia para fenilalanina sérica cuantitativa es la CLAP; sin embargo, están disponibles tanto métodos fluorométricos como enzimáticos. Los límites normales para concentraciones séricas de fenilalanina para recién nacidos de término varían de 1.2 a 3.4 mg/dl (70 a 200 $\mu\text{mol/L}$).

En fechas recientes, la espectrometría de masas en tándem (MS/MS) se ha empleado en la detección de trastornos hereditarios en recién nacidos. El sistema MS/MS comprende dos espectrómetros de masas tetrapolo separados mediante una cámara de colisión que fragmenta las moléculas. Se eluye la sangre de un disco de papel filtro; luego, el eluato se esterifica con butanol. La muestra obtenida se inyecta en el sistema donde se ioniza con una técnica de ionización "suave" o de baja energía como la

electrodispersión. El primer espectrómetro de masas separa y determina las masas de las distintas moléculas en la muestra y las transmite a la cámara de colisión. Aquí la colisión de las moléculas con un gas inerte bajo presión causa fragmentación. Los fragmentos pasan a un segundo espectrómetro de masas que los separa de acuerdo a masa y carga. La exploración de computadora de los dos espectrómetros de masas relaciona los iones de fragmento con sus iones moleculares originales intactos, y permite la identificación y cuantificación simultáneas de aminoácidos así como de otras moléculas como las acilcarnitinas (que identifican trastornos de ácidos orgánicos y grasos).⁵ Por tanto, se pueden identificar tanto el incremento de fenilalanina como la disminución en las concentraciones de tirosina vistas en la PKU y se puede calcular la relación de fenilalanina a tirosina. Usar la relación entre metabolitos en vez de una concentración individual ha incrementado la especificidad de la medición y disminuido la tasa de falsos positivos para PKU a menos de 0.01%. Además, la sensibilidad del método detecta concentraciones menores de fenilalanina, lo que permite diagnosticar PKU en el primer día de vida. Puesto que MS/MS tiene la capacidad para detectar más de 25 trastornos genéticos distintos con una sola muestra, este método podría reemplazar los diversos procedimientos que se emplean en la actualidad en programas de detección con recién nacidos.

El análisis de orina para ácido fenilpirúvico, aunque no es considerado un procedimiento de detección inicial, se puede emplear para diagnóstico en casos cuestionables y monitoreo de terapia dietética. La prueba, que se podría llevar a cabo mediante tubo o prueba de tira reactiva (Phenistix, Miles Diagnostics, Elkhart, IN), conlleva la reacción de cloruro férrico con ácido fenilpirúvico en orina para producir un color verde.

El diagnóstico prenatal y la detección de estado portador en familias con PKU están disponibles en la actualidad por medio de análisis de ácido desoxirribonucleico (DNA). Por su estructura molecular, la PKU resulta de múltiples mutaciones independientes (más de 400 identificadas) en el lugar de la hidroxilasa de fenilalanina (PAH). El análisis, con PAH cDNA humano clonado como sonda, ha revelado la presencia de numerosos polimorfismos de la longitud del fragmento de restricción en el gen de PAH. Debido a que se ha demostrado que los patrones del fragmento de restricción y el estado morbooso tienen mucha relación en familias PKU, estos polimorfismos se pueden usar para diagnóstico prenatal.⁶ Sin embargo, aunque la mayor parte de las mutaciones de PAH producen fenotipos predecibles, se ha informado de inconsistencias en las que fenotipos de PAH similares produjeron variaciones importantes en el nivel de actividad de la hidroxilasa de fenilalanina.⁷

Tirosemina y trastornos relacionados

Una serie de trastornos metabólicos familiares del catabolismo de tirosina se caracteriza por la excreción de tirosina y catabolitos de tirosina en la orina. Por lo común, la trayectoria principal del metabolismo de la tirosina conlleva la eliminación de un grupo amino mediante la aminotransferasa de tirosina que forma ácido *p*-hidroxifenilpirúvico (APHFP), que se oxida a ácido homogenísico (AHG). El AHG se metaboliza más en una serie de reacciones a fumarato y acetoacetato, como se muestra en la figura 8-3. El defecto en las anomalías de tirosina heredadas es ya sea una deficiencia de aminotransferasa de tirosina, que da como resultado *tirosinemia II*; una deficiencia de oxidasa de ácido 4-hidroxifenilpirúvico, que da lugar a *tirosinemia tipo III*; o, lo que es más común, una deficiencia de hidrolasa de fumarilacetoacetato, FAA, que produce *tirosinemia I*. La hidrolasa de FAA divide al ácido fumarilacetoacético en ácidos fumárico y acetoacético. La ausencia de estas enzimas origina concentraciones anormalmente altas de tirosina y, en algunos casos, incrementos en APHFP y metionina. Las concentraciones altas de tirosina causan daño hepático, lo que podría ser fatal en la infancia, o tiempo después cirrosis y cáncer de hígado. La incidencia de *tirosinemia I* es de alrededor de 1 en 100 000 nacimientos. Los criterios de diagnóstico incluyen una concentración alta de tirosina al usar MS/MS acoplada con

fenilpirúvico (APHFP), que se oxida a ácido homogenísico (AHG). El AHG se metaboliza más en una serie de reacciones a fumarato y acetoacetato, como se muestra en la figura 8-3. El defecto en las anomalías de tirosina heredadas es ya sea una deficiencia de aminotransferasa de tirosina, que da como resultado *tirosinemia II*; una deficiencia de oxidasa de ácido 4-hidroxifenilpirúvico, que da lugar a *tirosinemia tipo III*; o, lo que es más común, una deficiencia de hidrolasa de fumarilacetoacetato, FAA, que produce *tirosinemia I*. La hidrolasa de FAA divide al ácido fumarilacetoacético en ácidos fumárico y acetoacético. La ausencia de estas enzimas origina concentraciones anormalmente altas de tirosina y, en algunos casos, incrementos en APHFP y metionina. Las concentraciones altas de tirosina causan daño hepático, lo que podría ser fatal en la infancia, o tiempo después cirrosis y cáncer de hígado. La incidencia de *tirosinemia I* es de alrededor de 1 en 100 000 nacimientos. Los criterios de diagnóstico incluyen una concentración alta de tirosina al usar MS/MS acoplada con

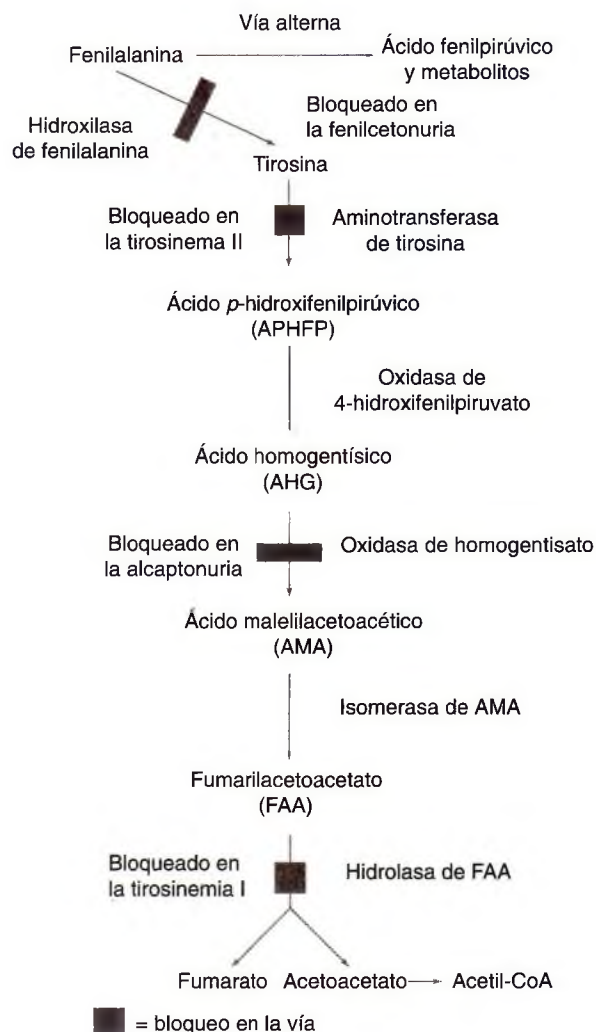


FIGURA 8-3. Metabolismo de la fenilalanina y tirosina.

una prueba confirmatoria para una concentración alta del metabolito anormal succinilacetona.⁵

Alcaptonuria

Este trastorno es de interés histórico considerable en cuanto a que fue uno de los “errores innatos del metabolismo” originales descritos. A comienzos del siglo XX, Archibald Garrod, un pediatra, reconoció que el síndrome, que había sido llamado alcaptonuria, mostraba un patrón de herencia familiar. Él propuso que la alcaptonuria y ciertos trastornos se debían a defectos genéticos, cada uno de los cuales dio como resultado falta de actividad de una enzima metabólica particular.⁸ Cuarenta y cinco años después, se confirmó que el defecto bioquímico en la alcaptonuria es una falta de oxidasa de homgentisato en la trayectoria catabólica de la tirosina (fig. 8-3). Este trastorno ocurre en casi 1 de 250 000 nacimientos. Una manifestación clínica predominante de la alcaptonuria es el oscurecimiento de la orina al exponerla a la atmósfera. Este fenómeno se debe a la acumulación de AHG en la orina, que se oxida para producir un polímero oscuro. Los pacientes alcaptonúricos no tienen problemas inmediatos; sin embargo, la concentración alta de AHG se acumula poco a poco en el tejido conectivo, lo cual causa pigmentación generalizada de estos tejidos (ocronosis) y una degeneración parecida a la artritis.

Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce

Como indica el nombre, la característica más notable de esta enfermedad hereditaria es el olor a jarabe de arce o azúcar quemada característico de la orina, aliento y piel. La *enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce* (EOOJA) resulta de actividad nula, o reducida en gran medida (<2%), de la enzima descarboxilasa de cetoácido α de cadena ramificada, que bloquea el metabolismo normal de los aminoácidos leucina, isoleucina y valina. En particular,

esta enzima cataliza la descarboxilación oxidativa de los cetoácidos α de cadena ramificada a CO_2 y sus tioésteres Acil-CoA correspondientes (fig. 8-4). El resultado de este defecto enzimático es una acumulación de los aminoácidos de cadena ramificada y sus cetoácidos correspondientes en la sangre, orina y líquido cefalorraquídeo (LCR).

Por lo general, los infantes con esta anomalía hereditaria parecen normales al nacer, pero a los 4 a 7 días, presentan letargo, vómito y signos de insuficiencia para crecer. Siguen los síntomas del sistema nervioso central (SNC), que incluyen rigidez muscular, estupor e irregularidades respiratorias. Si no se trata, la enfermedad causa retraso mental grave, convulsiones, acidosis e hipoglucemia. En la forma clásica de la enfermedad, la muerte ocurre por lo regular durante el primer año; sin embargo, se tiene conocimiento de formas intermedias. En estas variantes menos graves, la actividad de la descarboxilasa es casi 25% de lo normal. Aunque esto aún origina una elevación persistente de los aminoácidos de cadena ramificada, con frecuencia las concentraciones se pueden controlar al limitar la ingestión de proteínas de la dieta.

Aunque la incidencia de la EOOJA es baja, se presenta en 1 de 216 000 nacimientos, el diagnóstico oportuno es importante para comenzar el tratamiento dietético. Por tanto, la prueba para EOOJA se incluye en muchas de las detecciones metabólicas requeridas por la ley en ciertos estados. Suele emplearse una prueba de Guthrie modificada para esta detección neonatal. El inhibidor metabólico para *B. subtilis*, incluido en los medios de crecimiento, es 4-azaleucina. En una prueba positiva para EOOJA, una concentración elevada de leucina de un disco de papel filtro impregnado con la sangre del infante superará al inhibidor y ocurre crecimiento bacteriano. Por otro lado, un ensayo microfluorométrico para aminoácidos de cadena ramificada, con deshidrogenasa de leucina (EC 1.4.1.9), se puede usar para la detección de masa. En este proce-

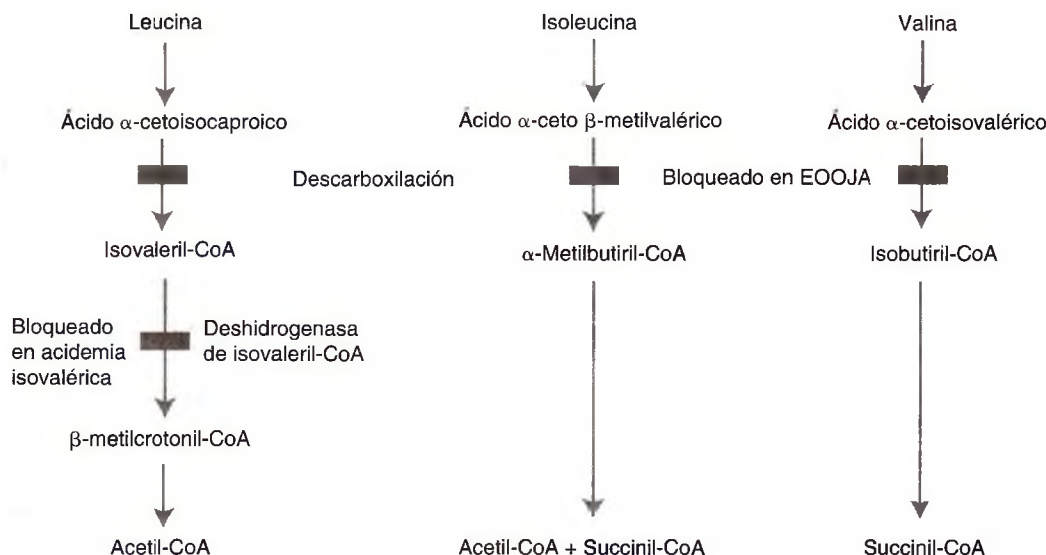


FIGURA 8-4. Metabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada.

dimiento, la muestra en papel filtro se trata con una mezcla disolvente de metanol y acetona para desnaturalizar la hemoglobina. La deshidrogenasa de leucina se añade a una alícuota de este extracto de muestra. La fluorescencia del NADH producido en la reacción posterior se mide a 450 nm, con una longitud de onda de excitación de 360 nm.⁴ Un diagnóstico confirmado se basa en hallar mayores concentraciones plasmáticas y urinarias de los tres aminoácidos de cadena ramificada y sus cetoácidos, con la leucina con la más alta concentración. Una concentración de leucina arriba de 4 mg/dl es indicativa de EOOJA. La presencia de aloisoleucina, un metabolito inusual de la isoleucina, es característica. La medición de leucina y sus metabolitos también es posible con espectrometría de masas en tándem. La EOOJA se puede diagnosticar prenatalmente midiendo la concentración de la enzima descarboxilasa en células cultivadas de líquido amniótico.

Acidemia isovalérica

La acidemia isovalérica resulta de una deficiencia de la enzima deshidrogenasa isovaleril-CoA en la vía degradativa de la leucina (fig. 8-4). La elevación resultante del conjugado de glicina del ácido isovalérico, isovalerilglicina, produce un olor característico a “pies sudorosos”. Las concentraciones anormales de ácidos orgánicos se pueden identificar mediante cromatografía o MS/MS.

Homocistinuria

La homocisteína es un aminoácido intermediario en la síntesis de cisteína a partir de metionina. Esta síntesis se ilustra en la figura 8-5. El caso usual de la enfermedad hereditaria, homocistinuria, es una actividad reducida de la enzima sintasa β de cistationina, que produce concentraciones elevadas en plasma y orina de los precursores homocisteína y metionina. Los recién nacidos no muestran anormalidades, pero los defectos físicos se desarrollan poco a poco con la edad. Los hallazgos clínicos relacionados en la infancia tardía incluyen trombosis que resulta de la toxicidad de la homocisteína para el endotelio vascular; osteoporosis; lentes dislocados en el ojo que resultan de la falta de síntesis de cisteína esencial para la formación de colágeno; y, con frecuencia, retraso mental.

La enzima sintasa β de cistationina requiere vitamina B₆ (piridoxina) como su cofactor. Los defectos genéticos un poco distintos originan dos formas de la enfermedad: una forma que responde a la vitamina B₆, en la que el tratamiento consiste en dosis terapéuticas de vitamina B₆; y una forma que no responde a la vitamina B₆, en la que el tratamiento es una dieta baja en metionina y alta en cistina.

La incidencia de homocistinuria es de alrededor de 1 en 200 000 nacimientos. La detección neonatal se puede llevar a cabo con una prueba de Guthrie usando L-metionina sulfoximina como el inhibidor metabólico. Las concentraciones incrementadas de metionina plasmática de infantes afectados darán como resultado crecimiento bacteriano. Una concentración de metionina mayor que 2 mg/dl con un procedimiento de CLAP confirma resultados positivos en la prueba de detección. Por otro lado, los programas de

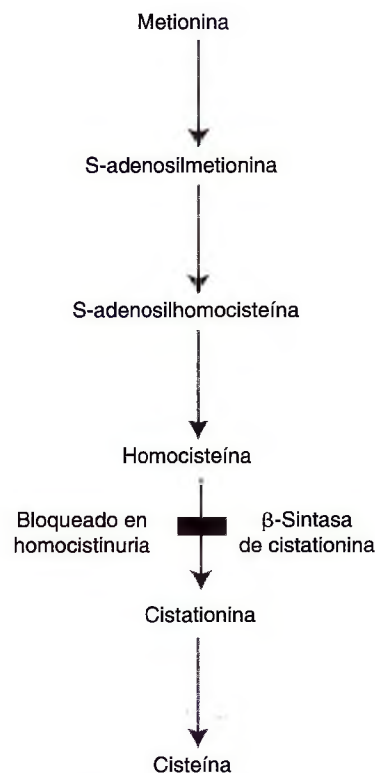


FIGURA 8-5. Síntesis de cisteína.

detección pueden usar MS/MS para probar las concentraciones de metionina. El aumento de homocistina urinaria se puede detectar mediante la prueba de mancha de cianuro-nitroprusiato. El cianuro de sodio reduce a la cistina y la homocistina a sus formas de tiol libre, cistina y homocistina, que pueden reaccionar entonces con nitroprusiato de sodio para producir un color rojo púrpura. Debido a que la cistina también produce un resultado positivo, la presencia de homocistina se debe confirmar con una prueba de nitroprusiato de plata. El nitrato de plata reduce a la homocistina pero no a la cistina, permitiendo que sólo reaccione la homocistina con el nitroprusiato y produzca un color rojizo. La cistina permanece en la forma oxidada, que no reacciona con el nitroprusiato de sodio.

El aumento de las concentraciones de homocisteína también es de interés en la investigación de riesgo cardiovascular. Se encontró que casi 50% de los individuos con homocistinuria no tratada con concentraciones significativamente altas de homocisteína plasmática (200 a 300 $\mu\text{mol/L}$) han experimentado un suceso tromboembólico antes de los 30 años de edad. Además, el aumento leve de la concentración de homocisteína ($>15 \mu\text{mol/L}$) ocurre en 20 a 30% de pacientes con enfermedad aterosclerótica. Además de la deficiencia de sintasa β de cistationina descrita antes, la hiperhomocistinemia puede originarse debido a concentraciones bajas de folato; deficiencia de vitamina B₁₂; disminución de la función renal, y una alteración genética en la enzima reductasa de metilentetrahidrofolato (MTHFR), que convierte al negro de homocisteína en metionina.

Aunque hay evidencia de disfunción endotelial en pacientes con concentraciones altas de homocisteína, hay desacuerdo en cuanto a si la hiperhomocistinemia es un factor causal en el desarrollo de enfermedad aterosclerótica o una consecuencia del proceso de la enfermedad.^{8,9} Una explicación más detallada de los factores de riesgo cardíaco se encuentra en el capítulo 23, *Función cardíaca*.

Aciduria argininosuccínica y citrulinemia

Estos trastornos por aminoácidos resultan de deficiencias enzimáticas hereditarias en el ciclo de la urea. La aciduria argininosuccínica resulta de una deficiencia de liasa de ácido argininosuccínico (AAS), y una disminución en la actividad de la sintetasa de AAS causa citrulinemia. Hay también varios trastornos relacionados causados por deficiencias en las otras enzimas requeridas para síntesis de urea. Los síntomas incluyen vómito y altas concentraciones de amoníaco, y el retraso mental se relaciona con algunas de las condiciones. De manera general, estos trastornos no se incluyeron en los programas de detección en recién nacidos; sin embargo, la tecnología MS/MS ha permitido la medición de los metabolitos. La citrulina es el marcador de diagnóstico para citrulinemia y aciduria argininosuccínica. En la citrulinemia el aumento de la concentración de citrulina es bastante alto; en la aciduria argininosuccínica, el incremento de citrulina es más leve, y en infantes de mayor edad se observan incrementos de ornitina y arginina.⁵

Cistinuria

Esta aminoacidopatía hereditaria se debe a un defecto en el sistema de transporte de aminoácidos y no a una deficiencia enzimática metabólica. Normalmente, los aminoácidos se filtran sin dificultad por el glomérulo y luego son reabsorbidos de forma activa en los túbulos renales proximales. En la cistinuria, la excreción urinaria de cisteína aumenta 20 a 30 veces como resultado de un defecto genético en el mecanismo resorptivo renal. El mecanismo de transporte no es específico para la cistina. La excreción de los otros aminoácidos, lisina, arginina y ornitina, se eleva de modo significativo también como resultado de resorción deficiente.

De los cuatro, la cistina es el aminoácido que causa complicaciones de la enfermedad. Debido a que la cistina es relativamente insoluble, cuando alcanza estas concentraciones altas en la orina, tiende a precipitar en los túbulos de los riñones y forma cálculos urinarios. La formación de cálculos de cistina se reduce si se ingieren muchos líquidos y se alcaliniza la orina, lo que hace a la cistina relativamente más soluble. Si esto no tiene éxito, se puede iniciar el tratamiento con dosis regulares de penicilamina.¹⁰

La cistinuria se puede diagnosticar si se hace un análisis de cisteína de la orina con cianuro-nitroprusiato, que produce un color rojo púrpura al reaccionar con grupos sulfhidrilo. Se deben descartar los resultados falsos positivos debido a la homocistina.

Análisis de aminoácidos

Las muestras para análisis de aminoácidos se deben extraer después de por lo menos 6 a 8 h de ayuno para el

efecto de aminoácidos absorbidos que se originan de proteínas de la dieta. La muestra se colecta en heparina, y el plasma se elimina de las células con prontitud, teniendo cuidado de no aspirar la capa de plaquetas o leucocitos. Si este paso no se efectúa con precaución, el plasma se contamina con plaquetas o aminoácidos de leucocitos, en los que los contenidos de ácido aspártico y glutámico, por ejemplo, son casi 100 veces más altos que en el plasma. Por la misma razón se debe evitar la hemólisis. La desproteinización se debe llevar a cabo de inmediato o se debe almacenar la muestra a una temperatura de -20 a -40°C .

Los análisis de aminoácidos en la orina se pueden efectuar en una muestra aleatoria para propósitos de detección; sin embargo, para cuantificación, se requiere orina de 24 h conservada con timol y disolventes orgánicos. También se puede analizar líquido amniótico.

Para detección preliminar, el método de elección es la cromatografía de capa fina. La aplicación de separaciones de una o dos dimensiones depende del propósito del análisis. Si se está investigando una categoría particular de aminoácidos, como los de cadena ramificada, o incluso un solo aminoácido, suelen ser suficientes las separaciones unidimensionales. Las condiciones de separación se pueden seleccionar de tal manera que ofrezcan buena resolución del aminoácido en cuestión.

Los mapas bidimensionales son esenciales para detección más general. En la cromatografía bidimensional, se permite que los aminoácidos migren a lo largo de un frente de disolvente, y luego se hacen girar 90° al cromatograma y ocurre una segunda migración de disolvente. Se han empleado diversos disolventes, incluso mezclas de butanol-ácido acético-agua y etanol-amoníaco-agua. El cromatograma se ve al teñir con ninhidrina, que da a la mayor parte de los aminoácidos un color azul.

Cuando ha sido indicada la posibilidad de un trastorno por aminoácido en los pasos preliminares, los aminoácidos se pueden separar y cuantificar mediante cromatografía de intercambio catiónico por medio de una elución con disolución amortiguadora en gradiente, un sistema de fase invertida de CLAP equipado con detección de fluorescencia,¹¹ o electroforesis capilar. Otra técnica que provee un método muy específico y sensible para la medición de aminoácidos es la espectrometría de masas en tándem.

PROTEÍNAS

Características generales

Las proteínas son una clase esencial de compuestos que comprenden 50 a 70% del peso en seco de la célula. Las proteínas se encuentran en todas las células del cuerpo, así como en los líquidos, secreciones y excreciones.

Tamaño molecular

Las proteínas biológicamente activas son macromoléculas que varían en peso molecular de casi 6 000 para insulina a varios millones para algunas proteínas estructurales.

ESTUDIO DE CASO 8-1

Un niño de 13 meses de edad fue admitido a un pequeño hospital rural.¹ Su estado de salud ha sido normal hasta hace 10 días, tiempo en el que desarrolló una infección de tracto respiratorio superior. El niño experimentó problemas crecientes con su balance y se volvió letárgico. Estos síntomas llevaron a la madre a buscar atención médica en el hospital donde los resultados pertinentes de laboratorio en la admisión mostraron una concentración de glucosa sérica de 23 mg/dl y cetonas moderadas en la orina y el suero. Se inició un tratamiento con una disolución intravenosa de dextrosa al 5% para corregir la concentración baja de glucosa. Debido a que el cuadro clínico se asemeja al síndrome de Reye, el niño fue transferido a un centro médico para un diagnóstico definitivo. Los resultados de laboratorio

en la admisión al centro médico aparecen en el cuadro 8-1.1 del estudio de caso.

1. Campbell P. Case studies. J Med Tech 1985;2:9.

Preguntas

1. ¿Cuál resultado de laboratorio puede ser útil para descartar el diagnóstico de síndrome de Reye?
2. ¿Qué correlaciones se pueden hacer con el pH de la sangre, PCO_2 de glucosa sérica y hallazgos de cetona en suero y orina?
3. ¿Qué otras pruebas de laboratorio se deben llevar a cabo para comprobar un defecto en el metabolismo de proteínas?

CUADRO 8-1.1. DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO EN LA ADMISIÓN

HEMATOLOGÍA		ANÁLISIS DE ORINA	
Hct	37%	Densidad relativa	1.022
RSC	$128 \times 10^9/\text{L}$	Proteína	Trazas
Bandas	28%	Acetona	3+
Segmentado	46%	Sangre	1+
Linfocitos	21%		
Monocitos	5%		
QUÍMICA (INTERVALO DE REFERENCIA)			
Glucosa	133 mg/dl (65–105)	Fos. alc.	129 U/L (20–70)
NUS	21 mg/dl (7–18)	AST	154 U/L (10–30)
Na	136 mmol/L (136–145)	ALT	133 U/L (8–20)
K	4.3 mmol/L (3.6–5.1)	CK	36 U/L (25–90)
TCO_2	10 mmol/L (23–29)	LD	119 U/L (45–90)
Cl	112 mmol/L (98–106)	Cetona	Moderada
NH_3	48 $\mu\text{mol/L}$ (40–80)		
GASES SANGUÍNEOS ARTERIALES			
pH	7.17		
PCO_2	23 mm Hg		
PO_2	90 mm Hg		

Estructura

Las proteínas comprenden los polímeros de aminoácidos con enlace covalente. Los aminoácidos están enlazados de un modo cabeza a cola; en otras palabras, el grupo carboxilo de un aminoácido se combina con el grupo amino de otro aminoácido (fig. 8-6). Durante esta reacción, se elimina una molécula de agua y el enlace que se crea se llama *enlace peptídico*. El aminoácido que tiene el gru-

po amino libre es el *extremo terminal N*, y el aminoácido que tiene el grupo carboxilo libre es el *extremo terminal C*. Cuando se unen dos aminoácidos, la molécula se llama *dipeptido*; tres aminoácidos se llaman *tripéptido*, y cuatro juntos es un *tetrapeptido*. Cuando aumenta más la cadena, se llama *polipeptido*. En el suero humano, las proteínas promedian cerca de 100 a 150 aminoácidos en la cadena polipeptídica.

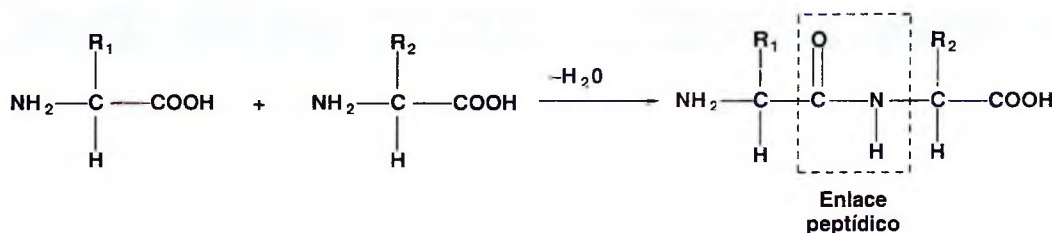


FIGURA 8-6. Formación de un dipéptido.

La conformación (forma) de una proteína se determina por la interacción entre un polipéptido y su ambiente acuoso en el que el polipéptido obtiene una estructura tridimensional estable. Hay cuatro aspectos de la estructura de una proteína que se relacionan con su conformación. El número y clases de aminoácidos, así como su secuencia en la cadena polipeptídica, constituyen la estructura primaria de una proteína. El enlace peptídico covalente es el único tipo de unión que interviene a este nivel. La estructura primaria es crucial para la función y características moleculares de la proteína. Cualquier cambio en la composición del aminoácido puede modificar de forma significativa a la proteína. Por ejemplo, cuando el ácido glutámico sustituye al aminoácido valina en la cadena β de la hemoglobina A, se forma hemoglobina S, que da como resultado anemia drepanocítica.

La estructura secundaria es el enrollamiento de la cadena polipeptídica. El patrón usual que se forma por las proteínas globulares (en su mayor parte proteínas séricas) es una hélice que requiere 3.6 aminoácidos para formar una vuelta en la espiral. Se puede ver también una lámina plegada β o un patrón irregular pero estable. La estructura secundaria se mantiene mediante puentes de hidrógeno entre los grupos NH y CO de los enlaces peptídicos, ya sea dentro de la misma cadena o entre cadenas diferentes en la misma molécula. En la figura 8-7 se muestra el esquema de una estructura secundaria.

El siguiente nivel de estructura, la estructura terciaria, se refiere a la forma en la cual la cadena torcida se dobla

hacia atrás sobre sí misma para formar la estructura tridimensional. Las convoluciones específicas que experimenta un polipéptido se determinan por interacción de los grupos R en la molécula. Las reacciones de los grupos R incluyen enlaces de disulfuro, atracciones electrostáticas, puentes de hidrógeno, interacciones hidrófobas y fuerzas de van der Waals. A la estructura terciaria se deben muchas de las propiedades físicas y químicas de la proteína.

Además de estos primeros tres niveles que pueden existir en las moléculas que comprenden una sola cadena peptídica, algunas proteínas muestran un cuarto nivel de organización llamado *estructura cuaternaria*. Ésta es la configuración de dos o más cadenas polipeptídicas para formar una molécula de proteína funcional. La albúmina, que está compuesta de una sola cadena polipeptídica, no tendría estructura cuaternaria. Sin embargo, la hemoglobina comprende cuatro cadenas de globina, la deshidrogenasa de lactato consta de cinco cadenas peptídicas y la cinasa de creatina tiene dos cadenas unidas. Las cadenas polipeptídicas están unidas por atracciones no covalentes como los puentes de hidrógeno o las interacciones electrostáticas.

Cuando se perturba la estructura secundaria, terciaria o cuaternaria de una proteína, ésta puede perder sus características funcionales y moleculares. Esta pérdida de su carácter original se llama *desnaturalización*. El calor, hidrólisis mediante ácido fuerte o álcali, acción enzimática, exposición a urea u otras sustancias, o exposición a luz ultravioleta, causan desnaturalización.

Contenido de nitrógeno

Las proteínas comprenden los elementos carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno y azufre. El contenido de nitrógeno es el que separa a las proteínas de los carbohidratos y lípidos puros, que no contienen átomos de nitrógeno. Varía un poco el contenido de nitrógeno de proteínas séricas; el promedio es de alrededor de 16%. Esta característica se usó en un método de medición de proteína total.

Carga y punto isoelectrónico

Debido a su composición de aminoácidos, las proteínas pueden llevar cargas positivas o negativas (es decir, son *anfotéricas*). Los grupos reactivos ácidos o básicos que no intervienen en el enlace peptídico pueden existir en diferentes formas cargadas, lo cual depende del pH del medio circundante. El ácido aspártico y la lisina son ejemplos de aminoácidos que tienen grupos carboxilo o amino libres, respectivamente (cuadro 8-1). En la figura 8-8 se mues-

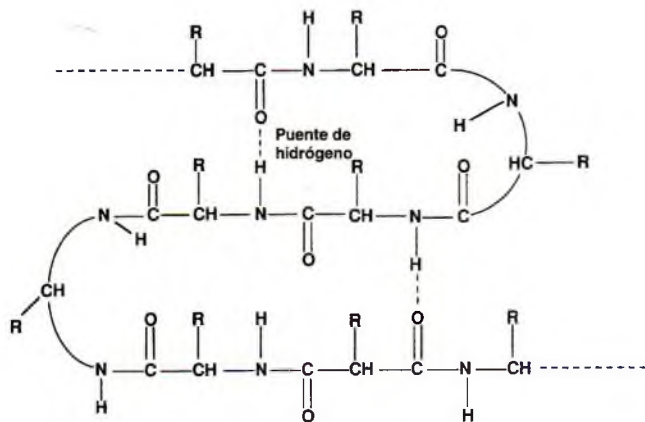


FIGURA 8-7. Estructura secundaria de proteínas.

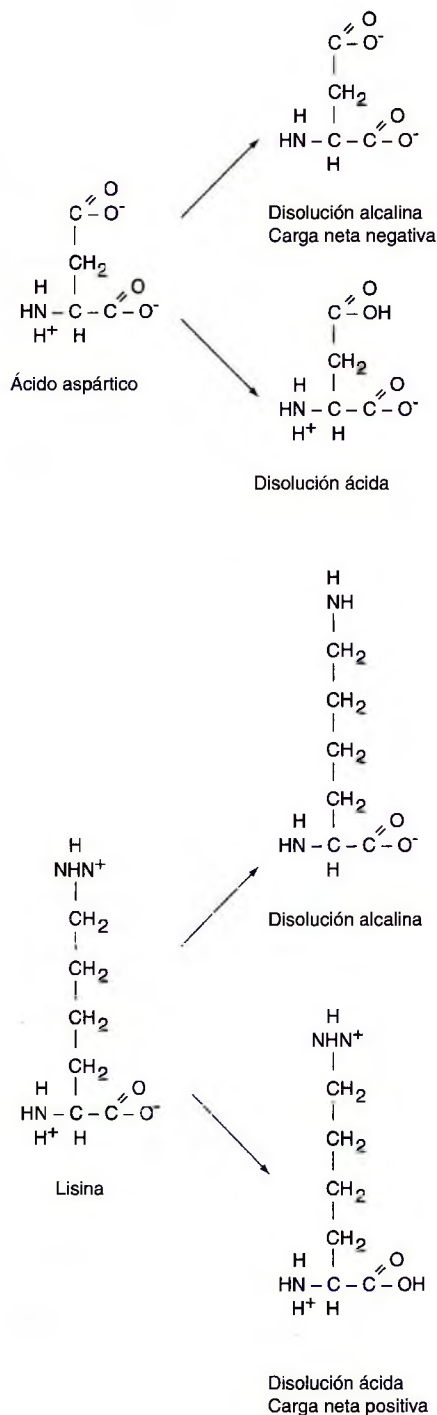


FIGURA 8-8. Estados cargados de aminoácidos.

tran estos dos aminoácidos y las cargas que tendrían en disoluciones que son alcalinas o ácidas.

A un pH de 2.98, el ácido L-aspártico no tiene carga neta (igual o ninguna ionización de los grupos amino y carboxilo); mientras que a un pH alcalino (pH, 9.47), el ácido aspártico tiene una carga negativa neta. La L-lisina no tiene carga neta a un pH de 9.47 pero, en un ambiente

ácido, la ganancia de protones da como resultado una carga neta positiva. El pH al que un aminoácido o proteína no tiene carga neta se conoce como *punto isoeléctrico* (*pI*). En otras palabras, para una proteína que comprende varios aminoácidos, el *pI* es el punto en el que la cantidad de grupos con carga positiva es igual a la cantidad de grupos con carga negativa; a un pH menor que el *pI*, la proteína tendrá carga positiva. Las proteínas difieren en el número y tipo de aminoácidos constituyentes; difieren también en sus valores de *pI*. Por ejemplo, la albúmina tiene un *pI* de 4.9. Los valores de *pI* de algunas proteínas séricas están en el cuadro 8-2. Como resultado de los diferentes valores de *pI*, las proteínas llevarán cargas netas diferentes a algún pH especificado. Esta diferencia en la magnitud de la carga es la base de varios procedimientos para separar y cuantificar proteínas, como la electroforesis. El procedimiento se analiza después en este capítulo.

Solubilidad

Las proteínas en disolución acuosa se hinchan y encierran agua. Natelson y Natelson¹ han aconsejado que, por esta razón, es necesario al reconstituir suero liofilizado mezclar con suavidad el vial reconstituido durante por lo menos 30 min para completar el proceso de hinchamiento. Las disoluciones de proteína son *emulsiones coloidales* o *micelas* porque están cargadas o porque cada molécula de proteína tiene una envoltura de agua alrededor.

La solubilidad de las proteínas es promovida por un carácter dieléctrico alto del disolvente y alta concentración del agua libre. Así, las concentraciones bajas de sal (0.1 M) se han empleado para *aumentar la solubilidad* de las globulinas en disolución. Cuando se reduce la naturaleza dieléctrica o la cantidad de agua libre, las cargas en la proteína promueven la agregación. En una concentración alta de sal (~2 M), las sales iónicas compiten con la proteína por el agua y, por tanto, disminuye la cantidad de agua disponible para hidratación de la proteína. La precipitación resultante de las globulinas se llama *salificación*. Al usar diversas concentraciones de sal, se puede separar una amplia variedad de proteínas específicas de una mezcla. La albúmina permanece en disolución incluso a concentraciones de sal altas porque tiene un dipolo mayor y retiene agua con más fuerza y, como resultado su menor tamaño en relación con las globulinas, no requiere mucha agua para mantenerse hidratada.

Los disolventes orgánicos neutros, miscibles en agua, se pueden usar también para separar proteínas con base en su solubilidad. Estos disolventes tienen una constante dieléctrica menor que el agua, que suprime la ionización de los grupos R en la superficie de la proteína y, por consiguiente, reduce la solubilidad.

Inmunogenicidad

Debido a su masa molecular, contenido de tirosina y especificidad por especies, las proteínas pueden ser antígenos eficaces. Cuando se inyectan en otra especie (como conejo, cabra o pollo), las proteínas séricas humanas provocan la formación de anticuerpos específicos para cada una de las proteínas presentes en el suero. Cuando se hizo posible

CUADRO 8-2. CARACTERÍSTICAS DE LAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS SELECCIONADAS

	VALOR DE REFERENCIA (ADULTO, g/L)	MASA MOLECULAR (D)	PUNTO ISOELÉCTRICO, pI	MOVILIDAD ELECTROFORÉTICA, pH 8.6, I = 0.1	COMENTARIOS
Prealbúmina	0.1–0.4	55,000	4.7	7.6	Indicador de nutrición; se une a las hormonas tiroideas y la proteína de enlace a retinol
Albúmina	35–55	66,300	4.9	5.9	Se une a la bilirrubina, esteroides, ácidos grasos; contribuyente principal a la presión oncótica
Globulinas α_1					
Antitripsina α_1	2–4	53,000	4.0	5.4	Reactante de fase aguda; inhibidor de proteasa
Fetoproteína α_1	1×10^5	76,000	2.7	6.1	Proteína fetal principal
Ácido α_1	0.55–1.4	44,000		5.2	Reactante de fase aguda
Glucoproteína ácida α_1 (orosomucoide)					
Lipoproteína α_1 (HDL)	2.5–3.9	200,000		4.4–5.4	Transporta lípidos
Antiquimotripsina α_1	0.3–0.6	68,000		Inter α	Inhibe proteinasas de serina (p. ej., quimotripsina)
Inhibidor de inter- α_1 -tripsina	0.2–0.7	160,000		Inter α	Inhibe proteinasas (p. ej., tripsina)
Globulina Gc	0.2–0.55	59,000		Inter α	Se une a vitamina D y actina
Globulinas α_2					
Haptoglobinas					
Tipo 1-1	1.0–2.2	100,000		4.5	Reactante de fase aguda; se une a hemoglobina
Tipo 2-1	1.6–3.0	200,000	4.1	3.5–4.0	Se une a hemoglobina
Tipo 2-2	1.2–1.6	400,000		3.5–4.0	Se une a hemoglobina
Ceruloplasmina	0.15–0.60	134,000	4.4	4.6	Actividad de peroxidasa; contiene cobre
Macroglobulina α_2	1.5–4.2	725,000	5.4	4.2	Inhibe trombina, tripsina, pepsina
Globulinas β					
Lipoproteína pre β (VLDL)	1.5–2.3	250,000		3.4–4.3	Transporta lípidos (principalmente triglicérido)
Transferrina	2.04–3.60	76,000	5.9	3.1	Transporta hierro
Hemopexina	0.5–1.0	57,000–80,000		3.1	Se une a hem
Lipoproteína β (LDL)	2.5–4.4	3,000,000		3.1	Transporta lípidos (sobre todo colesterol)
Microglobulina β_2 (B2M)	0.001–0.002	11,800		β_2	Componente de moléculas clase 1 de antígeno leucocitario humano (HLA)
Complemento C_4	0.20–0.65	206,000		0.8–1.4	Respuesta inmune
Complemento C_3	0.55–1.80	180,000		0.8–1.4	Respuesta inmune
Complemento C_1 q	0.15	400,000			Respuesta inmune
Fibrinógeno	2.0–4.5	341,000	5.8	2.1	Precursor de coágulo de fibrina
Proteína C reactiva (PCR)	0.01	118,000	6.2		Reactante de fase aguda; motiva la fagocitosis en enfermedad inflamatoria
Globulinas γ					
Inmunoglobulina G	8.0–12.0	150,000	5.8–7.3	0.5–2.6	Anticuerpos
Inmunoglobulina A	0.7–3.12	180,000		2.1	Anticuerpos (en secreciones)
Inmunoglobulina M	0.5–2.80	900,000		2.1	Anticuerpos (respuesta inicial)
Inmunoglobulina D	0.005–0.2	170,000		1.9	Anticuerpos
Inmunoglobulina E	6×10^4	190,000		2.3	Anticuerpos (reaginas, alergia)

obtener estos anticuerpos para cada una de las proteínas séricas, se introdujeron en el laboratorio clínico métodos con reacciones antígeno-anticuerpo que son muy específicos. Algunos de los métodos comunes se describen en el capítulo 6, *Inmunoensayos y técnicas con sonda de ácido nucleico*.

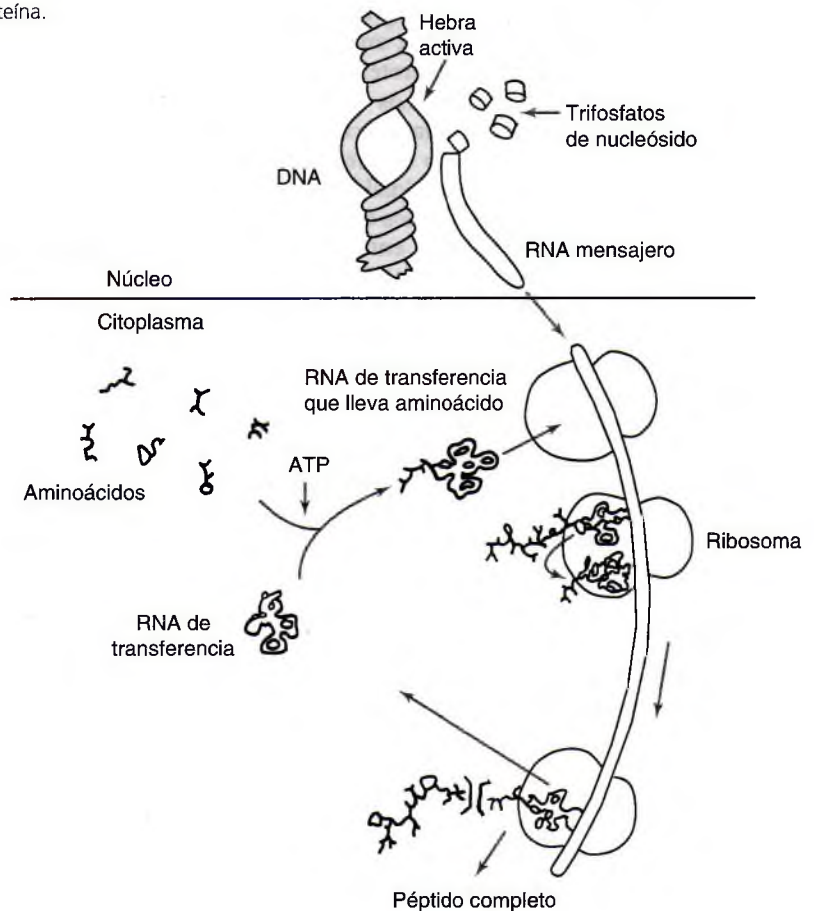
Síntesis

La mayor parte de las proteínas plasmáticas se sintetizan en el hígado y son secretadas por el hepatocito hacia la circulación. Las inmunoglobulinas son excepciones que son sintetizadas en células plasmáticas.

Los aminoácidos de una cadena polipeptídica son colocados en una secuencia determinada por una secuencia correspondiente de bases (guanina, citosina, adenina y timina) en el DNA que constituye el gen apropiado. El DNA de doble hebra se desdobra en el núcleo, y una hebra se usa como plantilla para la formación de una hebra complementaria de RNA mensajero (mRNA). El mRNA, que ahora lleva el código genético del DNA, se mueve al citoplasma, donde se une a los ribosomas. Una secuencia de tres bases (*codón*) en el mRNA se requiere para especificar el aminoácido que se transcribirá. El código en el mRNA también contiene codones de inicio y terminación para la cadena peptídica.

El siguiente paso en la síntesis de proteínas es obtener el aminoácido para los ribosomas. Primero, el aminoácido se activa en una reacción que requiere energía y una enzima específica para cada aminoácido. El complejo de aminoácido activado se une entonces a otra clase de RNA, RNA de transferencia, con la liberación posterior de la enzima activadora y monofostato de adenosina (AMP). El tRNA es una cadena corta de RNA que aparece libre en el citoplasma. Cada aminoácido tiene un tRNA que contiene tres bases que corresponden a las tres bases en el mRNA. El tRNA lleva su aminoácido particular al ribosoma y se une al mRNA de acuerdo con el codón correspondiente. De esta manera, los aminoácidos se alinean en secuencia. Como cada nuevo tRNA aporta el siguiente aminoácido, el aminoácido precedente se transfiere al grupo amino del nuevo aminoácido, y las enzimas localizadas en los ribosomas forman un enlace peptídico. El tRNA se libera hacia el citoplasma, donde puede tomar otro aminoácido, y el ciclo se repite. Cuando se llega al codón terminal, se separa la cadena peptídica y se disocian el ribosoma y el mRNA. En la figura 8-9 se ilustra la síntesis de proteínas. Por lo general, las proteínas intracelulares son sintetizadas en ribosomas libres, mientras que las proteínas que produce el hígado para secreción se elaboran en ribosomas unidos al retículo endoplásmico rugoso. La síntesis de proteínas ocurre a la misma tasa de casi 2 a 6 enlaces peptídicos por

FIGURA 8-9. Resumen esquemático de síntesis de proteína.



segundo. La síntesis se controla en dos pasos: selección de genes para transcripción a mRNA y selección de mRNA para traducción a proteínas. Ciertas hormonas tienen que ver en el control de la síntesis de proteínas. La tiroxina, hormona del crecimiento, insulina y testosterona promueven la síntesis, mientras que el glucagon y el cortisol tienen un efecto catabólico.

Las proteínas que se extraen después de la síntesis al parecer tienen una secuencia corta de aminoácidos, una pieza secretoria que atrae la proteína al aparato de Golgi para secreción posterior por exocitosis. La pieza secretoria se elimina durante el proceso de secreción. Así, las proteínas secretadas existen por lo regular como proteínas precursoras dentro de las células de las cuales surgen.

Catabolismo y balance de nitrógeno

La mayor parte de las proteínas del cuerpo se sintetizan de manera repetida y constante, y luego se degradan. Se ha demostrado que en un amplio intervalo de tasas de síntesis, el catabolismo y la síntesis de proteínas son iguales. Normalmente, este recambio totaliza casi 125 a 220 g de proteína todos los días. Sin embargo, la tasa de recambio de proteína varía mucho para cada una. Por ejemplo, las proteínas plasmáticas y la mayor parte de las proteínas intracelulares se degradan con rapidez, con vidas medias de horas o días; algunas de las proteínas estructurales, como el colágeno, son estables desde el punto de vista metabólico y tienen vidas medias de años. La desintegración de proteína ocurre en el tubo digestivo, riñones y, en particular, en el hígado. Durante el catabolismo, las proteínas se hidrolizan a sus constituyentes aminoácidos. Los aminoácidos son desaminados, lo que produce amoníaco y cetoacidosis. Los hepatocitos convierten el amoníaco en urea que se excreta en la orina. Los cetoácidos son oxidados por medio del ciclo del ácido cítrico y son convertidos a glucosa o grasa.

De ordinario, existe un balance entre el anabolismo (síntesis) y el catabolismo de proteínas. En términos nutricionales, esto se llama *balance de nitrógeno*. Cuando el catabolismo de proteínas excede al anabolismo, el nitrógeno excretado excede al ingerido. Éste es un balance de nitrógeno “negativo”, y ocurre en condiciones en las que hay destrucción tisular excesiva, como quemaduras, enfermedades consuntivas, fiebres altas continuas o inanición. Lo contrario, balance de nitrógeno “positivo”, se observa cuando el anabolismo es mayor que el catabolismo. Durante el crecimiento, embarazo y procesos de reparación se encuentra un balance positivo.

Clasificación

Las proteínas por lo general se clasifican en dos grupos principales con base en la composición: simples y conjugadas.

Proteínas simples

Las *proteínas simples* contienen cadenas peptídicas que en la hidrólisis producen sólo aminoácidos. La forma de las proteínas simples puede ser globular o fibrosa. Las proteínas globulares son relativamente simétricas, con cadenas polipeptídicas en espiral y plegadas en forma compacta.

La albúmina es un ejemplo de una proteína globular. Las proteínas fibrosas son más alargadas y simétricas y tienen mayor viscosidad. El colágeno y la troponina son ejemplos de proteínas fibrosas.

Proteínas conjugadas

Las *proteínas conjugadas* comprenden una proteína (apoproteína) y una mitad no proteína (grupo prostético). El grupo prostético puede ser un lípido, carbohidrato, porfirinas, metales, etcétera. Estos grupos imparten ciertas características a las proteínas. La mayor parte de los nombres asignados a estas proteínas conjugadas son descriptivos por sí mismos. Las *metaloproteínas* tienen un ion metálico unido a la proteína, ya sea de manera directa, como en la ferritina (que contiene hierro) y la ceruloplasmina (que contiene cobre), o como metales complejos (metal más otro grupo prostético), como la hemoglobina y las flavoproteínas. El metal (hierro) en la hemoglobina se une primero a la protoporfirina, que luego se une a las cadenas de globina; en la flavoproteína, el metal se une primero a FMN o FAD.

Cuando los lípidos como el colesterol y el triglicérido están enlazados con proteínas, las moléculas se llaman *lipoproteínas*. Cuando los carbohidratos están unidos a las proteínas, se pueden usar varios términos para describir los resultados. Por lo general, las moléculas con 10 a 40% de carbohidrato se llaman *glucoproteínas*.¹ Ejemplos de glucoproteínas son la haptoglobina y la α_1 -antitripsina. Cuando el porcentaje de carbohidrato enlazado a la proteína es mayor, se acostumbra llamar a las proteínas *mucoproteínas* o *proteoglucanos* cuando están presentes también heparán-sulfato, queratán-sulfato o condroitinsulfato. Un ejemplo de una mucoproteína es la mucina, un compuesto que lubrica recubrimientos de órganos. Las *nucleoproteínas* son las proteínas que se combinan con ácidos nucleicos (DNA o RNA) (p. ej., cromatina).

Función general de las proteínas

La amplia variedad de moléculas que constituyen las proteínas pueden funcionar de forma general o, como moléculas individuales, pueden tener alguna función única. Las proteínas plasmáticas y las tisulares comparten el mismo grupo de aminoácidos, por tanto, las alteraciones en un grupo finalmente afectan al otro. Esto es porque las proteínas plasmáticas son importantes en la nutrición tisular; también pueden ser hidrolizadas a aminoácidos, que se emplean para la producción de energía por medio del ciclo del ácido cítrico.

Otra función general de las proteínas plasmáticas es la distribución de agua entre los compartimientos del cuerpo. La ley de Starling atribuye una fuerza osmótica de coloide a las proteínas plasmáticas, que, debido a su tamaño, no pueden cruzar las membranas capilares. Esta fuerza osmótica origina la absorción de agua del tejido al extremo venoso de los capilares. Cuando la concentración de proteínas plasmáticas se reduce de manera significativa, la disminución concomitante en la presión osmótica (oncótica) coloidal del plasma da como resultado niveles incrementados de líquido intersticial y edema. Esto se ve con frecuencia en la enfermedad renal cuando la proteinuria

origina una disminución de la concentración de proteína plasmática y ocurre hinchazón de la cara, manos y pies.

La naturaleza anfotérica de las proteínas provee el mecanismo para su participación como disoluciones amortiguadoras dentro del plasma y tejido intersticial. Los grupos R ionizables pueden enlazar o liberar iones hidrógeno en exceso según sea necesario.

Muchas proteínas plasmáticas funcionan como transportadores específicos de sustancias metabólicas. Como ejemplos están la globulina de enlace a tiroxina, que lleva tiroxina; haptoglobina, que enlaza hemoglobina libre, y albúmina, que transporta ácidos grasos libres, bilirrubina no conjugada, calcio, sulfamidas y muchos otros compuestos endógenos y exógenos. Además de transportar moléculas al lugar donde se pueden usar, las proteínas, a través del proceso de enlace, sirven para mantener la sustancia enlazada en un estado soluble, proveer un sitio de almacenaje para la sustancia en exceso (transcobalamina II) y evitar la pérdida de compuestos de masa molecular pequeña por el riñón (es decir, transferrina para conservar hierro).

Varias proteínas son glucoproteínas. Una función principal de las glucoproteínas es distinguir cuáles células son originales y cuáles son extrañas para el cuerpo. Estas son evidentes en particular como antígenos de histocompatibilidad y grupos sanguíneos eritrocíticos. Los antígenos pueden estimular la síntesis de anticuerpos, que también son proteínas. Los anticuerpos y componentes del sistema de complemento ayudan a proteger al cuerpo contra infección.

Muchas proteínas celulares actúan como receptores para hormonas. El receptor se une con su hormona específica y permite que el mensaje hormonal sea transmitido a la célula. Además, ciertas hormonas (como la del crecimiento y la adrenocorticotrópica [ACTH]) son por sí mismas proteínas.

Las proteínas también desempeñan una función estructural. El colágeno es la proteína más abundante en los mamíferos, y constituye un cuarto del peso corporal total. El colágeno es el principal elemento fibroso de la piel, huesos, tendones, cartilago, vasos sanguíneos y dientes. La elastina y los proteoglicanos son otras dos proteínas de tejido conectivo.

Otra propiedad biológica importante de algunas proteínas (enzimas) es su capacidad para catalizar reacciones bioquímicas. Otras proteínas (factores de coagulación) ayudan en el mantenimiento de la hemostasis. La diversidad de funciones atribuidas a varias proteínas se resume en el cuadro 8-3.

Proteínas plasmáticas

Aunque las proteínas en los compartimientos de líquido desempeñan una función fisiológica importante, las proteínas plasmáticas son las que se analizan con más frecuencia. Se ha identificado a más de 500 proteínas plasmáticas. Las propiedades de algunas proteínas plasmáticas seleccionadas se analizan en la siguiente sección.

Prealbúmina (transtirretina)

La prealbúmina recibe ese nombre porque migra delante de la albúmina en la electroforesis usual de proteínas séricas o plasmáticas. Las características moleculares de la

CUADRO 8-3. FUNCIONES DE LAS PROTEÍNAS

Nutrición del tejido

Mantenimiento de la distribución de agua entre células y tejido, compartimientos intersticiales y el sistema vascular del cuerpo

Participación como disoluciones amortiguadoras para mantener el pH

Transporte de sustancias metabólicas

Parte del sistema de defensas (anticuerpos)

Hormonas y receptores

Estructura del tejido conectivo

Biocatalizadores (enzimas)

Participación en la hemostasis y coagulación de la sangre

prealbúmina se pueden ver en el cuadro 8-2. Rara vez se observa como una banda distinta en los patrones electroforéticos rutinarios del acetato de celulosa del suero, aunque puede ser exhibida mediante electroforesis de alta resolución (EAR) o inmunoelectroforesis. Es rica en triptófano y contiene 0.5% de carbohidrato. La prealbúmina combinada con tiroxina y triyodotironina sirve como mecanismo de transporte para las hormonas tiroideas. La prealbúmina también se une con la proteína de enlace a retinol para formar un complejo que transporta retinol (vitamina A). La prealbúmina disminuye en daño hepático, respuesta inflamatoria de fase aguda y necrosis tisular. Una concentración baja de prealbúmina también es un marcador sensible de estado nutricional proteínico deficiente. Cuando la ingestión de calorías y proteínas en la dieta es deficiente, la síntesis hepática de proteínas se reduce y se incrementa el catabolismo. Esto da como resultado una disminución en la concentración de proteínas que se originan en el hígado, incluso prealbúmina, albúmina y globulinas β como transferrina y complemento C3. La prealbúmina, debido a su corta vida de alrededor de dos días, disminuirá con más rapidez que las otras proteínas. La prealbúmina se incrementa en pacientes que reciben esteroides, en el alcoholismo y en la insuficiencia renal crónica.

Albúmina

La *albúmina* es la proteína presente en concentración más alta en el suero (cuadro 8-2). Se sintetiza en el hígado. El primer método para su determinación requería precipitar las globulinas con sulfato de sodio, dejando la albúmina en la disolución. Después, la albúmina se determinó mediante el método de Kjeldahl y, más tarde, con formación de color de biuret. El método más común en la actualidad conlleva el enlace de colorante y el cambio de color cuando un colorante se une mediante albúmina. Cuando se necesita más información acerca de las proteínas, se obtiene un patrón electroforético, y la albúmina se calcula como un porcentaje de la proteína total (por lo regular, alrededor de 60%). En el nacimiento, el valor de referencia para la albúmina sérica promedia 39 g/L. La concentración

cae a 28.4 g/L a casi 9 meses, y luego comienza a aumentar de manera lenta hasta que se alcanzan los valores de la edad adulta de 35 a 55 g/L.¹² La concentración de albúmina sérica después de 60 años promedia 38.3 g/L.¹³

La albúmina tiene dos funciones bien conocidas. Una es la contribución que hace a la presión osmótica de coloides del líquido intravascular. Como resultado de su alta concentración, se le debe casi 80% de esta presión, que mantiene el líquido apropiado en el tejido. La otra función principal es su propensión a unirse con varias sustancias en la sangre. Por ejemplo, la albúmina se une con la bilirrubina, ácido salicílico, ácidos grasos, iones de calcio y magnesio, cortisol, y algunos fármacos. Esta característica es exhibida también con varios colorantes, lo que provee un método para la cuantificación de albúmina.

A continuación se mencionan algunas circunstancias que podrían causar concentraciones bajas de albúmina sérica:

- Una fuente inadecuada de aminoácidos, lo cual se observa en la desnutrición y las enfermedades consumptivas musculares.
- Hepatopatía, que da como resultado incapacidad de los hepatocitos para sintetizar albúmina. El incremento en las globulinas que ocurre en la cirrosis temprana, sin embargo, equilibrará la pérdida de albúmina para dar una concentración de proteína total dentro de límites aceptables. La disminución de albúmina sérica es insignificante en hepatitis viral.
- Pérdida gastrointestinal cuando el líquido intersticial se filtra en la inflamación y enfermedad de la mucosa intestinal.
- Pérdida en la orina en la enfermedad renal. La albúmina es secretada normalmente en cantidades muy pequeñas. Esta excreción se incrementa cuando el glomérulo ya no funciona para restringir el paso de proteínas desde la sangre.

Las anomalías en la albúmina sérica son exhibidas también por la ausencia de albúmina (*analbúminemia*) o la presencia de albúmina que tiene características moleculares inusuales —esta anomalía se llama *bisalbuminemia* y se demuestra por la presencia de dos bandas de albúmina en vez de la banda única vista mediante electroforesis. La analbúminemia es una anomalía de origen genético que resulta de un rasgo recesivo autosómico. Estas condiciones son raras.

El incremento de las concentraciones de albúmina sérica se observa en la deshidratación. Este incremento es relativo, porque la albúmina está contenida en un volumen reducido de suero. Administrar líquidos para tratar la deshidratación disminuirá las concentraciones de albúmina sérica de nuevo al nivel normal.

Globulinas

El grupo *globulina* de proteínas consta de las fracciones α_1 , α_2 , β y γ . Cada fracción consta de una cantidad diferente de proteínas con funciones distintas. En las subsecciones siguientes se describen ejemplos seleccionados de las globulinas.

Antitripsina α_1 . La antitripsina α_1 es un reactante de fase aguda. Su función principal es neutralizar enzimas parecidas a la tripsina (es decir, elastasa) que pueden causar daño hidrolítico a la proteína estructural.

ESTUDIO DE CASO 8-2

Inmediatamente después del nacimiento de una niña, el médico de guardia solicita un examen electroforético del suero de la madre. Esto se hizo en una muestra que se obtuvo al admitir a la madre al hospital el día anterior. Se llevó a cabo un examen electroforético en la muestra de sangre del cordón. Los informes de laboratorio se muestran en el cuadro 8-2.1 del estudio de caso.

La apariencia del patrón electroforético de la madre estuvo dentro de lo esperado para una persona saludable. El patrón electroforético de la sangre del cordón se asemeja al que se muestra en la figura 8-13C.

Preguntas

1. ¿Qué fracción, o fracciones de proteína, es anormal en el suero de la madre y el suero de la sangre del cordón?
2. ¿Con qué enfermedad se relaciona más a menudo una anomalía en esta fracción, o fracciones?
3. ¿Qué otra prueba, o pruebas, se pueden hacer para confirmar esta anomalía?

CUADRO 8-2.1. DE ESTUDIO DE CASO. ELECTROFORESIS (VALORES G/DL)

	VALORES DE REFERENCIA DE ADULTO	SUERO DE LA MADRE	SANGRE DEL CORDÓN
Albúmina	3.5–5.0	4.2	3.3
Globulinas α_1	0.1–0.4	0.3	0.0
Globulinas α_2	0.3–0.8	1.2	0.4
Globulinas β	0.6–1.1	1.3	0.7
Globulinas γ	0.5–1.7	1.3	1.0

La antitripsina α_1 es un componente principal (casi 90%) de la fracción de proteínas séricas que migran en la electroforesis inmediatamente después de la albúmina. Las características moleculares se ilustran en el cuadro 8-2.

Una deficiencia de antitripsina α_1 se relaciona con enfermedad pulmonar enfisematosa, degenerativa, grave. La enfermedad pulmonar se atribuye a la actividad proteolítica descontrolada de proteasas de leucocitos en el pulmón durante períodos de inflamación. La cirrosis hepática juvenil es también una enfermedad correlativa en la deficiencia de antitripsina α_1 . La proteína se sintetiza pero no se libera del hepatocito.

Varios fenotipos de deficiencia de antitripsina α_1 han sido identificados. El fenotipo más común es MM (alelo Pi^M) y se relaciona con actividad de antitripsina normal. Otros alelos son Pi^S , Pi^Z , Pi^F y Pi^* (nulo). El individuo con fenotipo homocigoto ZZ está en grave riesgo de cáncer hepático y enfermedad pulmonar por deficiencia de antitripsina α_1 mientras que los que tienen el fenotipo SZ muestran sólo 35% de actividad normal de antitripsina α_1 . Por lo general, los individuos con el fenotipo MZ o MS no se ven afectados, pero deben ser asesorados respecto a tener descendencia que pudiera ser ZZ o Z⁺ y están en peligro. El alelo Pi^Z se presenta en 1 de 1 500 caucásicos. Factores distintos a la antitripsina α_1 también tienen que ver en la enfermedad porque algunas personas con fenotipos anormales y bajas concentraciones de proteínas no desarrollan enfermedad explícita. Las concentraciones incrementadas de antitripsina α_1 se observen en reacciones inflamatorias, embarazo y uso de anticonceptivos.

El descubrimiento de concentraciones anormales de antitripsina α_1 se hace en la mayor parte de los casos por la falta de una banda de globulina α_1 en electroforesis de proteínas. Este hallazgo va seguido de uno de los métodos cuantitativos. Un método utilizado con amplitud es la inmunodifusión radial. También están disponibles los ensayos inmunonefelométricos mediante instrumentación automatizada. La determinación de fenotipo se puede llevar a cabo por inmunofijación.

Fetoproteína α_1 . La fetoproteína α_1 (AFP) se sintetiza al inicio en el saco vitelino fetal y luego en las células parenquimatosas del hígado. En 1956, se descubrió por primera vez que en suero fetal tiene una movilidad electroforética entre la de la albúmina y la de la globulina α_1 . Tiene su máximo en el feto a las casi 13 semanas de gestación (3 mg/ml) y retrocede a las 34 semanas de ésta.¹⁴ En el nacimiento, aminora con rapidez a concentraciones de adulto, que normalmente son muy bajas (cuadro 8-2). Los métodos de uso común para determinaciones de AFP son el radioinmunoensayo e inmunoensayo marcado con enzima.

La función fisiológica de la AFP no está bien establecida. Se ha propuesto que la proteína protege al feto de un ataque inmunolítico por su madre, modula el crecimiento celular, transporta compuestos como esteroides, y se requiere para el desarrollo funcional del sistema reproductor femenino.¹⁵ La AFP es detectable en la sangre materna hasta el mes 7 u 8 de embarazo porque se transmite a través de la placenta. Por tanto, la medición de la concentración de AFP en el suero materno es una prueba

de detección para condiciones fetales en las que hay un mayor paso de proteínas fetales hacia el líquido amniótico. Las condiciones relacionadas con una concentración alta de AFP incluyen espina bífida y defectos del tubo neural, atresia del tubo gastrointestinal y sufrimiento fetal en general. Su uso para determinar defectos del tubo neural antes de término es una razón importante para su examen. La fetoproteína α_1 se incrementa también en ataxia-telangiectasia, tirosinosis y enfermedad hemolítica del recién nacido. Es interesante que la AFP del suero materno se incrementa también en presencia de gemelos. Las concentraciones bajas de AFP materna indican un mayor riesgo de síndrome de Down y trisomía 18.

El tiempo normal para detección está entre 15 y 20 semanas de edad gestacional. La AFP materna se incrementa poco a poco durante este período; por tanto, la interpretación requiere la fecha exacta del embarazo. Las concentraciones de AFP se ven afectadas también por el peso de la madre, lo cual refleja el volumen sanguíneo (relación inversa), la raza (10% mayor en afroestadounidenses) y la diabetes (valor reducido); por tanto, los resultados de prueba deben ser ajustados para estas variables. Se ha encontrado que expresar los valores de AFP en múltiplos de la media (MM) origina una buena correlación con el riesgo del infante. El MM se calcula al dividir el valor AFP del paciente entre el valor de referencia promedio para esa edad gestacional. En la mayor parte de los programas de detección se emplea un MM de 2.0 como límite superior y MM de 0.5 como límite inferior para la AFP del suero materno.

Las concentraciones séricas de AFP se pueden usar también como marcador tumoral. Concentraciones altas de AFP se encuentran en muchos casos de carcinoma hepatocelular (alrededor de 80%) y ciertos tumores gonadales en adultos (véase el capítulo 30, *Marcadores tumorales en circulación*).

Glucoproteína ácida α_1 (orosomucoide). La glucoproteína ácida α_1 comprende cinco unidades de carbohidrato unidas a una cadena polipeptídica. Debido a su bajo pI (2.7), tiene carga negativa incluso en disoluciones ácidas, hecho que originó su nombre. En el cuadro 8-2 se ven otras características moleculares. Las secuencias de haptoglobina, inmunoglobulinas y glucoproteína ácida α_1 muestran homología considerable, lo cual da lugar a especular que estas proteínas comparten un precursor en el pasado evolutivo. La glucoproteína ácida α_1 participa en la formación de ciertas membranas y fibras en relación con colágeno, y puede inactivar hormonas básicas como la progesterona.

Los métodos analíticos más comunes para la determinación de orosomucoide son la inmunodifusión y la nefelometría. La inmunofijación se ha empleado para estudiar variantes hereditarias.

La concentración incrementada de esta proteína es la causa principal de una mayor concentración de glucoproteína en el suero durante la inflamación. También se incrementa en cáncer, neumonía, artritis reumatoide y otras condiciones relacionadas con la proliferación de células.

Antiquimotripsina α_1 . La antiquimotripsina α_1 (α_1 -ACT) es una proteinasa de serina con cathepsina G, elastasa pancreática, quimasa de mastocitos y quimotripsina como enzimas blanco.¹⁶ La α_1 -ACT lleva cuatro cadenas laterales

de oligosacáridos. Migra entre las zonas α_1 y α_2 en la electroforesis de alta resolución con proteínas séricas. En la inflamación se observan concentraciones altas, y parece ser que el complejo formado entre la α_1 -ACT plasmática y sus enzimas blanco desempeña un papel importante en la señalización de la síntesis de proteínas de la fase aguda en respuesta a lesión. La deficiencia hereditaria de α_1 -ACT se relaciona con asma y hepatopatía.

Inhibidor de inter- α -tripsina. El inhibidor de inter- α -tripsina (ITI) comprende por lo menos tres subunidades polipeptídicas distintas: dos cadenas pesadas designadas H_1 y H_2 y una cadena ligera designada L o *bikunin*. A la cadena ligera se debe la inhibición de las proteasas tripsina, plasmina y quimotripsina.¹⁷ En la electroforesis sérica de alta resolución, el ITI migra en la zona entre las fracciones α_1 y α_2 . El aumento en la concentración se ve en trastornos inflamatorios.

Globulina Gc (componente específico de grupo; proteína de enlace a vitamina D). La globulina Gc es otra proteína que migra en la interzona α_1 y α_2 . Esta proteína exhibe una alta afinidad de enlace hacia compuestos de vitamina D y actina, el constituyente principal de los filamentos delgados del músculo. Debido al polimorfismo genético, existen varios fenotipos de globulina Gc. El aumento de las concentraciones de globulina Gc se observan en el tercer trimestre de embarazo y en pacientes que toman anticonceptivos orales de estrógeno. La hepatopatía grave y los síndromes con pérdida de proteínas se relacionan con concentraciones bajas.

Haptoglobina. La haptoglobina, una glucoproteína α_2 , se sintetiza en los hepatocitos y, en menor grado, en células del sistema reticuloendotelial. La haptoglobina comprende dos clases de cadenas polipeptídicas: dos cadenas α y una β . Hay tres cadenas α posibles y sólo una forma β . En la electroforesis en gel de almidón, la haptoglobina exhibe tres tipos de patrones, lo que ilustra el polimorfismo en las cadenas α . La haptoglobina homocigótica 1-1 da 1 banda. Las cadenas peptídicas forman polímeros entre sí y con las cadenas de haptoglobina 1 para proveer los otros dos patrones electroforéticos, que han sido designados como fenotipos Hp 2-1 y Hp 2-2. En el cuadro 8-2 se ilustran otras características.

La haptoglobina se incrementa desde una concentración media de 0.02 g/L en el nacimiento hasta concentraciones de adulto dentro del primer año de vida. Conforme se llega a la vejez, las concentraciones de haptoglobina aumentan, con un incremento marcado visto en los varones. La inmunodifusión radial y los métodos inmunonefelométricos han sido empleados para la determinación cuantitativa de haptoglobina.

La función de la haptoglobina es enlazar hemoglobina libre mediante su cadena α . La hemoglobina anormal, como la de Bart y la hemoglobina H, no tiene cadenas α y no se puede enlazar. Las células reticuloendoteliales eliminan de la circulación al complejo haptoglobina-hemoglobina pocos minutos después de su formación. Así, la haptoglobina evita la pérdida de hemoglobina y su constituyente hierro en la orina.

La concentración de haptoglobina sérica se incrementa en condiciones inflamatorias. Es una de las proteínas

empleadas para evaluar enfermedades reumáticas. Se observa aumento de la concentración en condiciones como quemaduras y síndrome nefrótico cuando se han perdido grandes cantidades de líquido y proteínas de bajo peso molecular. La determinación de una concentración reducida de haptoglobina libre (o capacidad de enlace de haptoglobina) se ha empleado para evaluar el grado de hemólisis intravascular que ha ocurrido en reacciones de transfusión o enfermedad hemolítica del recién nacido. La rotura mecánica de los glóbulos rojos durante el traumatismo atlético podría dar como resultado una disminución temporal de las concentraciones de haptoglobina.

Se tiene conocimiento de que el fenotipo de haptoglobina es un factor de riesgo independiente para enfermedad cardiovascular (ECV) en individuos con diabetes mellitus tipo 2. El fenotipo 2-2 de haptoglobina se relaciona con un riesgo cinco veces mayor en comparación con el fenotipo 1-1. El fenotipo 2-1 de haptoglobina representa un riesgo intermedio en el desarrollo de ECV en pacientes con diabetes.¹⁸

Ceruloplasmina. La ceruloplasmina es una glucoproteína α_2 , con contenido de cobre, que tiene actividades enzimáticas (es decir, oxidasa de cobre, histaminasa y oxidasa ferrosa). Se sintetiza en el hígado, donde seis a ocho átomos de cobre, la mitad como iones cuprosos (Cu^+) y la otra mitad como iones cúpricos (Cu^{2+}) están unidos a una apoceruloplasmina. Noventa por ciento o más del cobre sérico total se encuentra en la ceruloplasmina. Las características moleculares se muestran en el cuadro 8-2.

El primer método analítico de determinación de ceruloplasmina se basó en su actividad de oxidasa de cobre. En la mayor parte de los ensayos actuales se emplean métodos inmunoquímicos, como la inmunodifusión radial y la nefelometría.

Las concentraciones bajas de ceruloplasmina en el nacimiento aumentan de forma gradual hasta las concentraciones de adulto y continúan aumentando de manera lenta con la edad. Las mujeres adultas tienen concentraciones más altas que los varones, y el embarazo, procesos inflamatorios, tumores, estrógeno oral y los anticonceptivos causan una concentración sérica incrementada.

Ciertas enfermedades o trastornos se relacionan con concentraciones séricas bajas. En la enfermedad de Wilson (degeneración hepatolenticular), una enfermedad hereditaria recesiva autosómica, las concentraciones suelen ser bajas (0.1 g/L). Disminuye el cobre total sérico, pero se eleva la fracción reactiva directa y se incrementa la excreción urinaria de cobre. El cobre se deposita en la piel, hígado y cerebro, y produce cirrosis hepática y daño neurológico. El cobre también se deposita en la córnea, produciendo los anillos de Kayser-Fleischer característicos. La concentración baja de ceruloplasmina se observa también en la desnutrición; malabsorción; hepatopatía grave; síndrome nefrótico, y síndrome de Menkes (enfermedad del pelo ensortijado), en el que la absorción reducida de cobre origina una disminución de ceruloplasmina.

Macroglobulina α_2 . La macroglobulina α_2 , una proteína dimérica, grande (cuadro 8-2), es sintetizada por los hepatocitos. Debido a que su movimiento está restringido como resultado de su tamaño, se encuentra sobre todo en

los espacios intravasculares. Sin embargo, concentraciones mucho más bajas de macroglobulina α_2 se pueden encontrar en otros líquidos corporales, como el LCR. En el enlace con proteasas inhibidoras, es eliminada por los tejidos reticuloendoteliales. Los métodos analíticos que han sido empleados para el ensayo satisfactorio de esta proteína son inmunodifusión radial e inmunonefelometría.

Esta proteína alcanza una concentración sérica máxima a la edad de 2 a 4 años y luego disminuye hasta cerca de un tercio de esa concentración cuando el individuo tiene alrededor de 45 años de edad. Después, se observa un incremento moderado. Este cambio con la edad es más notable en varones que en mujeres.¹⁹ Hay una diferencia distinta en los valores de referencia para varones y mujeres, mujeres adultas que tienen valores más altos que los varones.

La macroglobulina α_2 inhibe proteasas como tripsina, pepsina y plasmina. También contribuye con más de un cuarto de la inhibición de trombina que por lo regular está presente en la sangre. Poco se conoce de su correlación con enfermedad o trastornos, excepto en el caso de enfermedad renal.

En la nefrosis, las concentraciones de macroglobulina sérica α_2 podrían incrementarse tanto como 10 veces porque su gran tamaño ayuda en su retención. La proteína se incrementa también en la diabetes y la hepatopatía. El empleo de medicamentos anticonceptivos y el embarazo incrementan las concentraciones séricas en 20%.

Transferrina (siderofilina). La transferrina, una glucoproteína, se sintetiza sobre todo en el hígado. Dos moléculas de ion férrico pueden enlazar a cada molécula de transferrina. Normalmente, cerca de 33% de los sitios de enlace de hierro en la transferrina están ocupados. La transferrina es el componente principal de la fracción de globulina β y aparece como una banda distinta en la electroforesis de alta resolución con proteínas séricas. La variación genética de la transferrina se ha demostrado mediante electroforesis en gel de poliacrilamida. En el cuadro 8-2 se dan otras características de la transferrina.

Los métodos analíticos empleados para la cuantificación de transferrina son inmunodifusión e inmunonefelometría. Se considera que ambos dan resultados precisos y exactos.

Las funciones principales de la transferrina son el transporte de hierro y la prevención de pérdida de éste por el riñón. Su unión con el hierro evita que éste se deposite en el tejido durante incrementos temporales de hierro absorbido o libre. La transferrina transporta hierro a sus sitios de almacenaje, donde se incorpora a la apoferritina, otra proteína, para formar ferritina. La ferritina también lleva hierro a las células, como la médula ósea, que sintetiza hemoglobina y otros compuestos que contienen hierro.

La forma más común de anemia es la que se presenta por deficiencia de hierro, una anemia hipocrómica, microcítica. En este tipo de anemia, la concentración de transferrina en el suero es normal o incrementada. Una concentración reducida de transferrina suele reflejar una disminución global en la síntesis de proteína, como se observa en la hepatopatía o la desnutrición, o bien se podría observar en trastornos con pérdida de proteína como el síndrome nefrótico. La trans-

ferrina, una proteína de fase aguda negativa, disminuye también en la inflamación. Una deficiencia de transferrina plasmática podría dar como resultado la acumulación de hierro en la apoferritina o en histiocitos, o bien, podría precipitar en el tejido como hemosiderina. Se ha demostrado que pacientes con deficiencias hereditarias de transferrina tienen anemia hipocrómica importante. Un incremento de hierro enlazado a transferrina se encuentra en un trastorno hereditario del metabolismo del hierro, hemocromatosis, en el que el hierro en exceso se deposita en el tejido, en particular en el hígado y el páncreas. Este trastorno se relaciona con la piel bronceada, cirrosis, diabetes mellitus y concentraciones bajas de transferrina plasmática.

Hemopexina. Las células parenquimatosas del hígado sintetizan hemopexina, que en la electroforesis migra en la región de la globulina β . En el cuadro 8-2 se muestran otras características. La hemopexina se puede determinar mediante inmunodifusión radial. La función de la hemopexina es eliminar el hem circulante. Cuando el hem libre (ferroprotoporfirina IX) se forma durante la rotura de hemoglobina, mioglobina o catalasa, se une con hemopexina en una relación 1:1. El complejo hem-hemopexina es llevado al hígado, donde se destruye el complejo. La hemopexina también remueve ferrihem y porfirinas.

La concentración de hemopexina es muy baja en el nacimiento pero alcanza valores de adulto dentro del primer año de vida. Las embarazadas tienen concentraciones mayores de hemopexina plasmática. Las concentraciones incrementadas se encuentran también en diabetes mellitus, distrofia muscular tipo Duchenne y algunas malignidades, en particular melanomas. En los trastornos hemolíticos, las concentraciones séricas de hemopexina disminuyen. La administración de difenilhidantoína también causa concentraciones reducidas.

Lipoproteínas. Las lipoproteínas son complejos de proteínas y lípidos cuya función es transportar colesterol, triglicéridos y fosfolípidos en la sangre. Las lipoproteínas se subclasifican de acuerdo con la apoproteína y el contenido específico de lípido. En la electroforesis de alta resolución con proteínas séricas, las lipoproteínas de alta densidad (HDL) migran entre la zona de la albúmina y la globulina α_1 ; las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) migran al comienzo de la fracción de globulina β (pre- β), y las lipoproteínas de baja densidad (LDL) aparecen como una banda separada en la región de la globulina β . Para una explicación más detallada de la estructura y métodos de análisis, refiérase el capítulo 12, *Lípidos y lipoproteínas*.

Microglobulina β_2 . La microglobulina β_2 (B2M) es el componente de cadena ligera del complejo principal de histocompatibilidad (CPH). Esta proteína se encuentra en la superficie de la mayor parte de las células nucleadas y está presente en concentraciones altas en los linfocitos. Debido a su tamaño pequeño (PM, 11800), la B2M se filtra por el glomérulo renal pero la mayor parte se absorbe y cataboliza en los túbulos proximales. Las concentraciones séricas altas son el resultado del aclaramiento deficiente en el riñón o la sobreproducción de la proteína que ocurre en diversas enfermedades inflamatorias, como artritis reumatoide y lupus sistémico eritematoso. En pacientes con

virus de inmunodeficiencia humana, una concentración alta de B2M en ausencia de insuficiencia renal indica una tasa grande de recambio de linfocitos, lo que hace pensar que el virus elimina a los linfocitos. La B2M puede ser vista a veces en la EAR pero, debido a su concentración baja, suele medirse mediante inmunoensayo.

Complemento. *Complemento* es un término colectivo para varias proteínas que participan en la reacción inmune y sirve como un enlace para la respuesta inflamatoria. Las características moleculares de componentes complemento seleccionados se listan en el cuadro 8-2. Estas proteínas circulan en la sangre como precursores no funcionales. En la vía clásica, la activación de estas proteínas comienza cuando el primer factor complemento, C1q, se une con el complejo antígeno-anticuerpo. El enlace ocurre en la parte Fc, o constante, de la molécula de IgG o IgM. Cada proteína complemento (C2-C9) es activada después en forma secuencial y se puede unir con la membrana de la célula a la que está enlazado el complejo antígeno-anticuerpo. El resultado final es la lisis de la célula. Además, el complemento es capaz de acudir a otros sistemas efectores humorales y celulares en el proceso de inflamación. Existe una vía alterna (la vía de la properdina) para la activación del complemento en la cual los primeros componentes son desviados y el proceso comienza con C3. Diferentes sustancias activan esta vía (no requiere la presencia de un anticuerpo), sin embargo, el ataque lítico en las membranas es el mismo (secuencia C5-C9). Los métodos analíticos han incluido una medición del título del complemento al usar su actividad en un sistema hemolítico y mediante métodos inmunoquímicos como la inmunodifusión radial y la nefelometría.

El complemento aumenta en estados inflamatorios y disminuye en la desnutrición, lupus eritematoso y coagulopatías intravasculares diseminadas. También se han descrito las deficiencias hereditarias de proteínas complemento. En la mayor parte de los casos, las deficiencias se relacionan con infecciones recurrentes.

Fibrinógeno. El fibrinógeno es una de las proteínas más grandes en el plasma sanguíneo. Se sintetiza en el hígado y se clasifica como una glucoproteína porque tiene un contenido de carbohidratos considerable. En el cuadro 8-2 se dan otras características moleculares. En la electroforesis plasmática, se ve al fibrinógeno como una banda distinta entre las globulinas β y γ . La función del fibrinógeno es formar un coágulo de fibrina cuando se activa mediante trombina; por tanto, el fibrinógeno casi se elimina por completo en el proceso de coagulación y no se observa en el suero.

De ordinario el fibrinógeno ha sido determinado como proteína coagulable. La concentración de fibrinógeno es proporcional al tiempo requerido para formar un coágulo después de la adición de trombina a plasma citratado. Los productos de división de fibrina (productos de degradación de fibrinógeno y fibrina) se determinan por medio de métodos de inmunoensayo como inmunodifusión, nefelometría y radioinmunoensayo.

El fibrinógeno es uno de los *reactantes de fase aguda*, un término que se refiere a las proteínas con un incremento significativo en el plasma durante la fase aguda del

proceso inflamatorio. Las concentraciones de fibrinógeno también aumentan con el embarazo y el uso de píldoras para el control de la natalidad. Por lo general, los valores reducidos reflejan coagulación excesiva, durante la cual se consume el fibrinógeno.

Proteína C reactiva. La proteína C reactiva (PCR) se sintetiza en el hígado y aparece en la sangre de pacientes con diversas enfermedades inflamatorias. Otras características se encuentran en el cuadro 8-2. La PCR recibió este nombre porque precipita con la sustancia C, un polisacárido de neumococos. Sin embargo, se encontró que la PCR aparece en forma abrupta siempre que hay necrosis tisular, ya sea que el daño se origine de una infección neumocócica o alguna otra fuente. Esto condujo al descubrimiento de que la PCR reconoce y se une con grupos moleculares hallados en una amplia variedad de bacterias y hongos. La PCR hallada en las bacterias promueve el enlace de complemento, lo que facilita su captación mediante fagocitos. Este proceso de recubrimiento de proteína para incrementar la fagocitosis se conoce como *opsonización*.

La PCR se mide por lo general mediante métodos inmunológicos, incluso nefelometría e inmunoensayo enzimático (EIA). Los métodos tradicionales tienen una sensibilidad de alrededor de 3 a 5 mg/L. Los métodos de PCR con base en anticuerpo monoclonal desarrollados en fechas recientes pueden detectar concentraciones de CRP menores a 1.0 mg/L y se denominan "PCR de alta sensibilidad" (PCRas).

La PCR es una de las primeras proteínas de fase aguda que aumenta en respuesta a enfermedad inflamatoria. Aumenta de forma significativa en la fiebre reumática, infecciones bacterianas, infartos de miocardio, artritis reumatoide, carcinomatosis, gota e infecciones virales. La PCR ha sido reconocida también como un factor de riesgo independiente en la enfermedad cardiovascular con base en los hallazgos de que la aterotrombosis, además de ser una enfermedad de acumulación de lípidos, representa también un proceso inflamatorio crónico. Con el ensayo PCRas, concentraciones de <1 , 1 a 3 y >3 mg/L corresponden a grupos de bajo, moderado y alto riesgo para futuros sucesos cardiovasculares.²⁰ Las concentraciones altas de PCR estimulan la producción de factor tisular que inicia la coagulación, activa el complemento y se une con LDL en la placa aterosclerótica; la evidencia apunta a una relación causal entre las concentraciones de PCR y enfermedad cardiovascular.²¹ Además, las intervenciones como pérdida de peso, dieta, ejercicio y dejar de fumar y administración de agentes farmacológicos (como las estatinas) originan concentraciones reducidas de PCR y menor riesgo vascular.^{20,21} Una explicación más detallada de los factores de riesgo cardíacos se halla en el capítulo 23, *Función cardíaca*.

Inmunoglobulinas (Igs). Hay cinco grupos principales de inmunoglobulinas en el suero: IgA, IgG, IgM, IgD e IgE. Se sintetizan en las células plasmáticas. Una respuesta inmune a partículas extrañas y microorganismos estimula su síntesis. En cierto sentido el neonato no sintetiza las inmunoglobulinas. La IgG cruza la placenta; la madre sintetiza la IgG presente en el suero del recién nacido. La IgM no cruza la placenta sino más bien es la única inmuno-

globulina que sintetiza el neonato. La concentración de IgM al inicio es 0.21 g/L, pero se incrementa con rapidez a concentraciones de adulto más o menos a los seis meses de edad. La IgA es casi nula al nacer (0.003 g/L), se incrementa de forma gradual hasta alcanzar los valores de adulto en la pubertad, y continúa incrementándose después. Las concentraciones de IgD e IgE son indetectables en el nacimiento con los métodos usuales, pero se incrementa poco a poco hasta la adultez. Por lo regular la IgA es mayor en los varones que en las mujeres; las concentraciones de IgM e IgG son un poco más altas en las mujeres. Las concentraciones de IgE varían con la condición alérgica del individuo.

Las inmunoglobulinas comprenden dos cadenas polipeptídicas largas (cadenas pesadas o H) y dos polipéptidos cortos (cadenas ligeras o L), unidas por enlaces de disulfuro. Un individuo es capaz de producir 1 millón de moléculas de inmunoglobulina distintas. Las diferencias entre estas moléculas se hallan en una región de la molécula llamada *región variable*. Esta región se localiza en el extremo de la molécula que contiene a las cadenas ligera y pesada, y es el sitio en el que la inmunoglobulina (anticuerpo) se combina con el antígeno. De esta manera, hay muchos anticuerpos diferentes que son relativamente específicos para antígenos correspondientes.

Las diferencias en las cadenas pesadas (H) se llaman *idiotipos* y se designan IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. Las cadenas pesadas se llaman γ , α , μ , δ y ϵ , respectivamente. Las cadenas ligeras (L) para todas las clases de inmunoglobulina son de dos clases, κ y λ . Cada molécula de inmunoglobulina o anticuerpo tiene dos cadenas H idénticas y dos cadenas L idénticas. Por ejemplo, IgG tiene dos cadenas λ tipo H y dos cadenas L idénticas (ya sea κ o λ).

Cuando se inyecta una sustancia extraña (antígeno) en un animal (como conejo o cabra), se sintetiza un anticuerpo que reaccionará con ese antígeno. Esta reacción es relativamente específica; es decir, los anticuerpos reaccionarán de modo específico y selectivo con el antígeno que se empleó para originarlos. Las proteínas y los polisacáridos son antígenos fuertes. Los anticuerpos se pueden crear en conejos y otros animales para las inmunoglobulinas humanas así como las otras proteínas séricas. Estos anticuerpos de inmunoglobulina antihumana de conejo se emplean para detectar y evaluar de manera cuantitativa IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. Las inmunoglobulinas han sido determinadas con inmunodifusión radial y radioinmunoensayo. También se han utilizado técnicas de inmunoensayo fluorescente y ensayos inmunonefelométricos. El método inmunonefelométrico automatizado está disponible para IgG, IgA e IgM.

Una molécula de inmunoglobulina derivada de la proliferación de una célula plasmática (clon) se llama *inmunoglobulina monoclonal* o *paraproteína*. Un incremento marcado de tal Ig monoclonal se encuentra en el suero de pacientes que tienen malignidad de células plasmáticas (mieloma). Los incrementos monoclonales se observan en patrones electroforéticos como picos. Aunque estas inmunoglobulinas suelen estar en las fracciones β o λ , en ocasiones, una podría aparecer en el área α_2 . La inmu-

globulina monoclonal se tipifica mediante el método de inmunofijación para determinarla como IgG, IgA o IgM, e identificar las cadenas ligeras κ o λ . Los incrementos de IgD o IgE, o enfermedad de cadena pesada se deben considerar si no hay reacción con los antisueros de electroforesis de inmunofijación característica.

La IgG se incrementa en la hepatopatía, infecciones y enfermedad del colágeno. Una disminución de hemoglobina se relaciona con mayor susceptibilidad a infecciones y gammapatía monoclonal de uno de los otros idiotipos.

La IgA es la inmunoglobulina idiopática presente en la mucosa respiratoria y gastrointestinal. La IgA en líquidos que no sean el suero tiene un péptido secretorio adicional conocido como *pieza J*. Esta pieza permite a la IgA aparecer en secreciones. Los incrementos policlonales en la IgA sérica (sin la pieza J) se hallan en hepatopatía, infecciones y enfermedades autoinmunes. Las concentraciones séricas bajas se hallan en la síntesis reducida de proteínas, ataxia-telangiectasia y trastornos de inmunodeficiencia hereditarios.

La IgM es el primer anticuerpo que aparece en respuesta a la estimulación antigénica. La IgM es también el tipo de anticuerpo que actúa como anticuerpo anti A o anti B para los antígenos de eritrocitos, factores reumatoides y anticuerpos heterófilos. Las concentraciones altas de IgM se hallan en toxoplasmosis, citomegalovirus, rubéola, herpes, sífilis y varias enfermedades bacterianas y fúngicas. En la macroglobulinemia de Waldenström se observa un incremento monoclonal. Este incremento se ve como un pico en la vecindad de la zona β tardía de un patrón electroforético de proteína. Las disminuciones se observan en condiciones de pérdida de proteínas y trastornos de inmunodeficiencia.

La IgD es la inmunoglobulina con la cuarta concentración más alta en el suero normal. Su concentración se incrementa en infecciones, hepatopatía y trastornos del tejido conectivo. El mieloma múltiple de IgD también ha sido descrito con un pico monoclonal en la zona β tardía del patrón electroforético.

La IgE es la inmunoglobulina idiopática relacionada con reacciones alérgicas y anafilácticas. Los incrementos policlonales se observan en alergias, incluso asma y fiebre del heno. Los incrementos monoclonales se observan en el mieloma de IgE, una enfermedad rara.

Proteínas diversas

Mioglobina

La mioglobina es una proteína hem que se halla en músculo esquelético y cardíaco estriado. Representa casi 2% de la proteína total del músculo. Una porción menor de la mioglobina hallada en las células está enlazada estructuralmente, pero la mayor parte está disuelta en el citoplasma. Comprende una cadena polipeptídica que contiene 153 aminoácidos, acoplada con un grupo hem. En tamaño, la mioglobina, con un peso molecular de 17 800 daltons, es un poco más grande que un cuarto de una molécula de hemoglobina. Se puede unir de forma reversible con el oxígeno en una manera similar a la molécula de hemoglobina, pero la mioglobina requiere una tensión de oxígeno

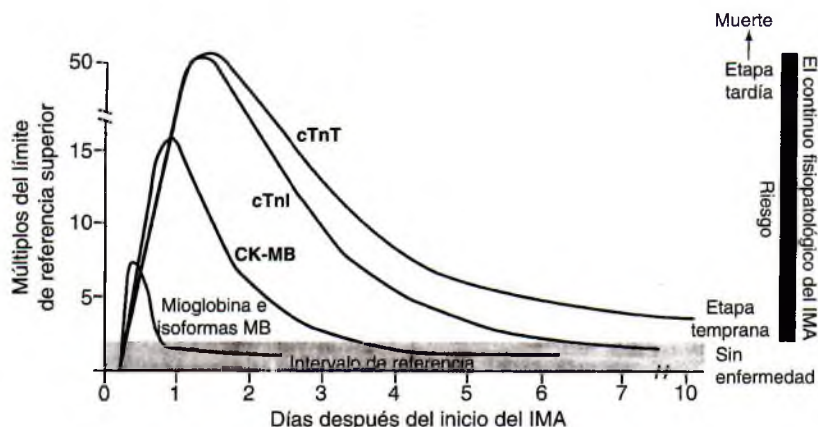


FIGURA 8-10. Marcadores cardíacos actuales: concentración relativa en función del tiempo de inicio después de AMI. (Fuente: Alan Wu, PhD y Robert Jesse, MD, PhD; desarrollada para una gráfica de pared patrocinada por Behring Diagnostics, San Jose, CA.)

muy baja para liberar el oxígeno enlazado. La concentración base del suero varía con la actividad física, y la masa muscular está en el intervalo de 30 a 90 ng/ml ($\mu\text{g/L}$) para varones adultos. Por lo general, las mujeres muestran concentraciones de mioglobina menores que 50 ng/ml.

Cuando el músculo estriado está dañado, se libera mioglobina, de modo que aumenta la concentración en la sangre. En un infarto de miocardio agudo (IMA), este incremento se ve dentro de 1 a 3 h del inicio y alcanza la concentración máxima en 5 a 12 h. Para el diagnóstico de IMA, la mioglobina sérica se debe medir de manera serial. Si una concentración de mioglobina repetida se duplica dentro de 1 a 2 h después del valor inicial, se debe considerar como diagnóstico importante de un IMA.²² El grado del aumento indica el tamaño del infarto. Debido a que la mioglobina es una molécula pequeña, el riñón la filtra sin dificultad, y las concentraciones sanguíneas vuelven a la normalidad en 18 a 30 h después del IMA. Por tanto, un incremento de mioglobina en la circulación es un indicador inicial de infarto de miocardio y es útil para determinar qué pacientes se beneficiarían de la terapia trombolítica. Como resultado de la velocidad de aparición y aclaramiento de la mioglobina, también es un marcador útil para monitorear el éxito o fracaso de la reperfusión. En la figura 8-10 se muestra la concentración relativa en función de tiempo de inicio después de un IMA para ciertos marcadores cardíacos actuales. Aunque la sensibilidad diagnóstica del aumento en la concentración de mioglobina después de un IMA está entre 75 y 100% según los informes, la mioglobina no es cardioespecífica. Las concentraciones altas se observan también en condiciones como la distrofia muscular progresiva y lesión por aplastamiento en las que se daña el músculo esquelético. Cuando la mioglobina se elimina de la circulación a través de los riñones, la insuficiencia renal también puede aumentar la concentración de mioglobina sérica. En el cuadro 8-4 se listan algunas de las causas de un aumento en la concentración de mioglobina.

Se han desarrollado métodos de análisis para mioglobina como aglutinación en látex, ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), inmunonefelometría y fluoroinmunoensayos. También está disponible una prueba de mancha cualitativa por medio de inmunocromatografía.

Troponina

La troponina es un complejo de tres proteínas que se une con los filamentos delgados de músculo estriado (cardíaco y esquelético) pero no está presente en el músculo liso. El complejo consta de troponina T (TnT), troponina I (TnI) y troponina C (TnC). Juntas, funcionan para regular la contracción del músculo. La contracción del músculo comienza con una liberación de calcio en respuesta a impulsos nerviosos. La troponina C (PM, 18000) se une al calcio, lo cual causa un cambio conformacional en el complejo troponina-tropomiosina. La tropomiosina es una proteína en forma de varilla que extiende toda la longitud de la estructura de la actina (la actina es el constituyente principal de los filamentos delgados). Este movimiento permite que la cabeza de la molécula de miosina, que forma los filamentos gruesos del músculo, interactúe con la actina. El enlace de miosina y actina acelera la actividad de la ATPasa de miosina, y da como resultado la contracción del músculo. Con la hidrólisis de ATP, la cabeza de la miosina vuelve a su posición original y el ciclo puede comenzar de nuevo.

CUADRO 8-4. CAUSAS DE CONCENTRACIONES ALTAS DE MIOGLOBINA

Infarto de miocardio agudo

Angina sin infarto

Rabdomiólisis

Fracturas múltiples; traumatismo muscular

Insuficiencia renal

Miopatías

Ejercicio vigoroso

Inyecciones intramusculares

Operación a corazón abierto

Convulsiones tónico-clónicas

Choque eléctrico

Trombosis arterial

Ciertas toxinas

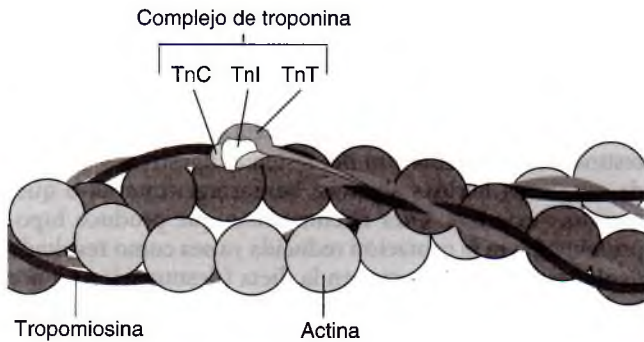


FIGURA 8-11. Esquema de un filamento delgado de músculo.

La troponina I (PM, 24 000) regula esta contracción del músculo estriado al evitar el enlace de la cabeza de la miosina con la actina e inhibir la actividad de la ATPasa de miosina. La TnI también sirve para enlazar el filamento de actina con la TnC. La función de la troponina T (PM, 37 000) es unir a la tropomiosina y colocar el complejo de troponina a lo largo del filamento de actina. En la figura 8-11 se muestra la estructura del filamento delgado del músculo.

Tres genes codifican para TnT: uno con cada músculo, cardíaco y esquelético rápido y lento. La TnI, también está codificada por tres genes, tiene isoformas similares, mientras que la TnC, codificada por dos genes, tiene sólo una forma de músculo cardíaco y esquelético lento. Las isoformas tienen estructuras de aminoácido distintas y son diferentes desde el punto de vista bioquímico y, por tanto, se pueden diferenciar entre sí. De interés particular son las isoformas cardíacas de troponina T (cTnT). Las concentraciones de troponina T cardíaca en el suero comienzan a aumentar en 3 a 4 h después del inicio del daño miocárdico, llegan al máximo en 10 a 24 h y permanecen elevadas durante 10 a 14 días después del IMA (fig. 8-10). Debido a que la TnT cardíaca es específica para el músculo cardíaco, e incluso cantidades pequeñas de necrosis cardíaca causan liberación de cantidades discernibles de cTnT en el suero, la medición de esta proteína es una ayuda valiosa en el diagnóstico de IMA. La TnT cardíaca es útil también para monitorear la efectividad de la terapia trombolítica en pacientes con infarto de miocardio. La relación de concentración de TnT cardíaca máxima en el día 1 a concentración de TnT cardíaca en el día 4 discrimina entre pacientes con perfusión exitosa (relación >1) y fallida (relación ≤ 1).²³ El pronóstico para estos pacientes es variable. Otro uso de la cTnT es en la evaluación del riesgo de pacientes con isquemia miocárdica aguda.^{24,25} El pronóstico de estos pacientes es variable. La duración, frecuencia y momento de los síntomas isquémicos se pueden usar para determinar la gravedad de la angina inestable pero no permiten predecir sucesos como infarto, choque cardiogénico, insuficiencia cardíaca, arritmia ventricular o incluso la muerte. Sin embargo, se ha mostrado que los valores altos de cTnT están relacionados con una mayor incidencia de resultados adversos, y mientras más alto sea el valor de cTnT, mayor es el riesgo. El valor pronóstico de cTnT es independiente

de la edad, hipertensión, cantidad de fármacos antianginales y cambios electrocardiográficos. La identificación de pacientes en riesgo de desarrollar complicaciones graves permite la institución de protección antitrombótica de largo plazo. Una desventaja de la cTnT de la cual se tienen informes es la posibilidad de incrementos falsos positivos en pacientes con insuficiencia renal.²⁶

La troponina cardíaca I es también muy específica para tejido miocárdico.²⁷ Debido a que la cTnI, al igual que la cTnT, normalmente no circula en la sangre y es 13 veces más abundante en el miocardio que CK-MB con base en peso, la cTnI es un indicador muy sensible de, incluso, una cantidad menor de necrosis cardíaca. Después de un IMA, las concentraciones de cTnI comienzan a aumentar en 3 a 6 h, alcanzan una concentración máxima en 14 a 20 h y vuelven a la normalidad en 5 a 10 días (fig. 8-10). El incremento relativo de cTnI es mayor que el de CK-MB o mioglobina después de estudios de perfusión en terapia trombolítica. La concentración alta de troponina cardíaca I se relaciona con el riesgo incrementado de mortalidad y morbilidad en pacientes con cardiopatía isquémica. Al evaluar cTnT y cTnI, ambas ofrecen información comparable.

Aunque las medidas simples son útiles para estratificación de riesgo, las mediciones en serie son necesarias para el diagnóstico exacto de IMA. Las determinaciones sucesivas de troponina cardíaca en muestras extraídas a intervalos de 3 a 8 h en un periodo de 48 h después de un IMA demostrarán el aumento y la disminución vistos con otros marcadores cardíacos. Las troponinas cardíacas se pueden medir en suero o plasma heparinizado mediante ELISA o ensayos inmunoenzimométricos con dos anticuerpos monoclonales dirigidos contra epitopos diferentes en la proteína. El intervalo de referencia para cTnT es <0.1 ng/ml (mg/L). La concentración de corte para inmunoensayos con cTnI varía de 0.1 a 3.1 ng/ml (mg/L). Esta diferencia se explica, por lo menos en parte, por las especificidades diferentes de los anticuerpos monoclonales empleados en los ensayos. De acuerdo con datos, la porción más grande de troponina I liberada en la corriente sanguínea después del daño al tejido miocárdico está en la forma de un complejo con cTnC, mientras que sólo una pequeña parte está en la forma libre.²⁸ La relación de cTnI total a libre varía durante el periodo que la troponina circula en la corriente sanguínea y es diferente en muestras de pacientes distintos. La TnC cardíaca, cuando se acompleja con cTnI, causa cambios estructurales y químicos en la cTnI que pueden enmascarar ciertos epitopos y disminuir la interacción de la cTnI con ciertos anticuerpos monoclonales. En otros ensayos, los pares de anticuerpos empleados reconocen epitopos que no son perturbados o no están protegidos estéricamente por otros complejos de troponina. Estos anticuerpos reaccionarán de igual manera con cTnI libre o acomplejada, lo que da como resultado valores de corte más altos.

Existen también ensayos inmunocromatográficos rápidos en tira seca. Los anticuerpos inmovilizados se unen con troponina y producen una banda violácea en la ventana de prueba. La intensidad y velocidad a la cual se forma el color se relacionan con la concentración de la troponina específica.

Fibronectina

La fibronectina es una glucoproteína compuesta de dos subunidades casi idénticas. Aunque la fibronectina es el producto de un solo gen, la proteína resultante puede existir en diversas formas debido al empalme de una sola pre-mRNA.²⁹ Las variantes demuestran una amplia variedad de interacciones celulares; por ejemplo, roles en la adhesión celular, diferenciación de tejido, crecimiento y cicatrización de heridas. Estas proteínas se encuentran en el plasma y en las superficies celulares, y pueden ser sintetizadas por hepatocitos del hígado, células endoteliales, macrófagos y fibroblastos peritoneales. Se ha empleado fibronectina plasmática como marcador nutricional.

En fechas recientes, el interés se ha centrado en una fibronectina única, fibronectina fetal (fFN), como un predictor para parto de pretérmino. La fibronectina fetal está presente por lo regular en el líquido amniótico y el tejido placentario. Existe en la matriz extracelular donde el óvulo implantado y la membrana placentaria entran en contacto con la pared uterina y funciona para mantener la adherencia de la placenta al útero. Cuando comienza el trabajo de parto, se rompe la membrana y hay un incremento en la concentración de fibronectina fetal en las secreciones cervical y vaginal. Por tanto, el parto pretérmino inminente debido a las condiciones que causan disrupción de las membranas, como estrés, infección o hemorragia, pueden ser identificadas por detección de fFN en secreciones cervicovaginales. Después de la recolección de estas secreciones con una torunda, las concentraciones de fibronectina fetal se determinan por inmunoensayo. En un embarazo normal, después que el saco gestacional se adhiere al endometrio a las 20 a 22 semanas de gestación, las concentraciones de fFN en secreciones cervicovaginales son <50 ng/ml y son indetectables mediante ensayos de rutina. Por tanto, la presencia de fFN en concentraciones detectables, una prueba positiva, indica un alto riesgo para parto prematuro.³⁰ Está disponible un ensayo cuantitativo.

Amiloide

El amiloide es un complejo de proteína-polisacárido producido y depositado en el tejido durante algunas infecciones crónicas, malignidades y trastornos reumatológicos. Es una sustancia homogénea que se tiñe fácil con rojo Congo. Las fibrillas de amiloide pueden penetrar muchos órganos, incluso el corazón y vasos sanguíneos, cerebro y nervios periféricos, riñones, hígado, bazo e intestinos, lo cual causa insuficiencia orgánica localizada o extendida. Por tanto, las manifestaciones clínicas del trastorno resultante, amiloidosis, son muy variadas.

Anormalidades de proteína total

La medición del contenido de proteína plasmática total provee información general que refleja estados morbosos en muchos sistemas orgánicos.

Hipoproteinemia

Una concentración de proteína total menor que el intervalo de referencia, *hipoproteinemia*, ocurre en cualquier con-

dición donde existe un balance negativo de nitrógeno. Una causa de una concentración baja de proteínas plasmáticas es la pérdida excesiva. Las proteínas plasmáticas se pueden perder por excreción en la orina en la enfermedad renal (es decir, síndrome nefrótico); fuga hacia el extracto gastrointestinal en la inflamación del sistema digestivo, y pérdida de sangre en heridas abiertas, hemorragia interna o quemaduras extensas. Otra circunstancia que produce hipoproteinemia es la captación reducida ya sea como resultado de deficiencia de proteína en la dieta (desnutrición) o por malabsorción intestinal debido al daño estructural (es decir, esprue). Sin la ingestión adecuada de proteínas, hay una deficiencia de ciertos aminoácidos esenciales y se deteriora la síntesis de proteínas. Una disminución en las proteínas séricas como resultado de la síntesis reducida se observa también en la enfermedad del hígado (sitio de toda la síntesis de proteínas no inmunes) o en trastornos de inmunodeficiencia hereditarios, en los que baja la producción de anticuerpos. Además, la hipoproteinemia puede resultar del catabolismo acelerado de proteínas, como ocurre en quemaduras, traumatismo u otras lesiones.

Hiperproteinemia

Un incremento en las proteínas plasmáticas totales, *hiperproteinemia*, no es tan común como la hipoproteinemia. Una condición en la que se observa un aumento de las fracciones de proteína es la deshidratación. Cuando se pierde agua en exceso del sistema vascular, las proteínas, como resultado de su tamaño, permanecen dentro de los vasos sanguíneos. Aunque la cantidad absoluta de proteínas permanece sin cambio, la concentración se eleva debido a un menor volumen de agua disolvente. La deshidratación resulta de diversas condiciones, entre otras vómito, diarrea, sudoración excesiva, acidosis diabética e hipoadosteronismo. Además de la deshidratación, la hiperproteinemia podría ser un resultado de la producción excesiva, sobre todo de globulinas γ .

Algunos trastornos se caracterizan por la aparición de una proteína monoclonal o paraproteína en el suero, y a menudo también en la orina. Esta proteína es una molécula de inmunoglobulina intacta, o en ocasiones, sólo cadenas ligeras κ o λ . El trastorno más común es el mieloma múltiple, en el que las células neoplásicas proliferan en la médula ósea. La paraproteína en este caso suele ser IgG, IgA o cadenas ligeras κ o λ . Las paraproteínas IgD e IgE rara vez ocurren. Las paraproteínas en el mieloma múltiple pueden alcanzar una concentración sérica de varios gramos por decilitro.

No todas las paraproteínas se relacionan con mieloma múltiple. De ordinario, la paraproteína IgM se encuentra en pacientes con macroglobulinemia de Waldenström, una condición benigna. Muchos trastornos, incluso los estados inflamatorios crónicos, trastornos vasculares por colágeno y otros neoplasmas, pueden estar relacionados con paraproteínas. Los incrementos policlonales de inmunoglobulinas, que estarían representados por incrementos en las cadenas κ y λ , se observan en el suero y la orina en muchas enfermedades crónicas.

En el cuadro 8-5 se resumen los estados morbosos que afectan las concentraciones de proteína total con cambios relativos en las fracciones de albúmina y globulina.

ESTUDIO DE CASO 8-3

Una mujer de 76 años de edad fue admitida al hospital con gangrena de su pie derecho. Estaba desorientada y tenía dificultad para hallar las palabras correctas para expresarse. En la evaluación, se supo que vivía sola y que tenía que preparar sus alimentos. Una hija que vivía en el área dijo que su madre se alimentaba mal, aun cuando se le motivara. Un ECG, realizado en la admisión, mostró posible ritmo ectópico con contracciones supraventriculares prematuras ocasionales. El cardiólogo sospecha de un posible infarto de miocardio inferior de edad indeterminada. Los resultados de laboratorio se muestran en el cuadro 8-3.1. de estudio de caso.

Preguntas

1. En este paciente, ¿cuál es el valor clínico de las mediciones de troponina I?
2. ¿Cuál es una explicación posible para la concentración alta de mioglobina?
3. ¿Qué condición está indicada por el valor bajo de prealbúmina?

CUADRO 8-3.1. DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

Día 1		
CK total	187 U/L	(40–325)
Masa de CK-MB	6 µg/L	(<8)
Troponina I	16.3 µg/L	(0–2)
Prealbúmina	15 mg/dL	(17–42)
Albumina	2.7 g/dL	(3.7–4.9)
Repetición (5 h después)		
CK total	180 U/L	
Masa de CK-MB	5.4 µg/L	
Troponina I	17.5 µg/L	
Día 2		
CK total	177 U/L	
Masa de CK-MB	4.5 µg/L	
Troponina I	13.7 µg/L	
Mioglobina	<500 µg/L	(<76)

Métodos de análisis

Nitrógeno total

Una determinación de nitrógeno total mide el nitrógeno enlazado químicamente en la muestra. El método se puede aplicar a varias muestras biológicas, incluso plas-

ma y orina. En el plasma se mide la proteína total y los compuestos de nitrógeno no proteínico, como la urea y la creatinina. El análisis de la concentración de nitrógeno total es útil para evaluar el balance de nitrógeno. El monitoreo del estado nutricional de nitrógeno es importante en particular para pacientes que reciben nutrición parenteral

CUADRO 8-5. CONCENTRACIONES DE PROTEÍNAS EN ESTADOS MORBOSOS SELECCIONADOS

PROTEÍNA TOTAL	ALBÚMINA	GLOBULINA	ENFERMEDAD
N, ↓	↓	↑	Daño hepático <ul style="list-style-type: none"> • Cirrosis puente β-γ • Hepatitis β globulinas γ • Ictericia obstructiva ↑ globulinas α₂, β Quemaduras, traumatismo Infecciones <ul style="list-style-type: none"> • Aguda ↑ globulinas α₁, α₂ • Crónica ↑ globulinas α₁, α₂, γ
↓	↓	N	Malabsorción Dieta inadecuada Síndrome nefrótico ↑ globulinas α ₂ , β; ↓ globulinas γ
↓	N	↓	Síndromes de inmunodeficiencia
↓	↓	↓	Síndrome de retención de sal
↑	↑	↑	Deshidratación
↑	N	↑	Mieloma múltiple Gammopatías monoclonales y policlonales

↑ = aumentan; ↓ = disminuyen; N = concentraciones normales.

total, como los individuos con lesiones neurológicas que son mantenidos con líquidos intravenosos por un período prolongado.

El método de análisis de nitrógeno total emplea quimioluminiscencia. La muestra, en presencia de oxígeno, se calienta hasta una temperatura alta ($1100 \pm 20^{\circ}\text{C}$). Cualquier nitrógeno enlazado químicamente se oxida a óxido nítrico. Este último se mezcla entonces con ozono (O_3) para formar una molécula de dióxido de nitrógeno excitada (NO_2^*). Cuando esta molécula decae al estado basal, emite un fotón de luz. La cantidad de luz emitida es proporcional a la concentración de nitrógeno en la muestra. Esta señal de quimioluminiscencia se compara con la de un estándar para cuantificación.

Proteínas totales

La muestra que más se usa para determinar la proteína total es suero y no plasma. No es necesario recolectarla cuando el paciente está en ayuno, aunque en algunos de los métodos ocurren interferencias con la presencia de lipemia. La hemólisis elevará falsamente el resultado de proteína total debido a la liberación de proteínas de eritrocitos en el suero. Las muestras de suero claras, bien cerradas, son estables durante una semana o más a temperatura ambiente, por un mes a 2 a 4°C , y durante por lo menos dos meses a -20°C .³¹

El intervalo de referencia para la proteína total sérica es 6.5 a 8.3 g/dl (65 a 83 g/L) para adultos ambulatorios. En posición de recostado, la concentración de proteína total sérica es 6.0 a 7.8 g/dl (60 a 78 g/L). Este intervalo normal inferior es un resultado de cambios en la distribución de agua en los compartimientos extracelulares. La concentración de proteína total es baja al nacer, y las concentraciones de adulto se alcanzan a la edad de 3 años. Hay una disminución ligera con la edad. Las concentraciones de proteína total más bajas se observan en el embarazo. Los métodos para la determinación de proteína total se describen a continuación y se resumen en el cuadro 8-6.

Kjeldhal. El método clásico para la cuantificación de proteína total es el método de Kjeldahl. Debido a que es preciso y exacto, se emplea como un estándar mediante el cual se comparan otros métodos. En este método, se

determina el nitrógeno; se supone un promedio de 16% de nitrógeno en masa en la proteína para calcular la concentración de proteína.

Las proteínas séricas se precipitan con un ácido orgánico como el ácido tricloroacético o ácido tungstíco. El nitrógeno no proteínico se elimina con el sobrenadante. El gránulo de proteína se digiere en H_2SO_4 con calor (340 a 360°C) y un catalizador, como el sulfato cúprico, para acelerar la reacción. El sulfato de potasio se introduce también para incrementar el punto de ebullición a fin de mejorar la eficacia de la digestión. El H_2SO_4 oxida al C, H y S en la proteína a CO_2 , CO , H_2O y SO_2 . El nitrógeno en la proteína se convierte en bisulfito de amonio (NH_4HSO_4), que se mide al añadir álcali y destilar el amoniaco en una disolución estándar de ácido bórico. El borato de amonio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$) que se forma se titula con una disolución estándar de HCl para determinar la cantidad de nitrógeno en la disolución de proteína original.

Este método no se emplea en el laboratorio clínico porque es tardado y muy tedioso para uso rutinario. El contenido de nitrógeno de cada proteína puede diferir del 16% supuesto en el cálculo de Kjeldhal descrito. El contenido de nitrógeno real de proteínas séricas varía de 15.1 a 16.8%. Así, si se emplea un estándar de proteína (calibrado con el Kjeldahl) que difiere en composición de la muestra de suero por analizar, se introduce un error porque el contenido de nitrógeno no será el mismo. También es necesario suponer que no se pierden proteínas de concentración significativa en la muestra desconocida en el paso de precipitación. A pesar de estas suposiciones, el método de Kjeldahl, aún es considerado por algunos como el método de referencia para proteínas.

Refractometría. La refractometría es útil cuando se requiere un método rápido que requiere un pequeño volumen de suero. La velocidad de la luz cambia cuando pasa el límite entre las dos capas transparentes (es decir, aire y agua), lo cual causa que la luz se curve (refracte). Cuando se añade un soluto al agua, el índice de refracción a 20°C de 1.330 para agua pura se incrementa en una cantidad proporcional a la concentración de soluto en la disolución. Esta proporcionalidad se cumple bastante bien en un incremento de concentración de 2 a 3 (es decir, de 520 g/dl). Debido a que la mayor parte de los sólidos disueltos

CUADRO 8-6. MÉTODOS DE PROTEÍNA TOTAL

MÉTODO	PRINCIPIO	COMENTARIO
Kjeldahl	Digestión de proteína; medición de contenido de nitrógeno	Método de referencia; suponga un contenido promedio de nitrógeno de 16%
Refractometría	Medición de índice de refracción debido a solutos en el suero	Rápido y simple; suponga que los sólidos no proteínicos están presentes en la misma concentración que en el suero de calibración
Biuret	Formación de quelato de color violeta entre los iones Cu^{2+} y los enlaces peptídicos	Método de rutina; requiere por lo menos dos enlaces peptídicos y un medio alcalino
Enlace de colorante	La proteína se une al colorante y causa un cambio espectral en el máximo de absorbancia del colorante	Uso en investigación

en el suero son proteínas, el índice de refracción refleja la concentración de proteína. Sin embargo, en la adición a proteína, el suero contiene varios sólidos no proteínicos, como electrolitos, urea y glucosa, que contribuyen al índice de refracción del suero. Por tanto, la escala integrada en el refractómetro se debe calibrar con un suero de una concentración de proteína conocida que también tiene presentes los constituyentes no proteínicos. Se hace una suposición de que las muestras de prueba contienen estos otros solutos en casi la misma concentración que en el suero de calibración. El error se introduce cuando estas sustancias se incrementan o cuando el suero es pigmentado (por la bilirrubina), lipémico o hemolizado. El índice de refracción también es dependiente de la temperatura, y algunos refractómetros tienen integrada una corrección de temperatura.

Por lo general, la proteína total se mide con un refractómetro portátil. Se coloca una gota de suero mediante acción capilar entre un cubreobjetos y el prisma. El refractómetro se sostiene a fin de que la luz se refracte por la capa de suero. Los rayos refractados ocasionan que parte del campo de visión se ilumine, y se produce un punto en el que hay una línea definida entre la luz y la oscuridad. Se lee el número de gramos por litro en esta línea en la escala interna. La temperatura se corrige en el medidor TS (American Optical Corp, Scientific Instruments Division; Buffalo, NY) mediante un sistema de cristal líquido.

La medición de proteína total por refractometría es fácil y rápida. La exactitud es aceptable,³² con un acuerdo reportado de $\pm 3\%$ con el método de biuret, pero está sujeta a interferencias falsas positivas.

Biuret. El procedimiento de biuret es el método más utilizado y el que recomienda el grupo de expertos de la *International Federation of Clinical Chemistry* para la determinación de proteína total. En esta reacción, los iones cúpricos (Cu^{2+}) forman complejos con los grupos que intervienen en el enlace peptídico. En un medio alcalino y en presencia de por lo menos dos enlaces peptídicos, se forma un quelato de color violeta. El reactivo también contiene tartrato de potasio sódico para acomplejar los iones cúpricos a fin de evitar su precipitación en la disolución alcalina, e ioduro de potasio, que actúa como un antioxidante. La absorbancia del quelato coloreado formado se mide a 540 nm. Cuando reaccionan los péptidos pequeños, el color del quelato producido tiene tono diferente al que se observa con los péptidos más grandes. El color varía de rosa a violeta rojizo. Sin embargo, no hay diferencia discernible en la reacción dada por las proteínas vistas de forma normal en el plasma. Por tanto, en un amplio intervalo de concentraciones el color que se forma es proporcional al número de enlaces peptídicos presentes y refleja la concentración de proteína total. Sin embargo, en presencia de proteínas anormalmente pequeñas, como las vistas en el mieloma múltiple, la concentración de la proteína se subestimaría debido al tono de color más ligero producido. Si se debe analizar suero lipémico, existe una manera de superar este problema.³³

Además del grupo NHCO que se presenta en el enlace peptídico, los iones cúpricos reaccionarán con cualquier

compuesto que tiene dos o más de los siguientes grupos: NHCH_2 y NHCS . El método se nombró porque una sustancia llamada biuret ($\text{NH}_2\text{CONHCONH}_2$) reacciona con iones cúpricos de la misma manera. Debe haber un mínimo de dos de los grupos reactivos; por tanto, los aminoácidos y los dipéptidos no reaccionarán.

Enlace de colorante. Los métodos de enlace de colorante se basan en la capacidad de la mayor parte de las proteínas del suero para unirse con colorantes, aunque podría variar la afinidad con la que se enlazan. Los colorantes azul de bromofenol, Ponceau S, negro de amido 10B, verde de lisamina y azul brillante de Coomassie se han empleado para teñir bandas de proteína después de la electroforesis. Además, se ha descrito un método de enlace de colorante para la determinación de proteína total con el azul brillante de Coomassie 250. El enlace de azul brillante de Coomassie 250 a proteína ocasiona un cambio en la absorbancia máxima del colorante de 465 a 595 nm. El incremento de absorbancia a 595 nm se emplea para determinar la concentración de proteína. Aunque el método es simple y rápido, las respuestas de enlace de colorante desiguales de cada una de las proteínas ha motivado una recomendación para tener precaución cuando se aplica esta prueba a la mezcla compleja de proteína encontrada en el suero.

Absorción ultravioleta. Las proteínas séricas también han sido estimadas mediante espectrofotometría ultravioleta. Las proteínas absorben luz a 280 y a 210 nm. La absorptividad (absorbancia de una disolución de 1% en una trayectoria de luz de 1 cm) a 280 nm se relaciona con la absorbancia de la tirosina, triptófano y aminoácidos de fenilalanina en la proteína. La albúmina humana tiene sólo un residuo de triptófano en la molécula y una absorptividad de 5.31 comparada con el fibrinógeno, que tiene 55 residuos de triptófano y una absorptividad de 15.1.

La absorbancia de las proteínas a 210 nm es un resultado de la absorbancia del enlace peptídico a esa longitud de onda. La longitud de onda a la cual ocurre la absorbancia máxima depende en menor grado de la conformación de la proteína. Estos métodos han sido empleados rara vez en laboratorios clínicos para monitorear eluatos de separaciones de proteína de columnas. Para usar estos métodos, las suposiciones deben ser que la composición de la muestra de suero desconocido esté cerca de la correspondiente a la disolución de calibración.

Fraccionamiento, identificación y cuantificación de proteínas específicas

En el ensayo de proteínas séricas totales, se puede obtener información diagnóstica útil para determinar la fracción de albúmina y las globulinas. Una inversión o cambio significativo en la relación de albúmina y la globulina total se notó primero en enfermedades del riñón y el hígado. Para determinar la relación de albúmina a globulina (A/G), es común determinar proteína total y albúmina. Las globulinas se calculan al restar la albúmina de la proteína total (proteína total/albúmina = globulinas).

CUADRO 8-7. MÉTODOS CON ALBÚMINA

MÉTODO	PRINCIPIO	COMENTARIO
Precipitación de sal	Las globulinas se precipitan en concentraciones salinas altas; la albúmina en el sobrenadante se cuantifica por reacción de biuret	Necesita bastante mano de obra
Enlace de colorante		
Anaranjado de metilo	La albúmina se une al colorante; causa cambio en el máximo de absorción	No específico para albúmina
HAAB [2(4'-hidroxiazobenceno)-ácido benzoico]	La albúmina se une al colorante; causa cambio en el máximo de absorción	Muchas interferencias (salicilatos, bilirrubina)
VBC (verde de bromocresol)	La albúmina se une al colorante; causa cambio en el máximo de absorción	Sensible; sobrestima las concentraciones bajas de albúmina; es el colorante que se emplea con más frecuencia
PBC (púrpura de bromocresol)	La albúmina se une al colorante; causa cambio en el máximo de absorción	Específico, sensible, preciso
Electroforesis	Las proteínas se separan con base en la carga eléctrica	Exacto; da una visión general de los cambios relativos en diferentes fracciones de proteína

Cuando se encuentra una anomalía en la proteína total o albúmina, se realiza por lo regular un análisis electroforético. Las proteínas séricas se separan en cinco o más fracciones por medio de los métodos electroforéticos usuales. Si se observa una anomalía en el patrón electroforético, se hace un análisis de cada una de las proteínas dentro del área de la anomalía.

Los métodos para medir fracciones de proteína se describen en seguida. En el cuadro 8-7 se listan los tipos de análisis usados en la cuantificación de concentraciones de albúmina.

Fraccionamiento de sales. El fraccionamiento de proteínas ha sido realizado mediante varios procedimientos con precipitación. Las globulinas se pueden separar de la albúmina mediante salificación con sales de sodio. Las sales, al disminuir el agua disponible para hidratación de grupos hidrófilos, causarán precipitación de las globulinas. Se han empleado diversas concentraciones (26 a 28% p/v) de distintas sales (p. ej., Na_2SO_4 , Na_2SO_3). La albúmina que permanece en disolución en el sobrenadante se puede medir mediante alguno de los métodos rutinarios de proteína total. La salificación no se usa para separar la fracción de albúmina en la mayor parte de los laboratorios actuales porque están disponibles métodos directos que reaccionan de manera específica con la albúmina en una mezcla de proteínas.

Enlace de colorante. Los métodos más comunes para la determinación de albúmina son los procedimientos de enlace de colorante. El pH de la disolución se ajusta de modo que la albúmina tenga carga positiva. Entonces, por fuerzas electrostáticas, la albúmina es atraída y se une con un colorante aniónico. Cuando se une con la albúmina, el colorante tiene un máximo de absorción diferente al del colorante libre. La cantidad de albúmina se puede cuantificar al medir la absorbancia del complejo de albúmina-

colorante. Se han hecho uso de diversos colorantes, como anaranjado de metilo, 2-4'-hidroxiazobenceno-ácido benzoico (HAAB), verde de bromocresol (VBC) y púrpura de bromocresol (PBC). El anaranjado de metilo no es específico para albúmina; las lipoproteínas β y algunas globulinas α_1 y α_2 se unen también a este colorante. El HAAB, aunque más específico para albúmina, tiene una sensibilidad baja. Además, varios compuestos como salicilatos, penicilina, bilirrubina conjugada y sulfonamidas, interfieren con el enlace de la albúmina al colorante. El VBC no es afectado por sustancias interferentes como la bilirrubina y los salicilatos; sin embargo, la hemoglobina se enlaza al colorante. Por cada 100 mg/dl de hemoglobina, la albúmina se incrementa en 0.1 g/dl.³⁴ Según los informes, la medición de la albúmina mediante VBC sobrestima los valores bajos de albúmina. Esto se observó en particular en los pacientes cuando la concentración baja de albúmina iba acompañada de una fracción elevada de globulina α , como ocurre en el síndrome nefrótico o en la enfermedad renal terminal.³⁵ Se encontró que las globulinas α , como la ceruloplasmina y la glucoproteína de ácido α , reaccionan con VBC y producen un color cuya intensidad es casi un tercio de la reacción vista con la albúmina. Esta reacción de globulinas α contribuyó de forma significativa con la absorbancia de la prueba sólo después que los tiempos de incubación excedieron 5 min. Por tanto, la especificidad de la reacción para albúmina se puede mejorar si se toman lecturas de absorbancia dentro de un intervalo corto estandarizado después del mezclado.³⁶ Los tiempos empleados han variado de 0.5 a 30 s después del mezclado.

El púrpura de bromocresol (PBC) es un colorante opcional que se puede usar para las determinaciones de albúmina. Por enlazarse de manera específica con la albúmina, el PBC no está sujeto a la mayor parte de las interfe-

rencias, y es preciso y exhibe correlación excelente con los métodos de referencia de inmunodifusión. Sin embargo, el análisis de la albúmina mediante el método de PBC, no es sin desventajas. En pacientes con insuficiencia renal, el método de PBC subestima la albúmina sérica.³⁷ El suero de estos pacientes al parecer contiene ya sea una sustancia unida fuertemente a albúmina o una albúmina modificada en su estructura que afecta el enlace del PBC. De manera similar, la unión del PBC con la albúmina se deteriora en presencia de bilirrubina enlazada de forma covalente. En estas situaciones el enlace del VBC no resulta afectado. En la actualidad, tanto el método del VBC como el del PBC se emplean para cuantificar albúmina.

Determinación de globulinas totales. Otro modo de fraccionar proteínas es la medición de globulinas totales. La albúmina se puede calcular entonces por sustracción de la globulina de proteína total. La concentración de globulina total en suero se determina mediante un método colorimétrico directo con ácido glioxílico. El ácido glioxílico, en presencia de Cu^{2+} y en un medio ácido (ácido acético y H_2SO_4), se condensa con el triptófano hallado en las globulinas para producir un color púrpura. La albúmina tiene casi 0.2% de triptófano, comparada con 2 a 3% para las globulinas séricas. Cuando se calibra con un suero de concentraciones conocidas de albúmina y globulina, se pueden determinar las globulinas totales. La medición de las globulinas con base en su contenido de triptófano nunca se ha vuelto común debido a la facilidad y simplicidad de los métodos de enlace a colorante para albúmina.

Electroforesis. La electroforesis separa las proteínas con base en sus densidades de carga eléctrica. Las características de carga de la proteína se analizaron antes en este capítulo. La proteína, cuando se coloca en una corriente eléctrica, se moverá de acuerdo con su densidad de carga, que se determina mediante el pH de una disolución amortiguadora circundante. A un pH mayor que el pI, la proteína tiene carga negativa, y viceversa. La dirección de movimiento depende de si la carga es positiva o negativa;

los cationes (carga neta positiva) migran hacia el cátodo (terminal negativa), donde los aniones (carga neta negativa) migran al ánodo (terminal positiva). La velocidad de la migración depende en gran medida del grado de ionización de la proteína al pH de la disolución amortiguadora. Esto se puede estimar de la distancia entre el pI de la proteína y el pH de la disolución amortiguadora. Mientras más difieran el pH de la disolución amortiguadora y el pI, mayor es la magnitud de la carga neta de esa proteína y se moverá más rápido en el campo eléctrico. Además de la densidad de carga, la velocidad del movimiento también depende de la intensidad del campo eléctrico, tamaño y forma de la molécula; la temperatura, y las características de la disolución amortiguadora (es decir, pH, composición cualitativa y fuerza iónica). La movilidad electroforética específica μ de una proteína se puede calcular por:

$$\mu = \frac{(s/t)}{F} \quad (\text{Ec. 8-1})$$

donde

s = distancia recorrida en cm

t = tiempo de migración en segundos

F = intensidad del campo en V cm^{-1}

Tiselius desarrolló la electroforesis usando un medio acuoso. Ésta se conoce como *límite móvil* o *electroforesis libre*. Después, en el laboratorio clínico, se empleó papel. El término dado al uso de un medio sólido es *electroforesis de zona*. El papel ha sido reemplazado en gran medida por acetato de celulosa o gel de agarosa como medio de soporte empleado en la actualidad.

Electrólisis de proteína sérica

En el método estándar para electroforesis de proteína sérica (EPS), las muestras séricas se aplican cerca del extremo del cátodo de una tira con medio de soporte que se satura con disolución amortiguadora alcalina (pH, 8.6). La tira de soporte se conecta a dos electrodos y se pasa

ESTUDIO DE CASO 8-4

Una mujer de 32 años de edad desarrolló fatiga progresiva y, después, edema en sus tobillos y en otras regiones dependientes de su cuerpo cuando se acostaba por períodos prolongados. Aunque producía volúmenes de orina casi normales, el análisis de orina con tira reactiva reveló proteína 4 plus. Su albúmina sérica estuvo abajo del intervalo de referencia y su colesterol sérico fue significativamente alto. La pérdida de proteína de orina estuvo en el intervalo de 10 a 15 g/24 h. La biopsia renal mostró participación glomerular extensa.

La electroforesis de proteína sérica mostró cantidades reducidas de albúmina (2.27 g/dL), globulinas alfa, y globulinas γ . La fracción α_2 fue significativamente elevada (34.4% del total) como también la banda de

lipoproteína β . La proteína sérica total fue 4.7 g/dL. La paciente se convirtió en candidato para trasplante renal. (Caso 8-4 cortesía del Dr. R. McPherson, presidente, Patología clínica, Medical College of Virginia Hospitals, Virginia Commonwealth University Health System.)

Preguntas

1. ¿Qué estado morbozo es la explicación más probable para los síntomas del paciente y los resultados de laboratorio?
2. En esta condición, ¿por qué son altas las fracciones de globulina α_2 y β ?
3. ¿Por qué es edematoso el paciente?

una corriente por la tira para separar las proteínas. Todas las proteínas séricas principales llevan una carga negativa neta a pH 8.6 y migrarán hacia el ánodo. Si se emplean métodos estándar, las proteínas séricas se disponen por sí mismas en cinco bandas: la albúmina es la que viaja más rápido hacia el ánodo seguida de globulinas α_1 y α_2 , globulinas β y globulinas γ , en ese orden. La amplitud de la banda de proteínas en una fracción depende de la cantidad de proteínas con características moleculares un poco distintas que están presentes en esa fracción. La proteína homogénea da una banda reducida.

Después de la separación, las fracciones de proteína se fijan al sumergir la tira de soporte en una disolución ácida (como el ácido acético) para desnaturalizar las proteínas e inmovilizarlas en su medio de soporte. Después se tiñen las proteínas. Se han empleado diversos colorantes, incluso Ponceau S, negro de Amido o azul de Coomassie. La proteína aparece como bandas en el medio de soporte. Los patrones electroforéticos representativos del acetato de celulosa se muestran en la figura 8-12B, mientras que la figura 8-12A muestra los patrones obtenidos con gel de agarosa como medio de soporte.

Se realiza la inspección visual de la membrana, o la tira transparente clarificada se coloca en un densitómetro de exploración. Las mediciones de reflectancia se pueden hacer también en membranas no clarificadas; sin embargo, la densitometría de exploración es más común. El patrón de la membrana se hace pasar por una rendija por la que se transmite luz a un fototubo para registrar la absorbancia del colorante que se enlaza a cada fracción. Por lo general,

esta absorbancia se registra en dispositivo de gráfica de tira para obtener un patrón de las fracciones (fig. 8-13).

Muchos densitómetros de exploración calculan el área bajo la curva de absorbancia y el porcentaje de colorante total que aparece en cada fracción. La concentración se calcula entonces como un porcentaje de la proteína total que se determinó mediante uno de los métodos de proteína, como el procedimiento de biuret.

El cálculo se puede hacer también cortando las bandas pequeñas de la membrana y eluyendo el colorante de cada banda en 0.1 M de NaOH. Las absorbancias se agregan para obtener la absorbancia total, y luego se calcula el porcentaje de la absorbancia total hallada en cada fracción.

Se debe ejecutar un control sérico de referencia con cada ejecución electroforética (fig. 8-13A), y los resultados se deben monitorear para mantener límites de confianza de 95% para las fracciones. Los valores de referencia para cada fracción son como sigue: albúmina, 53 a 65% de la proteína total (3.5 a 5.0 g/dl); globulina α_1 , 2.5 a 5% (0.1 a 0.3 g/dl); globulina α_2 , 7 a 13% (0.6 a 1.0 g/dl); globulina β , 8 a 14% (0.7 a 1.1 g/dl), y globulina γ , 12 a 22% (0.8 a 1.6 g/dl).

El uso accidental de plasma dará como resultado una banda reducida en la región de globulina β_2 debido a la presencia de fibrinógeno. La presencia de hemoglobina libre causará una señal en el patrón en la zona tardía α_2 o en la zona temprana β , y la presencia de complejos de hemoglobina-haptoglobina causará una señal pequeña en la zona α_2 .

Con frecuencia la información obtenida por cuantificación de cada fracción es casi igual a la obtenida por inspección visual. La gran ventaja de la electroforesis en comparación con la cuantificación de proteínas específicas es la visión global que ofrece. El patrón electroforético puede dar información acerca de los incrementos y decrementos relativos dentro de la población de proteínas, así como información acerca de la homogeneidad de una fracción.

Es probable que el hallazgo más significativo de un patrón electroforético sea la enfermedad de inmunoglobulina monoclonal. La exploración densitométrica mostrará un máximo definido si el incremento en las inmunoglobulinas es un resultado de un incremento monoclonal (fig. 8-13B). Un pico en la región γ , β , o, algunas veces, α_2 señala la necesidad de examinar las inmunoglobulinas y observar signos clínicos en la mielomatosis. De igual manera, una deficiencia en la inmunoglobulina predominante, IgG, se ve como una tinción muy tenue en el área γ . Otro hallazgo significativo es una disminución en la antitripsina α_1 (fig. 8-13C).

En el síndrome nefrótico, el paciente pierde albúmina sérica y proteínas de bajo peso molecular en la orina. También se pierde cierta cantidad de IgG. Al mismo tiempo, ocurre un incremento en la macroglobulina α_2 , lipoproteína β , componentes complemento y haptoglobina. Estos dos sucesos originan una disminución drástica en la cantidad relativa de albúmina, y un incremento importante en las cantidades relativas de las fracciones de globulina α_2 y β (fig. 8-13D).

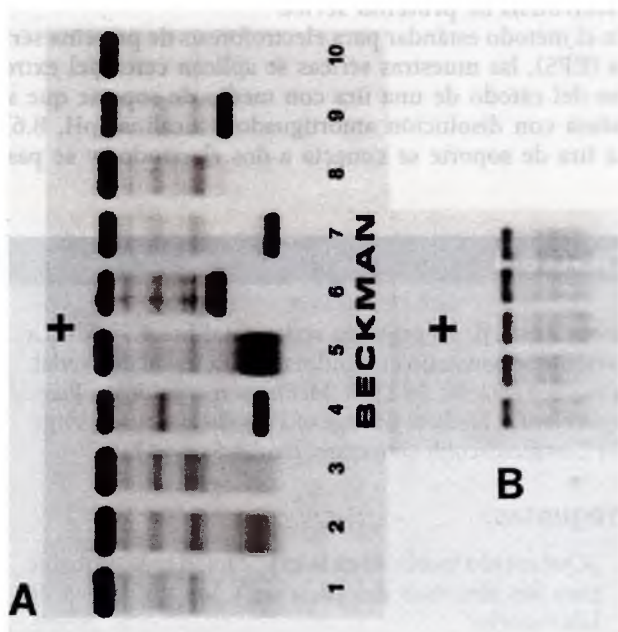
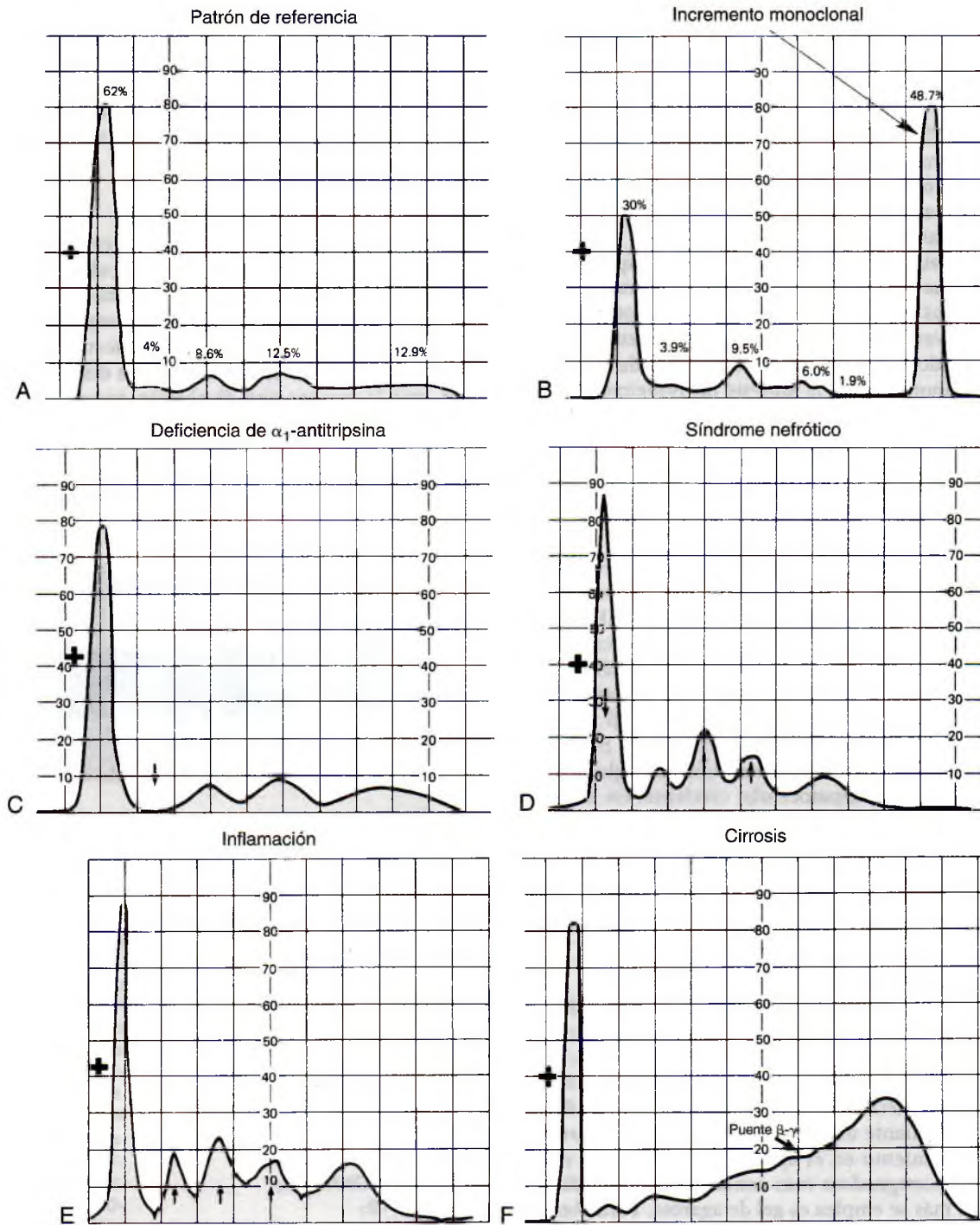


FIGURA 8-12. Patrones electroforéticos de proteína sérica en agarosa y acetato de celulosa. (A) Gel de agarosa, note la globulina y monoclonal; (B) acetato de celulosa. (Cortesía del Department of Laboratory Medicine, The University of Texas M.D. Anderson Hospital, Drs. Liu, Fritsche and Trujillo, Ms. McClure, supervisor.)



Se observa un patrón inflamatorio que indica una condición inflamatoria cuando hay una disminución en la albúmina y un incremento en las globulinas α_1 (glucoproteína ácida α_1 , antitripsina α_1), globulinas α_2 (ceruloplasmina y haptoglobina) y la banda de globulina β (proteína C reactiva; fig. 8-13E). Este tipo de patrón, conocido también como *patrón reactante de fase aguda*, se ve en traumatismos, quemaduras, infarto, malignidad y hepatopatía. Los reactantes de fase aguda se llaman así porque se incrementan en el suero días después del traumatismo o la exposición a agentes inflamatorios. El fibrinógeno, la haptoglobina, ceruloplasmina y amiloide A sérico se incrementan varias veces, mientras que la PCR y la macrofetoproteína α_2 se incrementan varios cientos de veces. La interleucina 1, un factor proteínico de leucocitos, es reconocida como un mediador importante de la síntesis de proteínas de fase aguda por hepatocitos. Estos reactantes de fase aguda al parecer desempeñan alguna función en los mecanismos inmunorreguladores. Las infecciones crónicas también producen una disminución en la albúmina, pero el incremento de globulina se encuentra en la fracción γ así como en las fracciones α_1 , α_2 y β .

El patrón electroforético de proteínas séricas en la hepatopatía muestra la disminución en la concentración de albúmina sérica y el incremento en la globulina γ . El patrón en la cirrosis del hígado es bastante característico, con las anomalías ya mencionadas; sin embargo, además, hay algunas globulinas γ de movimiento rápido que evitan la resolución de las bandas de globulina β y γ . Esto se conoce como el puente β - γ de la cirrosis (fig. 8-13F).

En la hepatitis infecciosa, la fracción de la globulina γ aumenta con el daño hepatocelular creciente. En la ictericia obstructiva, hay un incremento en las globulinas α_2 y β . Algo que también se observa en la ictericia obstructiva es una mayor concentración de lipoproteínas, que es un indicador de su origen biliar. Éste es el caso en particular cuando hay poca o ninguna disminución de la albúmina sérica.

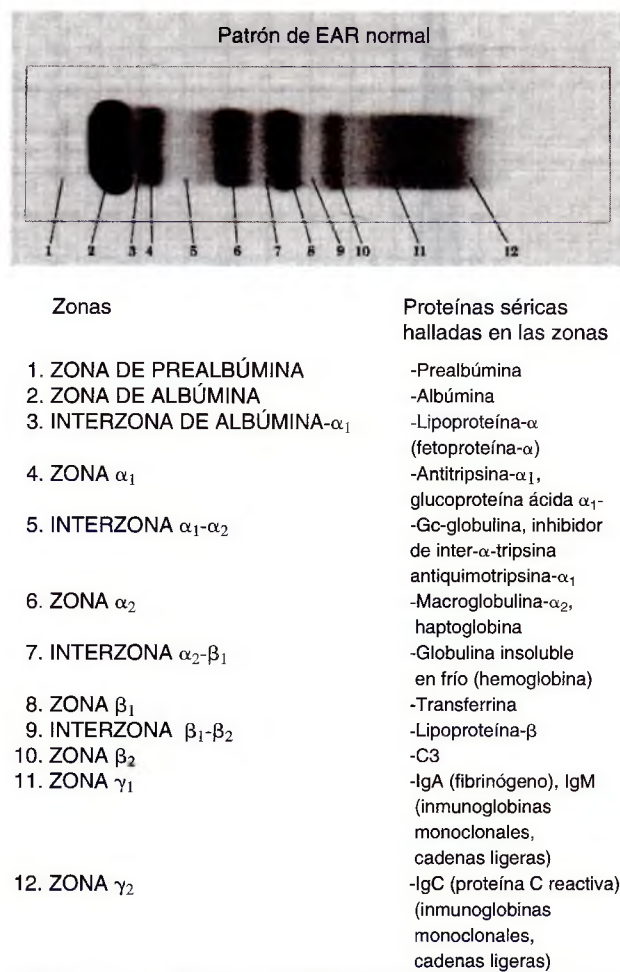
Electroforesis proteínica de alta resolución

La EPS estándar separa la proteína en cinco zonas distintas, que comprenden muchas proteínas individuales. Al modificar los parámetros electroforéticos, estas fracciones se pueden resolver en hasta 12 zonas. Esta modificación, conocida como *electroforesis de alta resolución* (EAR), se lleva a cabo mediante un alto voltaje acoplado con un sistema de enfriamiento en el aparato electroforético y una disolución amortiguadora más concentrada. El medio de soporte que más se emplea es gel de agarosa. Para obtener los patrones de EAR, las muestras se aplican en gel de agarosa, se someten a electroforesis en una cámara enfriada mediante un bloque de gel, se tiñen y se inspeccionan de forma visual. Cada zona se compara con la misma zona en un patrón de referencia por intensidad de color, apariencia, tasas de migración y apariencia de bandas anormales o regiones de densidad. Un patrón de EAR sérico normal se muestra en la figura 8-14. Además, los patrones se pueden examinar con un densitómetro para obtener estimaciones semicuantitativas de la proteína hallada en cada zona. La EAR es en particular útil para detectar bandas monoclonales

pequeñas y diferenciar bandas inusuales o incrementos sobresalientes de bandas normales que pueden disfrazarse de gammapatía monoclonal. Por ejemplo, en pacientes con síndrome nefrótico, una banda incrementada de macroglobulina α_2 en la región α_2 se podría confundir con una proteína monoclonal migratoria tal como una gammapatía de proteína monoclonal IgA.³⁸

Electroforesis capilar

La electroforesis capilar (EC) es una colección de técnicas en las que la separación de moléculas tiene lugar en capilares de sílice combinada de diámetro pequeño. Los capilares suelen ser de 30 a 50 cm de largo, con un diámetro interno entre 25 y 100 μm . En la electroforesis de zona capilar, los capilares se llenan con una disolución conductora, por lo regular una disolución amortiguadora acuosa. Un extremo del capilar se conecta a tierra (extremo de detección) y el otro, el extremo de inyección de muestra, se conecta con un suministro de energía de alto voltaje. Cuando se aplica un voltaje positivo, las moléculas de la



Las proteínas listadas entre paréntesis se hallan normalmente en concentración demasiado baja para ser visibles en un patrón normal.

FIGURA 8-14. Patrón electroforético de alta resolución del suero. (Cortesía de Helena Laboratories, Beaumont, TX.)

ESTUDIO DE CASO 8-5

Un hombre de 45 años de edad fue sometido a evaluación continua de posible recurrencia de un plasmacitoma que al principio se presentó con una fractura por compresión de una vértebra. Había sido tratado con radiación local y quimioterapia. Su electroforesis de proteína sérica mostró cantidades anormales de albúmina, fracciones α_1 , α_2 y β . La electroforesis de proteína de orina concentrada mostró una banda monoclonal que migró un poco menos que la banda de suero. (Caso 8-5 cortesía del Dr. R. McPherson, presidente, Patología clínica, Medical College of Virginia Hospitals, Virginia Commonwealth University Health System.)

Preguntas

1. ¿La presencia de la banda monoclonal en el suero indica la recurrencia del tumor del paciente?
2. ¿Qué información adicional se obtiene de una electroforesis de proteína de orina?
3. ¿Qué otra prueba se requiere para confirmar el tipo de proteína urinaria?

disolución amortiguadora con carga positiva fluyen hacia el extremo de detección, que está conectado a tierra, y por tanto es negativo en relación con el extremo de inyección. El flujo neto de la disolución amortiguadora se llama flujo electroosmótico (FEO). Cuando se inyecta la muestra, las moléculas tendrán una tendencia a moverse hacia el extremo detector (negativo) del capilar debido al FEO; sin embargo, las moléculas con carga negativa en la muestra tendrán también una tendencia a migrar de nuevo hacia el extremo inyector (positivo). Esto se conoce como movilidad electroforética. El FEO es por lo general más fuerte que la movilidad electroforética y todos los iones (carga positiva, neutros, y carga negativa) migrarán hacia el extremo detector pero con diferentes movilidades netas con base en el tamaño y las diferencias de carga. Las moléculas separadas se detectan por su absorbancia cuando pasan por una ventana pequeña cerca del extremo de detección del capilar. El uso de capilares de diámetro pequeño permite que el calor se disipe de manera efectiva, lo que significa que se pueden emplear voltajes de operación mayores y, por tanto, los tiempos de análisis son más rápidos. Además, el tamaño de muestra requerido es pequeño (nanolitros).

Enfoque isoelectrico

El enfoque isoelectrico (EIE) es la electroforesis de zona que separa las proteínas con base en el pI. El EIE emplea potencia constante y poliacrilamida o gel de agarosa, que contiene un gradiente de pH. El gradiente de pH se establece mediante la incorporación de polianiones y policationes pequeños (anfólitos) en el gel. Los pI variantes de los polianiones provocan que, en presencia de un campo eléctrico, busquen su lugar en el gradiente y permanezcan allí. El gradiente de pH puede variar de 3.5 a 10.

Cuando una proteína se somete a electroforesis en el gel, migrará a un lugar en el gel donde el pH corresponde a su pI. La proteína recibe el enfoque allí porque, si debe difundirse en alguna dirección, deja su pI y gana una carga neta. Cuando esto ocurre, la corriente isoelectrica una vez

más la lleva de nuevo de regreso a su punto de ninguna carga, o su pI.

Las aplicaciones clínicas del EIE han incluido la tipificación molecular de deficiencias de antitripsina α , determinación de variantes genéticas de enzimas y hemoglobinas, detección de paraproteínas en suero y bandas oligoclonales en LCR y determinaciones de isoenzimas.

Métodos inmunoquímicos

Las proteínas específicas se pueden identificar mediante inmunoensayos inmunoquímicos en los que se mide la reacción de la proteína (antígeno) y su anticuerpo. Los métodos con varias modificaciones de este principio son RID, inmunoelectroforesis (IEF), electroforesis por inmunofijación, electroinmunodifusión, inmuno-turbidimetría e inmunonefelometría. Estas técnicas se explican en el capítulo 6, *Inmunoensayos y técnicas con sonda de ácido nucleico*.

Proteínas en otros líquidos corporales

Las clases de líquidos corporales que se estudian por su contenido de proteínas han aumentado. Esto es en parte un resultado de la mayor sensibilidad de los métodos de prueba disponibles en la actualidad. Esta sección incluye una descripción de los dos fluidos cuyo contenido de proteínas se estudia con más frecuencia: orina y LCR.

Proteína urinaria

La mayor parte de las proteínas halladas en la orina provienen de la sangre; sin embargo, las proteínas urinarias también se originan del riñón y el tracto urinario, y de fuentes extrañas con la vagina y la próstata. Las proteínas en la sangre aparecen en la orina porque pasan por el glomérulo renal y no las reabsorben los túbulos renales. Las pruebas cualitativas para proteinuria se llevan a cabo por lo regular con una tira de prueba de reactivo. Estos métodos se basan en el cambio en la respuesta de un colorante indicador en presencia de proteína, conocido como error de proteína de

indicadores. En un pH ácido, el indicador que es amarillo en presencia de proteína, avanza por varios tonos de verde y por último a azul a medida que se incrementa la concentración de proteína. Una concentración de proteína de 6 mg/dl o mayor produce un cambio de color.

La mayor parte de los ensayos cuantitativos se llevan a cabo en muestras de 12 o 24 h. El tiempo de 24 h toma en cuenta los cambios rítmicos circadianos en la excreción a ciertas horas del día. El paciente debe evacuar, vaciar por completo la vejiga y desechar esta orina. La orina se colecta desde ese momento durante las 24 h siguientes. Al final del período de 24 h, la vejiga se vacía por completo y esa orina se incluye en la muestra. Se mide con precisión el volumen de la muestra programada y se registra. Los resultados se expresan por lo general en términos del peso de proteína por 24 h calculando la cantidad de proteína presente en el volumen total de orina colectada durante este tiempo.

Se han propuesto varios métodos para la determinación de proteína total en la orina y otros líquidos corporales, entre otros la medición de la turbidez cuando las proteínas urinarias se mezclan con un ácido orgánico aniónico como el ácido sulfosalicílico, ATC o cloruro de bencetonio. Estos métodos son sensibles, pero el reactivo no reacciona igual con cada fracción de proteína. Esto es cierto en particular para el ácido sulfosalicílico, que produce cuatro veces más turbidez con la albúmina que con la globulina α .

Un método que se considera que da resultados más exactos consiste en la precipitación de proteínas de orina, disolución del precipitado de proteína y formación de color con reactivo de biuret. Otro procedimiento químico para proteína urinaria emplea el reactivo de Folin-Ciocalteu, que es una disolución de ácido fosfotungstomolibdico, llamado con frecuencia reactivo de fenol porque oxida compuestos fenólicos. El reactivo cambia de color de amarillo a azul durante la reacción con tirosina, triptófano y residuos de histidina en la proteína. Este

método es casi 10 veces más sensible que el método de biuret. Lowry y asociados incrementaron la sensibilidad de la reacción de Folin-Ciocalteu al incorporar una reacción de biuret como paso inicial. Después de la unión del Cu^{2+} con los enlaces peptídicos, se añade el reactivo de Folin-Ciocalteu. Cuando se oxida el complejo de Cu^{2+} proteína, se reduce el reactivo, y se forman los cromógenos azul de tungsteno y azul de molibdeno. Esto incrementa la sensibilidad a 100 veces más que la del método de biuret solo. Otra modificación emplea un complejo de rojo de pirogalol-molibdato que reacciona para producir un complejo azul púrpura. Este procedimiento se automatiza sin dificultad.

Los métodos de enlace de colorante también se han empleado para determinar el contenido de proteína total de fluidos corporales. Los métodos están disponibles con colorantes como azul de Coomassie y Ponceau S. En el cuadro 8-8 se resumen los distintos métodos para la medición de proteína total urinaria.³⁹

Los valores de referencia o intervalos para proteínas urinarias son muy dependientes del método, y varían de 100 a 250 mg/24 horas. Debido a la facilidad de uso, velocidad y sensibilidad, las técnicas empleadas con más frecuencia en la actualidad son los procedimientos turbidimétricos.

Importancia fisiológica de la proteinuria. La *proteinuria* en la enfermedad renal se puede clasificar como resultante de disfunción glomerular o tubular. La proteinuria glomerular es una consecuencia de pérdida de integridad de la membrana glomerular, que normalmente evita que las proteínas pasen a la orina debido a su gran peso molecular. En la proteinuria glomerular selectiva temprana, las proteínas a las que se debe el incremento suelen ser albúmina (>80%) y transferrina. Cuando la lesión glomerular se hace más grave, la membrana se vuelve no selectiva, y las proteínas de todos los tamaños, incluso las inmunoglobulinas, pasan a la orina. El daño a la membrana glomeru-

CUADRO 8-8. MÉTODOS DE PROTEÍNA URINARIA

MÉTODO	PRINCIPIO	COMENTARIO
Métodos turbidimétricos (ácido sulfosalicílico, ácido tricloroacético o cloruro de bencetonio)	Las proteínas precipitan como finas partículas, la turbidez se mide espectrofotométricamente	Rápido, fácil de usar; sensibilidad desigual para proteínas individuales
Biuret	Las proteínas se concentran por precipitación, se disuelven de nuevo en álcali, luego reaccionan con Cu^{2+} ; el Cu^{2+} forma un complejo coloreado con los enlaces peptídicos	Exacto
Folin-Lowry	Reacción de biuret inicial; oxidación de tirosina, triptófano y residuos de histidina por reactivo fenólico de Folin (mezcla de ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico): medición del color azul resultante	Muy sensible
Enlace a colorante (azul de Coomassie, Ponceau S)	Enlace de proteína a colorante, causa cambio en el máximo de absorción	Linealidad limitada; sensibilidad desigual para proteínas individuales

ESTUDIO DE CASO 8-6

Un varón de 55 años de edad, sin antecedentes de enfermedad, recibió un golpe en la cabeza. Estaba inconsciente cuando ingresó al hospital y permaneció en ese estado hasta su muerte 15 días después. Se insertó un tubo nasogástrico para administrar los nutrientes requeridos (proteína, carbohidratos, grasa, minerales y vitaminas). La ingestión de agua total fue 1 500 ml/día. Al inicio del día 5, su tensión arterial bajó de forma gradual. Los volúmenes de orina de 24 h registrados desde un catéter permanente fueron como sigue:

DÍA DESPUÉS DE LA ADMISIÓN	VOLUMEN DE ORINA (ML/24 H)
6	1500
8	1300
10	1200
12	1100
14	900

Las concentraciones de hematócrito y hemoglobina del paciente fueron altas.

El análisis químico sanguíneo en el día 13 reveló lo siguiente:

Proteína total	9.4 g/dl
Albumina	6.0 g/dl
NUS	80 mg/dl
Na	175 mmol/L
K	4.0 mmol/L
Cl	134 mmol/L

Preguntas

1. ¿Cuál es la causa más probable de concentración elevada de proteínas?
2. ¿Qué otros resultados soportan esta conclusión?
3. ¿Por qué es elevada la concentración de NUS?

lar ocurre en enfermedades como diabetes, amiloidosis y trastornos de disglobulinemia y colágeno. La presencia de agentes tóxicos en la sangre, como mercurio y heroína, pueden dar como resultado también pérdida de integridad molecular. Un indicador inicial de disfunción glomerular es la presencia de microalbuminuria. El término *microalbuminuria* se emplea para describir las concentraciones de albúmina en la orina que son mayores de lo normal pero no detectables con ensayos comunes de tira reactiva con orina (concentraciones de albúmina menores que el límite de detección inferior). Los estudios de pacientes con diabetes mellitus muestran que la microalbuminuria precede a la nefropatía relacionada con la diabetes, en particular en la diabetes tipo 1 (diabetes mellitus dependiente de insulina).⁴⁰ El avance de la microalbuminuria a nefropatía clínica se puede retrasar con terapia intensiva para normalizar la glucosa sanguínea y la tensión sanguínea. Por tanto, se recomienda que se realice un análisis anual de microalbuminuria con los enfermos de diabetes. La tasa de excreción normal de albúmina es $<20 \mu\text{g}/\text{min}$ o $<30 \text{ mg}/\text{día}$. La microalbuminuria se puede medir por radioinmunoensayo, inmunodifusión radial, inmunonefelometría e inmunoensayo enzimático.

La proteinuria tubular es un resultado de los túbulos renales que son incapaces de llevar a cabo su función usual de reabsorción como resultado de disfunción, o porque la cantidad de proteína que aparece en el líquido tubular

excede la capacidad absorbente de un túbulo con funcionamiento normal. En la proteinuria tubular, las moléculas de proteína pequeñas que pasan normalmente por el glomérulo y son reabsorbidas, como microglobulina β_2 (PM, 11 800), proteína de enlace a retinol (PM, 21 000) y microglobulina α_1 (PM, 30 000), aparece en la orina.

La proteinuria por sobreflujo es una sobreabundancia de proteínas del suero que aparece en concentraciones tan altas en el filtrado glomerular que se supera la capacidad de los túbulos para reabsorberlas. Este tipo de proteinuria se tipifica mediante la concentración incrementada de cadenas ligeras de inmunoglobulina en mieloma múltiple (proteína de Bence Jones). La determinación de proteínas específicas produce mucho más información que la proteína urinaria total, en particular en el estudio de proteinuria tubular.

Para determinar el tipo que se excreta, la mayor parte de los métodos requiere concentración inicial de la orina. Esto se lleva a cabo por precipitación, ultrafiltración, diálisis o técnicas de filtración en gel. La orina se puede someter entonces a electroforesis por un método similar al descrito para el suero. La medición cuantitativa de proteínas de orina específicas se puede hacer mediante el uso de métodos inmunoquímicos, como radioinmunoensayo, inmunodifusión radial, electroinmunoensayo e inmunonefelometría.

Una proteína que por lo común se halla en la orina pero no en el suero es la proteína de Tamm-Horsfall,

ESTUDIO DE CASO 8-7

Una mujer de 84 años de edad residente en un hospicio para ancianos fue admitida al hospital para tratamiento de dolor de espalda baja resultante de una caída. El examen radiológico reveló una fractura por compresión vertebral. Debido a que mostró signos de deterioro general, se realizó una evaluación médica adicional. Un examen neurológico y una exploración de TC resultaron normales. Los exámenes serológicos para enfermedad vascular del colágeno también fueron negativos, aunque la tasa de sedimentación eritrocítica mostró un incremento modesto. La electroforesis de proteína sérica se hizo para descartar mieloma múltiple. Las fracciones de proteína sérica fueron como sigue: albúmina, 3.2 g/dl; globulinas α_1 , 0.31 g/dl; globulinas α_2 , 1.59 g/dl (con concentración alta en una banda estrecha); globulinas β , 0.72 g/dl; y globulinas γ , 0.96 g/dl.

Preguntas

1. ¿Cuál sería el siguiente paso en la evaluación de este paciente?
2. Dado el siguiente resultado adicional, ¿qué condición explicaría su patrón de electroforesis de proteína anormal?
 - Haptoglobina: 416 mg/dl
3. ¿Qué otras proteínas esperaría que sean anormales?

una mucoproteína producida en los túbulos renales. Es el constituyente proteínico principal de cilindros urinarios. Su concentración en la orina es 40.0 mg/día. Una IgA (secretoria) se produce también en el riñón, y se excretan 1.1 mg/día.

Proteínas de líquido cefalorraquídeo

El LCR se forma en el plexo coroideo de los ventrículos del cerebro por ultrafiltración de sangre plasmática. La medición de proteína es una prueba que se requiere en el LCR, además de la concentración de glucosa y el recuento diferencial, cultivo y sensibilidad. El intervalo de referencia aceptado para pacientes entre 10 y 40 años de edad es 15 a 45 mg/dl de proteína de LCR.

La proteína total de LCR se puede determinar mediante varios de los métodos químicos y ópticos más sensibles mencionados antes en la explicación sobre proteínas urinarias. Los procedimientos empleados con más frecuencia son turbidimétricos con ATC, ácido sulfosalicílico con sulfato de sodio o cloruro de bencetonio. También están disponibles métodos de enlace a colorante (es decir, azul brillante de Coomassie), una reacción de biuret cinética y el método de Lowry con un reactivo fenólico de Folin.

Importancia fisiológica del análisis de proteína de LCR. Las proteínas de LCR total incrementadas anormalmente se pueden hallar en condiciones en las que hay una mayor permeabilidad de la barrera endotelial capilar a través de la cual ocurre la filtración. Ejemplos de tales condiciones incluyen meningitis bacteriana, viral y fúngica; golpeo traumático; esclerosis múltiple; obstrucción; neoplasma; herniación de disco e infarto cerebral. El grado de permeabilidad se puede evaluar midiendo la albúmina de LCR y comparándola con la albúmina sérica. La albúmina suele emplearse como proteína de referencia para permeabilidad porque no se sintetiza en el SNC. El valor de referencia para la relación de albúmina de LCR/

albúmina sérica es menor que 2.7 a 7.3. Un valor mayor que éste indica que el incremento en la albúmina del LCR provino del suero debido a una barrera hematoencefálica dañada. Los valores de proteína de LCR bajos se hallan en el hipertiroidismo y cuando se fuga líquido del SNC.

Aunque las concentraciones de proteína total en el LCR son informativas, el diagnóstico de trastornos específicos requiere medición de cada una de las fracciones de proteína. El patrón de tipos de proteína presentes se puede ver por electroforesis del LCR que haya sido concentrado casi cien veces. Esto se puede llevar a cabo en acetato de celulosa o gel de agarosa. El patrón obtenido normalmente del LCR lumbar del adulto muestra prealbúmina, una banda de albúmina sobresaliente, globulina α_1 compuesta sobre todo de antitripsina α_1 , una banda α_2 que consiste principalmente de haptoglobina y ceruloplasmina, una banda β_1 constituida de transferrina, y una transferrina específica de LCR que es deficiente en carbohidrato, conocida como proteína τ , en la zona β_2 . La globulina presente en la banda γ es por lo regular IgG con una pequeña cantidad de IgA.

Los patrones electroforéticos de LCR de pacientes con esclerosis múltiple tienen múltiples bandas distintas en la zona γ . Esto se llama distribución oligoclonal. Más de 90% de pacientes con esclerosis múltiple tienen bandas oligoclonales, aunque las bandas también han sido encontradas en enfermedad neurológica inflamatoria e infecciosa. La identificación de bandas discretas en la región γ que están presentes en el LCR pero no en el suero se relacionan con la producción de IgG en el LCR, un hallazgo característico de las enfermedades de desmielinización, como la esclerosis múltiple. Estas bandas no se pueden ver en la electroforesis rutinaria de acetato de celulosa sino requieren una técnica de alta resolución en la que suele emplearse agarosa.

La concentración alta de IgG en el LCR no es única para la esclerosis múltiple. Debido a que el incremento en IgG de LCR puede resultar de la síntesis intratecal o per-

meabilidad incrementada de la barrera hematoencefálica, las concentraciones de IgG también se pueden incrementar en las condiciones listadas antes, como la meningitis. Para identificar la fuente de las concentraciones altas de IgG en el LCR, se puede calcular el índice de IgG-albúmina como sigue:

$$\text{Índice de IgG del LCR} = \frac{\text{IgG de LCR (mg/dl)} \times \text{albúmina sérica (g/dl)}}{\text{IgG sérica (g/dl)} \times \text{albúmina de LCR (mg/dl)}}$$

(Ec. 8-2)

La concentración de albúmina de LCR corrige la permeabilidad incrementada. El intervalo de referencia para el índice es 0.25 a 0.80. El índice es elevado cuando hay una mayor producción de IgG del SNC como ocurre en la esclerosis múltiple. La producción de IgG se reduce cuando se compromete la integridad de la barrera hematoencefálica, como en algunas formas de meningitis y tumores. Otro índice para ayudar a discriminar la fuente de la IgG en el LCR es el cálculo de la tasa de síntesis de IgG por medio de la fórmula de Tourtellotte.⁴¹ El intervalo de referencia para las tasa de síntesis es -9.9 a $+3.3$ mg/día.

En la investigación de la esclerosis múltiple, las proteínas básicas de mielina presentes en el LCR se evalúan también porque estas proteínas pueden proveer un índice de desmielinización activa. Las proteínas básicas de mielina son constituyentes de la mielina, la vaina que rodea a muchos de los axones del SNC. En desmielinización muy activa, las concentraciones de proteínas básicas de mielina

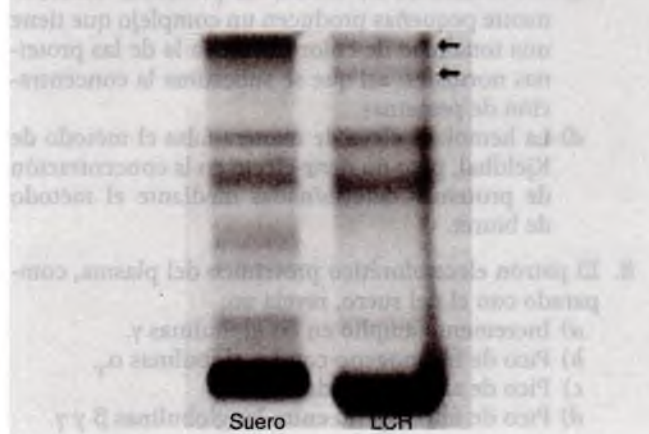
de 17 a 100 ng/ml se determinaron mediante radioinmunoensayo. En la desmielinización lenta, ocurren valores de 6 a 16 ng/ml y, en remisión, los valores fueron menores que 4 ng/ml. Además de la esclerosis múltiple, otras condiciones inducen la desmielinización del SNC y, por tanto, las concentraciones altas de proteína básica de mielina incluyen meningoencefalitis, lupus eritematoso sistémico del SNC, diabetes mellitus e insuficiencia renal crónica.

RESUMEN

Los aminoácidos son los elementos fundamentales de las proteínas. Las anomalías hereditarias en el metabolismo de los aminoácidos originan varias condiciones, de las cuales la mayor parte se relaciona con retraso mental. La síntesis de la mayor parte de proteínas ocurre en el hígado, con excepción de las inmunoglobulinas, que se producen en las células plasmáticas. La secuencia lineal de aminoácidos en la proteína, que compone la estructura primaria, se define mediante el código genético en el DNA celular. Las proteínas pueden ser simples, comprendidos sólo los aminoácidos, o conjugadas, en las que la cadena peptídica se une con una mitad no proteína. Con la gran cantidad de proteínas en el plasma (más de 500 identificadas), las funciones son diversas. Por ejemplo, la presión osmótica coloidal se debe sobre todo a la albúmina; la haptoglobina y la transferrina son proteínas de transporte, y se unen con hemoglobina libre y hierro, respectivamente; las inmunoglobulinas y los componentes del sistema del complemento ayudan a proteger al cuerpo contra infección, y otras proteínas, como

ESTUDIO DE CASO 8-8

Una mujer de 36 años de edad se queja de visión borrosa intermitente, y entumecimiento y debilidad en su pierna izquierda que ha persistido durante más de tres semanas. En el examen, se notó nistagmo vertical (movimientos involuntarios en vaivén o circulares de los ojos) en la mirada hacia arriba. Se extrajo LCR y la muestra fue clara e incolora con recuento celular normal. La concentración de proteína total del LCR fue de 49 mg/dl con una IgG de 8.1 mg/dl. La electroforesis del suero del paciente y el LCR revelaron el siguiente patrón:



Preguntas

1. ¿Cuál es el significado de las bandas de proteína indicadas por las flechas?
2. ¿Qué condiciones producirían este tipo de patrón de electroforesis de proteína?
3. ¿Qué otras pruebas serían útiles en la investigación de este diagnóstico del paciente?
4. ¿Qué prueba de laboratorio puede ser útil para monitorear el curso de esta condición del paciente?

el fibrinógeno, ayudan en el mantenimiento de la hemostasis. Las concentraciones bajas de proteína total pueden ser un resultado de pérdida excesiva, síntesis reducida o catabolismo acelerado, mientras que las concentraciones altas se relacionan con deshidratación o producción excesiva.

El método que más se usa para medir las concentraciones de proteína sérica total es la reacción de biuret, en la cual los iones cúpricos se acomplejan con dos o más enlaces peptídicos. Para determinar la fracción de albúmina, las técnicas de enlace de colorante se emplean con VBC o PBC. El colorante, cuando se une a la albúmina, es un color distinto al colorante libre. El fraccionamiento adicional de las proteínas séricas se puede llevar a cabo

mediante electroforesis, que emplea las características de carga de la proteína por separación. La EPS rutinaria dispone las proteínas en cinco bandas: la albúmina viaja más lejos hacia el ánodo, seguida de las globulinas α_1 , α_2 , β y γ . La EAR separa la proteína en 12 zonas. La electroforesis capilar permite la separación más rápida.

La proteína se puede medir también en otros líquidos corporales. El daño glomerular o la disfunción tubular origina concentraciones altas de proteínas urinarias. La proteína de LCR incrementada de manera anormal se encuentra en condiciones donde hay una mayor permeabilidad de la barrera endotelial capilar o aumento en la síntesis intratecal.

PREGUNTAS DE REPASO

- El examen de detección de Guthrie para fenilalanina sérica incrementada se basa en:
 - Un método fluorométrico, en el cual se hace reaccionar la fenilalanina con ninhidrina.
 - El procedimiento microbiológico, en el que la fenilalanina contrarresta los efectos de un antagonista metabólico en el crecimiento de *B. subtilis*.
 - El método de cromatografía de capa fina, en el que la identificación se hace por comparación del valor de R_f de la sustancia desconocida con los valores de R_f de la sustancia conocida.
 - Un procedimiento de tira reactiva, en el cual la fenilalanina se convierte en ácido fenilpirúvico y luego se hace reaccionar con cloruro férrico.
- La configuración espacial tridimensional de una sola cadena de polipéptido que se determina mediante enlaces de disulfuro, puentes de hidrógeno, atracciones electrostáticas y fuerzas de van der Waals se conoce como:
 - Estructura primaria.
 - Estructura secundaria.
 - Estructura terciaria.
 - Estructura cuaternaria.
- La proteína plasmática a la cual se debe principalmente el mantenimiento de la presión osmótica coloidal *in vivo* es:
 - Hemoglobina.
 - Fibrinógeno.
 - Macroglobulina α_2 .
 - Albúmina.
- Cada una de las diferencias en las concentraciones de proteína sérica total atribuibles a posturas erectas contra recostadas son:
 - 0 a 0.5 g/dl (casi ninguna diferencia).
 - Alrededor de 0.5 g/dl.
 - Casi 2 g/dl.
 - Aproximadamente 5 g/dl.
- El estado nutricional calórico-proteínico deficiente se relaciona con:
 - Una concentración baja de globulinas γ .
 - Una concentración alta de haptoglobina.
 - Una concentración reducida de prealbúmina.
 - Una mayor concentración de fetoproteína α_1 .
- ¿En cuál de las condiciones siguientes se esperaría una concentración normal de mioglobina?
 - Mieloma múltiple.
 - Infarto de miocardio agudo.
 - Insuficiencia renal.
 - Traumatismo contundente recibido en un accidente cardíaco.
- Se valora la proteína total en suero de un paciente con mieloma múltiple. El resultado con el método de biuret fue menor que el resultado obtenido con el método de Kjeldhal. La discrepancia fue un resultado del hecho de que:
 - El método de proteína total de Kjeldhal mide todos los compuestos que contienen nitrógeno, incluso proteínas y nitrógenos no proteínicos y, por tanto, sobrestima la concentración de proteína.
 - Los dos métodos se basan en principios diferentes; no se espera un resultado comparable.
 - En el método de biuret, las proteínas anormalmente pequeñas producen un complejo que tiene una tonalidad de color distinta a la de las proteínas normales; así que se subestima la concentración de proteínas.
 - La hemólisis eleva de manera falsa el método de Kjeldhal, pero no tiene efecto en la concentración de proteínas determinadas mediante el método de biuret.
- El patrón electroforético proteínico del plasma, comparado con el del suero, revela un:
 - Incremento amplio en las globulinas γ .
 - Pico de fibrinógeno con las globulinas α_2 .
 - Pico de albúmina reducido.
 - Pico de fibrinógeno entre las globulinas β y γ .

9. Se obtiene el siguiente patrón de electroforesis de proteínas séricas:
 albúmina: reducida
 globulinas α_1 y α_2 : incrementadas
 globulinas γ : normales
 ¿De cuáles de las siguientes condiciones es característico este patrón?
 a) Cirrosis.
 b) Inflamación aguda (respuesta primaria).
 c) Síndrome nefrótico.
 d) Gammapatía.
10. Una de las ventajas de la electroforesis de alta resolución en agarosa sobre la electroforesis de corriente menor es:
 a) Los procedimientos de alta resolución detectan bandas monoclonales y oligoclonales a concentraciones más bajas.
 b) Se requiere un volumen de muestra menor.
 c) Los resultados se obtienen con más rapidez.
 d) Se puede aplicar más muestra al medio de soporte.
11. Cuando se disuelve una proteína en una disolución amortiguadora, cuyo pH es más alcalino que el pI, y se pasa una corriente eléctrica por la disolución, la proteína actuará como:
 a) Un anión y migrará hacia el ánodo.
 b) Un catión y migrará hacia el cátodo.
 c) Un anión y migrará al cátodo.
 d) Una partícula cargada y no se moverá.
12. La alta concentración de proteína total sérica con concentraciones altas de albúmina y globulinas suelen observarse en:
 a) Macroglobulinemia de Waldenström.
 b) Glomerulonefritis.
 c) Cirrosis.
 d) Deshidratación.
- Relacione la proteína sérica de la columna A con su función específica en la columna B:
- | Columna A | Columna B |
|------------------------------------|--|
| 13. La transferrina_____ | a) transporta cobre |
| 14. La haptoglobina _____ | b) inhibe enzimas proteolíticas |
| 15. La antitripsina α _____ | c) es un factor en la formación de un coágulo <i>in vivo</i> |
| | d) transporta hierro |
| | e) se une con hemoglobina libre |
| | f) regula la concentración muscular |
| | g) se combina con antígenos específicos |
| | h) es un catalizador en el ciclo de la urea |

REFERENCIAS

- Natelson S, Natelson E. Principles of Applied Clinical Chemistry Plasma Proteins in Nutrition and Transport. Vol. 3. New York: Plenum, 1980.
- Phenylketonuria (PKU): Screening and management. NIH Consensus Statement 2000;17(3):1-33.
- Levy HL, Albers S. Genetic screening of newborns. Annu Rev Genomics Hum Genet 2000;1:139-177.
- Yamaguchi A, Mizushima Y, Fukushi M, et al. Microassay system for newborn screening for phenylketonuria, maple syrup urine disease, homocystinuria, histidinemia and galactosemia with use of a fluorometric microplate reader. Screening 1992;1:49.
- Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. The application of tandem mass spectrometry to neonatal screening for inherited disorders of intermediary metabolism. Annu Rev Genomics Hum Genet 2002;3:17-45.
- Lidsky A, Guttler F, Woo S. Prenatal diagnosis of classic phenylketonuria by DNA analysis. Lancet 1985;1:549.
- Kayaalp E, Treacy E, Waters PJ, Byck S, Nowacki P, Scriver CR. Human phenylalanine hydroxylase mutations and hyperphenylalaninemia phenotypes: a metanalysis of genotype-phenotype correlations. Am J Hum Genet 1997;61:1309-1317.
- Brattström L, Wilcken DEL. Homocysteine and cardiovascular disease: cause or effect? Am J Clin Nutr 2000;72(2):315-323.
- Ueland PM, Refsum H, Beresford SAA, Vollset SE. The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. Am J Clin Nutr 2000;72(2):324-332.
- Stephens AD. Cystinuria and its treatment: 25 years experience at St. Bartholomew's Hospital. J Inher Metab Dis 1989;12:197.
- Deyl Z, Hyanek J, Horokova M. Profiling of amino acids in body fluids and tissues by means of liquid chromatography. J Chromatogr 1986;379:177.
- Hitzig WH, Joller PW. Developmental aspects of plasma proteins. In: Ritzmann SE, Killingsworth LM, eds. Body Fluids, Amino Acids, and Tumor Markers: Diagnostic and Clinical Aspects, 3rd ed. New York: Alan Liss, 1983:1.
- Haferkamp O, Schlettwein-Gsell D, Schwick HG, et al. Serum protein in an aging population with particular reference to evaluation of immune globulins and antibodies. Gerontologia 1966;12:30.
- Keyser JW. Human Plasma Proteins. New York: Wiley, 1979:280.
- Gabant P, Forrester L, Nichols J, et al. Alpha-fetoprotein, the major fetal serum protein, is not essential for embryonic development but is required for female fertility. Proc Natl Acad Sci USA 2002;99(20):12865-12870.
- Rubin H. The biology and biochemistry of antichymotrypsin and its potential role as a therapeutic agent. Biol Chem Hoppe Seyler 1992;373(7):497.
- Balduyck M, Mizo J. Inter-alpha-trypsin inhibitor and its plasma and urine derivatives. Ann Biol Clin 1991;49(5):273.
- Levy AP, Hochberg I, Jablonski K, et al. Haptoglobin phenotype is an individual risk factor for cardiovascular disease in individuals with diabetes: the strong heart study. J Am Coll Cardiol 2002;40(11):1984-1990.

19. Lyngbye J, Kroll J. Quantitative immunoelectrophoresis of proteins in serum from a normal population: season, age and sex-related variations. *Clin Chem* 1971;17:495.
20. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003;107: 363–372.
21. LeGrys VA. The use of high sensitivity C-reactive protein in assessing the risk for coronary heart disease. *Clin Lab Sci* 2001; 14(4):243–246.
22. Wong SS. Strategic utilization of cardiac markers for the diagnosis of acute myocardial infarction. *Ann Clin Lab Sci* 1996;26(4): 301.
23. Mair J, Dienstl F, Puschendorf B. Cardiac troponin T in the diagnosis of myocardial injury. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1992;29(1):31.
24. Christenson RH. Cardiac troponin T in the risk assessment of acute coronary syndromes. *Am Clin Lab June* 1997:18.
25. Ohman EM, et al. Cardiac troponin T levels for risk stratification in acute myocardial ischemia. *N Engl J Med* 1996;335(18):1333.
26. Li D, Keffer J, Corry K, et al. Nonspecific elevation of troponin T levels in patients with chronic renal failure. *Clin Biochem* 1995; 28(4):474.
27. Antman EM, et al. Cardiac-specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1996;335(18):1342.
28. Katrukha AG, et al. Troponin I is released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex. *Clin Chem* 1997;43:1379.
29. Pankov R, Yamada KM. Fibronectin at a glance. *J Cell Sci* 2002; 115:3861–3863.
30. Koenn ME. Fetal fibronectin. *Clin Lab Sci* 2002;15(2):96–98.
31. Peters T Jr, Biamonte ET, Doumas BT. Protein (total) in serum, urine, cerebrospinal fluid, albumin in serum. In: Faulkner WR, Meites S, eds. *Selected Methods in Clinical Chemistry*. Vol. 9. Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry, 1982:317.
32. Lines JG, Raines DN. Refractometric determination of serum concentration: 2. Comparison with biuret and Kjeldahl determination. *Ann Clin Biochem* 1970;7:6.
33. Chromy V, Fischer J. Photometric determination of total protein in lipemic serum. *Clin Chem* 1977;23:754.
34. Doumas BT, Watson WA, Biggs HG. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clin Chem Acta* 1971;31:87.
35. Speicher CE, Widish JR, Gaudot FJ, et al. An evaluation of the overestimation of serum albumin by bromocresol green. *Am J Clin Pathol* 1978;69:347.
36. Gustafsson JEC. Improved specificity of serum albumin determination and estimation of “acute phase reactants” by use of the bromocresol green reaction. *Clin Chem* 1976;22:616.
37. Maguire G, Price C. Bromocresol purple method for serum albumin gives falsely low values in patients with renal insufficiency. *Clin Chem Acta* 1986;155(1):83.
38. Keren D. High resolution electrophoresis aids detection of gammopathies. *Clin Chem News* 1989;14.
39. McElderry LA, Tarbit IF, Cassells-Smith AJ. Six methods for urinary protein compared. *Clin Chem* 1982;28:356.
40. Cembrowski G. Testing for microalbuminuria: promises and pitfalls. *Lab Med* 1990;21 (8):491.
41. Tourtellotte WW, Staugaitis SM, Walsh MJ, et al. The basis of intra-blood-brain-barrier IgG synthesis. *Ann Neurol* 1985;17(1): 21–27.

Compuestos de nitrógeno no proteínico

Elizabeth L. Frank

CAPÍTULO

9

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

■ UREA

Bioquímica

Correlaciones de enfermedad

Métodos analíticos

Requisitos de la muestra y sustancias que interfieren

Intervalo de referencia

■ CREATININA/CREATINA

Bioquímica

Correlaciones de enfermedad

Métodos analíticos para creatinina

Requisitos de la muestra y sustancias que interfieren

Fuentes de error

Intervalo de referencia

Métodos analíticos para creatina

■ ÁCIDO ÚRICO

Bioquímica

Correlaciones de enfermedad

Métodos analíticos

Requisitos de la muestra y sustancias que interfieren

Intervalo de referencia

■ AMONIACO

Bioquímica

Correlaciones de enfermedad

Métodos analíticos

Requisitos de la muestra y sustancias que interfieren

Fuentes de error

Intervalo de referencia

■ RESUMEN

■ PREGUNTAS DE REPASO

■ REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Listar las sustancias de nitrógeno no proteínico en la sangre y reconocer sus estructuras químicas y concentraciones fisiológicas relativas.
- Describir la biosíntesis y excreción de urea, creatinina, creatina, ácido úrico y amoníaco.
- Describir las condiciones clínicas y metabólicas principales relacionadas con las concentraciones plasmáticas incrementadas y reducidas de urea, creatinina, creatina, ácido úrico y amoníaco.
- Describir el uso de la relación de nitrógeno de urea/creatinina para distinguir entre causas de uremia prerrenal, renal y posrenal.
- Relacionar la solubilidad del ácido úrico con las consecuencias patológicas del ácido úrico plasmático incrementado.
- Describir los efectos tóxicos relacionados con una concentración incrementada de amoníaco plasmático.

- Expresar los requisitos de recolección de muestra, transporte y almacenaje necesarios para determinaciones de urea, creatinina, creatina, ácido úrico y amoníaco.
- Explicar los métodos de uso común para la determinación urea, creatinina, creatina, ácido úrico y amoníaco en plasma y orina. Identificar fuentes de error y variabilidad en estos métodos y describir los efectos de las mediciones de laboratorio en el servicio clínico.
- Reconocer los intervalos de referencia para urea, creatinina, ácido úrico y amoníaco en plasma y orina. Expresar los efectos de la edad y género en estos valores.
- Sugerir posibles condiciones clínicas relacionadas con los resultados, dados valores del paciente para urea, creatinina, ácido úrico y amoníaco, además del historial clínico.

TÉRMINOS CLAVE

Ácido ureico	Gota	Nitrógeno no proteínico (NNP)	Secreción
Aclaramiento de creatinina	Hiperuricemia	Posrenal	Tasa de filtración glomerular (TFG)
Amoniacó	Hipouricemia	Prerrenal	Urea
Azoemia	Método cinético de medición	Reabsorción	Uremia o síndrome urémico
Creatina	Método enzimático acoplado	Relación de nitrógeno de urea/creatinina	
Creatinina			
Filtrado libre de proteína			

La determinación de sustancias de nitrógeno no proteínico en la sangre ha sido empleado de ordinario para monitorear la función renal. El término *nitrógeno no proteínico (NNP)* se originó en los primeros días de la química clínica cuando la metodología analítica requería la eliminación de proteína de la muestra antes del análisis. La concentración de compuestos que contienen nitrógeno en este *filtrado libre de proteínas* se cuantificó espectrofotométricamente mediante la conversión de nitrógeno en amoníaco, y la reacción posterior con el reactivo de Nessler (HgI_2/KI) para producir un color amarillo.¹ Este método tiene dificultades técnicas, pero es considerado como el más exacto para la determinación de la concentración de NNP total. Sin embargo, la información clínica más útil se obtiene al analizar en una muestra del paciente cada uno de los componentes de la fracción de NNP. La determinación del nitrógeno de la orina es de valor en la evaluación del balance de nitrógeno para manejo nutricional.^{2,3}

La fracción de NNP comprende cerca de 15 compuestos de interés clínico (cuadro 9-1). La mayor parte de estos compuestos proviene del catabolismo de las proteínas y ácidos nucleicos.

UREA

Bioquímica

El compuesto de NNP presente en concentración más alta en la sangre es la *urea* (fig. 9-1). Se sintetiza en el hígado

de CO_2 y el amoníaco que proviene de la desaminación de aminoácidos en las reacciones del ciclo de la urea. Esta última es el producto excretorio principal del metabolismo de proteínas.⁴ Después de la síntesis en el hígado, la urea es llevada en la sangre hacia el riñón, donde se filtra fácil desde el plasma por el glomérulo. La mayor parte de la urea en el filtrado glomerular se excreta por la orina, aunque hasta 40% se *reabsorbe* por difusión pasiva durante el paso del filtrado por los túbulos renales. La cantidad reabsorbida depende del flujo de orina y el grado de deshidratación. Pequeñas cantidades de urea (<10% del total) se excretan por el tubo digestivo (TD) y la piel. La concentración de urea en el plasma se determina por función renal y perfusión, el contenido de proteína de la dieta y la cantidad de catabolismo de proteína. El término *nitrógeno de urea sanguíneo (NUS)* se ha empleado para referirse a la determinación de urea porque los ensayos históricos para urea se basaban en la medición de nitrógeno. *Nitrógeno de urea (N de urea)* es un término más apropiado.

Correlaciones de enfermedad

Una concentración alta de urea en la sangre se llama *azotemia*. La concentración de urea plasmática muy alta acompañada de insuficiencia renal se llama *uremia*, o *síndrome urémico*. Tiene consecuencias fatales si no se trata mediante diálisis o trasplante. Las condiciones que provocan incrementos de urea plasmática se clasifican según la causa en tres categorías principales: prerrenal, renal y posrenal.

CUADRO 9-1. COMPUESTOS DE NITRÓGENO NO PROTEÍNICOS DE IMPORTANCIA CLÍNICA

COMPUESTO	CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA APROXIMADA (% DE NNP TOTAL)
Urea	45
Aminoácidos	20
Ácido úrico	20
Creatinina	5
Creatina	1-2
Amoníaco	0.2

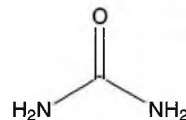
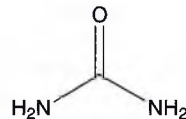


FIGURA 9-1. Estructura de la urea.

El flujo sanguíneo renal reducido causa *azoemia prerrenal*. Menos sangre y, por tanto, menos urea se entregan al riñón; y, en consecuencia, se filtra menos urea. Los factores causantes son insuficiencia cardíaca congestiva, choque, hemorragia, deshidratación y otros factores que dan como resultado una disminución importante en el volumen sanguíneo. La cantidad de metabolismo de proteína también causa cambios prerrenales en la concentración de urea en la sangre. Una dieta con alto contenido de proteína o catabolismo proteínico incrementado, como ocurre en la fiebre, enfermedad mayor, estrés, terapia con corticosteroides y hemorragia gastrointestinal, pueden incrementar la concentración de urea. La concentración de urea plasmática se reduce durante períodos de baja ingestión de proteínas o síntesis incrementada de éstas, como durante el embarazo tardío y la infancia.

La función renal reducida causa un incremento en la concentración de urea plasmática como resultado de la excreción comprometida de urea. Las causas renales de aumento de urea incluyen insuficiencia renal aguda y crónica, nefritis glomerular, necrosis tubular y otra enfermedad renal intrínseca (véase el capítulo 24, *Función renal*).

La *azoemia posrenal* puede ser debida a obstrucción del flujo de orina en cualquier parte del tracto urinario por cálculos renales, tumores de la vejiga o próstata, o infección grave.

Las causas principales de concentración de urea plasmática reducida son ingestión reducida de proteínas y enfermedad hepática grave. Las condiciones que afectan a la concentración de urea plasmática se resumen en el cuadro 9-2.

El cálculo de la *relación nitrógeno de urea/creatinina*, que normalmente es 10:1 a 20:1, ayuda a la diferenciación de la causa de concentración anormal de urea. Las condiciones prerrenales tienden a aumentar la urea plasmática, mientras que la creatinina plasmática permanece normal,

lo que causa una relación alta de N de urea/creatinina. En condiciones posrenales se observa por lo común una relación alta de N de urea/creatinina con una concentración de creatinina incrementada. Una relación baja de N de urea/creatinina se observa en condiciones relacionadas con producción reducida de urea, como ingestión baja de proteínas, necrosis tubular aguda y hepatopatía grave.

Métodos analíticos

Las mediciones de urea se realizaron al principio en un filtrado libre de proteínas de sangre total y con base en la medición de la cantidad de nitrógeno. Los métodos analíticos actuales han retenido esta costumbre y, por lo común, la urea se expresa en términos de la concentración de nitrógeno en vez de la concentración de urea. La concentración de nitrógeno de urea se puede convertir a concentración de urea multiplicando por 2.14, como se muestra en la ecuación 9-1.

$$\frac{1 \text{ mg de N de urea}}{\text{dl}} \times \frac{1 \text{ mmol N}}{14 \text{ mg N}} \times \frac{1 \text{ mmol urea}}{2 \text{ mmol N}} \times \frac{60 \text{ mg urea}}{1 \text{ mmol urea}} = \frac{2.14 \text{ mg urea}}{\text{dl}} \quad (\text{Ec. 9-1})$$

La concentración de nitrógeno de urea en miligramos por decilitro se puede convertir a concentración de urea en milimoles por litro al multiplicar por 0.36.

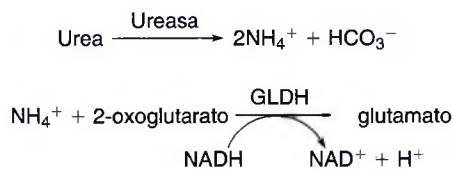
Se han empleado dos métodos analíticos para evaluar la urea. El más antiguo y el que se usa con más frecuencia conlleva la hidrólisis de urea mediante la enzima ureasa (amidohidrolasa de urea, EC 3.5.1.5), seguida de la cuantificación de ion amonio (NH_4^+) producido en la reacción. Con los primeros métodos colorimétricos se empleaba el reactivo de Nessler o la reacción de Berthelot con nitroprusiato para detectar NH_4^+ .⁵ El método cinético más común empleado clínicamente acopla la reacción de ureasa con la deshidrogenasa de L-glutamato (GLDH, EC 1.4.1.3) y mide la tasa de desaparición del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH reducido) a 340 nm (fig. 9-2).⁶ Se ha descrito una modificación de este método con ureasa bacteriana para medir urea en muestras de orina.⁷

El amonio de la reacción de ureasa se puede medir también por el cambio de color relacionado con un indicador

CUADRO 9-2. CAUSAS DE CONCENTRACIÓN DE UREA PLASMÁTICA ANORMAL

Concentración incrementada

Prerrenal	Insuficiencia cardíaca congestiva
	Choque, hemorragia
	Deshidratación
	Catabolismo de proteína incrementado
	Terapia de corticosteroides
Renal	Insuficiencia renal aguda y crónica
	Nefritis glomerular
Posrenal	Obstrucción del tracto urinario
Concentración reducida	Ingestión baja de proteínas
	Hepatopatía grave
	Vómito y diarrea intensos
	Embarazo



GLDH = deshidrogenasa de glutamato (EC 1.4.1.3)

FIGURA 9-2. Ensayo enzimático para la urea.

de pH. Este método ha sido incorporado en instrumentos que usan reactivos líquidos, un formato de película multicapas, y tiras de reactivo.⁸⁻¹⁰

Se puede usar un electrodo para medir la tasa de incremento en la conductividad cuando se producen iones amonio de la urea.¹¹ Debido a que se mide la tasa de cambio en la conductividad, la contaminación con amoniaco no es un problema como con otros métodos. Se han desarrollado métodos potenciométricos en los que se usa un electrodo selectivo de iones amonio.¹²

La urea puede medirse por condensación con diacetil monoxima con la presencia de un ácido fuerte y un agente oxidante para formar un derivado de diacina amarillo.¹³ El hierro (III) y la tiosemicarbadida se adicionan para estabilizar la reacción mixta a color.¹⁴ La ventaja principal de este método directo de medición de urea es que el amoniaco no interfiere. En otro método directo la urea reacciona con el *o*-ftalaldehído y la naftiletilendiamina para formar un cromógeno que se puede medir.¹⁵

Se ha propuesto la espectrometría de masa con dilución de isótopo como un método definitivo para urea.¹⁶

El ensayo enzimático acoplado de ureasa/GLDH realizado en un filtrado libre de proteína ha sido usado como un método de referencia.¹⁷ Los métodos analíticos se resumen en el cuadro 9-3.

Requisitos de la muestra y sustancias que interfieren

La concentración de urea se puede medir en plasma, suero u orina. Si se recolecta plasma, se deben evitar los iones amonio y las concentraciones altas de citrato de sodio y fluoruro de sodio. El citrato y el fluoruro inhiben la ureasa. Aunque el contenido de proteína de la dieta afecta la concentración de urea, el efecto de una sola comida que contenga proteína es mínimo y, por lo regular, no se requiere muestra de ayuno. Se recomienda una muestra no hemolizada. La urea es susceptible a descomposición bacteriana, así que se deben refrigerar las muestras (en particular orina) que no se vayan a analizar en pocas horas. Las muestras de orina programada se deben refrigerar durante el período de recolección. Los métodos para plasma o suero pueden requerir modifi-

ESTUDIO DE CASO 9-1

Un varón de 65 años de edad es admitido por primera vez para tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, insuficiencia renal y cardiomegalia significativa. Los datos de laboratorio pertinentes en la admisión (5/31) se muestran en el cuadro 9-1.1 de estudio de caso.

Debido a la dificultad respiratoria grave, el paciente fue transferido a la unidad de cuidado intensivo, se le colocó en un respirador y se le administraron diuréticos y líquidos intravenosos (IV) para promover diuresis. Este tratamiento trajo una mejoría significativa en el gasto cardíaco y la función renal, como muestran los resultados de laboratorio varios días después (6/3). Después de dos días más en el respirador con terapia IV, la función renal del paciente volvió a la normalidad y, cuando se le dio de alta, sus resultados de laboratorio fueron normales (6/7).

El paciente fue admitido de nuevo 6 meses después debido a que su familia no pudo reanimarlo. En la admisión, el paciente presentó un corazón muy agrandado con enfermedad pulmonar grave, insuficiencia cardíaca y probable insuficiencia renal. Los estudios de laboratorio en la admisión fueron como se muestra en el cuadro 9-1.2 de estudio de caso. Se hicieron numerosos intentos para mejorar la función cardíaca y pulmonar del paciente, todos en vano, y éste murió cuatro días después.

Pregunta

1. ¿Cuál es la causa más probable de la elevada concentración de nitrógeno de urea del paciente? ¿Qué datos apoyan su conclusión?

CUADRO 9-1.1 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO (PRIMERA ADMISIÓN)

PRUEBA	5/31	6/3	6/7
N de urea, mg/dl	45	24	11
Creatinina, mg/dl	1.8	1.3	0.9
N de urea/creatinina	25	18.5	12.2
pH	7.22	7.5	
PCO ₂ , mmHg	74.4	48.7	
PO ₂ , mmHg	32.8	57.6	
O ₂ , sat, %	51.3	91.0	

CUADRO 9-1.2 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO (SEGUNDA ADMISIÓN)

N de urea, mg/dl	90
Creatinina, mg/dl	3.9
Ácido úrico, mg/dl	12.0
N de urea/creatinina	23
pH	7.35
PCO ₂ , mmHg	59.9
PO ₂ , mmHg	34.6
O ₂ , sat, %	63.7

CUADRO 9-3. RESUMEN DE MÉTODOS ANALÍTICOS, UREA**MÉTODOS ENZIMÁTICOS**

Los métodos emplean un primer paso similar	$\text{Urea} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Ureasa}} 2\text{NH}_4^+ + \text{CO}_3^{2-}$	
Enzimático acoplado a GLDH	$\text{NH}_4^+ + 2\text{-oxoglutarato} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{NAD}^+ + \text{glutamato} + \text{H}_2\text{O}$	Empleado en instrumentos automatizados; mejor como medición cinética; posible método de referencia
Colorante indicador	$\text{NH}_3^+ + \text{indicador de pH} \longrightarrow \text{cambio de color}$	Empleado en reactivos de película multi-capa, tiras de reactivo en polvo y sistemas automatizados
Conductimétrico	La conversión de urea no ionizada a NH_4^+ y HCO_3^{2-} da como resultado aumento de la conductividad	Específico y rápido
Berthelot	$\text{NH}_4^+ + 5\text{NaOCl} + 2\text{fenol} \xrightarrow{\text{Nitroprusiato}/\text{OH}^-} \text{indofenol} + 5\text{NaCl} + 5\text{H}_2\text{O}$	No específico; muy sensible a interferencia de NH_3 endógeno

Métodos químicos

Monoxima de diacetilo	$\text{Monoxima de diacetilo} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow[\text{Calor}]{\text{H}^+} \text{diacetilo} + \text{HONH}_2$	No específico; emplea reactivos tóxicos
	$\text{Urea} + \text{diacetilo} \xrightarrow{\text{H}^+} \text{diacina (amarilla)} + 2\text{H}_2\text{O}$	Empleado en instrumentos automatizados; ninguna interferencia de NH_3 , interferencia de sulfamidas
<i>o</i> -Ftalaldehído	$\text{Urea} + \textit{o}\text{-ftalaldehído} \xrightarrow{\text{H}^+} \text{isoindolina}$ $\text{Isoindolina} + \text{N-(1-naftil)etilendiamina} \xrightarrow{\text{H}^+} \text{producto coloreado}$	

cación para uso con muestras de orina debido a la alta concentración de urea y la presencia de amoníaco endógeno.

Intervalo de referencia¹⁸

Nitrógeno de urea			
Adulto	Suero o plasma	6-20 mg/dl	(2.1-7.1 mmol/L de urea)
	Orina de 24 h	12 a 20 g/día	(0.43-0.71 mol/día de urea)

CREATININA/CREATINA**Bioquímica**

La *creatina* se sintetiza sobre todo en el hígado a partir de arginina, glicina y metionina.⁴ Luego, es transportada a otro tejido, como el músculo, donde se convierte en fosfocreatina, que sirve como una fuente de alta energía. El fosfato de creatina pierde ácido fosfórico, y la creatina pierde agua para formar *creatinina*, que pasa hacia el plasma. Las estructuras de estos compuestos se muestran en la figura 9-3.

La creatinina se libera hacia la circulación a una tasa relativamente constante, que se ha demostrado es proporcional a una masa muscular individual. Se elimina de la circulación por filtración glomerular y se excreta por la orina. El *túbulo proximal* secreta cantidades adicionales de creatinina. Los túbulos renales pueden reabsorber también cantidades pequeñas.¹⁹

La concentración de creatinina plasmática es una función de la masa muscular relativa, la tasa de recambio de creatina y la función renal. La cantidad de creatinina en la corriente sanguínea es razonablemente estable, aunque el contenido proteínico de la dieta afecta la concentración plasmática. Como resultado de la constancia observada de producción endógena, la determinación de excreción de creatinina ha sido empleada como una medición de la integridad de las recolecciones de orina de 24 h en un determinado individuo, aunque puede ser que este método sea poco confiable.²⁰

Correlaciones de enfermedad**Creatinina**

La alta concentración de creatinina se relaciona con la función renal anormal, en particular cuando se relaciona



expresa como sigue, donde U_{Cr} es concentración de creatinina en la orina y P_{Cr} es la concentración de creatinina en el plasma.

$$CrCl = \frac{U_{Cr} V_U}{P_{Cr} t} \quad (\text{Ec. 9-6})$$

Por lo general, el aclaramiento de creatinina se expresa en unidades de ml/min, y se puede corregir por área de superficie corporal (véase el capítulo 24, *Función renal*). El aclaramiento de creatinina sobrestima la TFG porque los túbulos renales reabsorben una pequeña cantidad de creatinina y secretan hasta 10% de creatinina de orina. Sin embargo, el ACr provee una aproximación razonable de TFG.²¹

De la ecuación 9-6, se ve que la concentración de creatinina en plasma es inversamente proporcional al aclaramiento de creatinina. Por tanto, cuando aumenta la concentración de creatinina plasmática, disminuye la TFG, lo que indica daño renal. Por desgracia, la creatinina plasmática es un marcador de cierta forma insensible y existe la posibilidad de que no se incremente de manera mensurable hasta que la función renal se haya deteriorado más de 50%.⁴ La relación observada entre la creatinina plasmática y la TFG y la observación de que las concentraciones de creatinina plasmática son de cierta manera constantes y no afectadas por la dieta, hacen que la creatinina sea un buen analito para la evaluación de la función renal. Sin embargo, debido a las dificultades encontradas al analizar la cantidad pequeña de creatinina que por lo regular está presente (véase la explicación en *Métodos analíticos*), es posible que la medición de creatinina plasmá-

$$GFR = \frac{U_S V_U}{P_{St}} \quad (\text{Ec. 9-5})$$

El aclaramiento de una sustancia es el volumen de plasma del cual se eliminó esa sustancia por unidad de tiempo. La fórmula para el aclaramiento de creatinina ($CrCl$) se

ESTUDIO DE CASO 9-2

Una mujer de 80 años de edad fue admitida con diagnóstico de hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva, anemia, posible diabetes e insuficiencia renal crónica. Fue tratada con diuréticos y líquidos IV y dada de alta cuatro días después. Sus resultados de laboratorio se muestran en el cuadro 9-2.1 de estudio de caso.

Cinco meses después, fue admitida de nuevo para tratamiento de ataques de disnea. Se le asignó una dieta especial y medicamentos para controlar su hipertensión y fue dada de alta. El personal médico cree que la paciente no está tomando su medicamento como se le prescribió, así que se le asesoró en relación con la importancia de tomar dosis regulares.

Preguntas

1. ¿Cuál es la causa más probable de la alta concentración de nitrógeno de urea de la paciente? ¿Qué datos apoyan su conclusión?
2. Note que el diagnóstico de admisión de esta paciente es “posible diabetes”. Si la paciente en realidad tiene diabetes, con concentración alta de glucosa sanguínea y acetona positiva, ¿qué efecto tendría esto en los valores medidos de creatinina? Explique.

CUADRO 9-2.1 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

	PRIMERA ADMISIÓN		SEGUNDA ADMISIÓN	
	2/11	2/15	7/26	7/28
N de urea, mg/dl	58	*	*	61.0
Creatinina, mg/dl	6.2	6.2	6.4	6.0
Ácido úrico, mg/dl	10.0	*	*	9.2
N de urea/creatinina	9.4	*	*	10.1
Glucosa, mg/dl	86	80	113	*

* Indica prueba no realizada.

tica no provea sensibilidad suficiente para la detección de disfunción renal leve. Han sido propuestos varios analitos, incluso la cistatina C, para monitorear la TFG.²²

Creatina

En la enfermedad del músculo como distrofia muscular, poliomielitis, hipertiroidismo y traumatismo, las concentraciones de creatina plasmática y creatinina urinaria suelen ser altas. Las concentraciones de creatinina plasmática por lo regular son normales en estos pacientes. La medición de cinasa de creatina se emplea para el diagnóstico de enfermedad del músculo porque los métodos analíticos para creatina no están disponibles con facilidad en los laboratorios clínicos. En la enfermedad renal no aumenta la concentración de creatina plasmática.¹⁹

Métodos analíticos para creatinina

Los métodos empleados con más frecuencia para medir creatinina se basan en la reacción de Jaffe descrita por primera vez en 1886.²³ En esta reacción, la creatinina reacciona con el ácido pícrico en disolución alcalina para formar un cromógeno rojo-naranja. En 1919 Folin y Wu adoptaron la reacción para la medición de creatinina sanguínea.²⁴ La reacción es inespecífica y está sujeta a interferencia positiva de un gran número de compuestos,

como acetoacetato, acetona, ascorbato, glucosa y piruvato. Se obtienen resultados más exactos cuando la creatinina en un filtrado libre de proteína se absorbe en tierra de Fuller (silicato de magnesio de aluminio) o reactivo de Lloyd (silicato de aluminio de sodio), luego se eluye y se hace reaccionar con picrato alcalino.²⁵ Debido a que este método es tardado y no se automatiza con facilidad, no se emplea de forma rutinaria.

Se han empleado dos métodos para incrementar la especificidad de métodos de análisis para creatinina: un método de Jaffe cinético y reacción con varias enzimas. En el método de Jaffe cinético, el suero se mezcla con picrato alcalino y se mide la tasa de cambio en la absorbancia.²⁶ Aunque este método elimina algunos de los reactantes no específicos, está sujeto a interferencia por cetohácidos α y cefalosporinas.²⁷ La bilirrubina y la hemoglobina pueden causar un sesgo negativo, probablemente un resultado de su destrucción en la base fuerte utilizada. Un estudio del método de Jaffe cinético y varios métodos enzimáticos indicaron que aún se tiene que lograr la eliminación de interferencia en la medición de la creatinina sérica.²⁸ El método de Jaffe cinético se emplea de forma rutinaria a pesar de estos problemas porque no es caro, es rápido y fácil de realizar.

En un esfuerzo por incrementar la especificidad de la reacción de Jaffe, se han elaborado varios métodos enzimáticos

acoplados.^{29,30} El método con creatininas (amidohidrolasa de creatinina [EC 3.5.2.10]), creatinasa (amidinohidrolasa de creatina [EC 3.5.3.3]), oxidasa de sarcosina (EC 1.5.3.1) y peroxidasa (EC 1.11.1.7) ha sido adaptado para uso en un analizador de placa seca.³¹

Otro método para el análisis de creatinina ha sido la medición del color formado cuando la creatinina reacciona

con 3,5-dinitrobenzoato.³² Este método ha sido adaptado con éxito a una tira reactiva. Sin embargo, el color producido es menos estable que el del cromógeno de Jaffe.¹⁵

Se han desarrollado métodos de cromatografía líquida de alta presión (CLAP). En uno de los métodos se emplea el pretratamiento de la muestra con ácido tricloracético para remover proteína, cromatografía de intercambio iónico y

CUADRO 9-4. RESUMEN DE MÉTODOS ANALÍTICOS, CREATININA

Métodos químicos basados en la reacción de Jaffe

Jaffe-cinético	Reacción de Jaffe efectuada directamente en la muestra; detección de formación de color programada para evitar interferencia de cromógenos no creatinínicos	Sesgo positivo de α -cetoácidos y cefalosporinas; requiere equipo automatizado para precisión
Jaffe con adsorbente	$\text{Creatina} + \text{picrato} \xrightarrow{-\text{OH}} \text{complejo rojo-anaranjado}$ Creatinina en el filtrado libre de proteína es adsorbida en tierra de Fuller (silicato de aluminio y magnesio); luego, se hace reaccionar con picrato alcalino para formar un complejo coloreado	El adsorbente mejora la especificidad; método de referencia considerado previamente
Jaffé sin adsorbente	La creatinina en el filtrado libre de proteína reacciona con picrato alcalino para formar complejo coloreado	Sesgo positivo de ácido ascórbico, glucosa, glutatión, α -cetoácidos, ácido úrico y cefalosporinas

Métodos enzimáticos

Creatininasas-CK	$\text{Creatininasas} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Creatininasas}} \text{Creatina}$	Requiere muestra grande; no se emplea de forma amplia
	$\text{Creatina} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{CK}} \text{fosfato de creatina} + \text{ADP}$	
	$\text{ADP} + \text{fosfoenolpiruvato} \xrightarrow{\text{PK}} \text{piruvato} + \text{ATP}$	
	$\text{Piruvato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LD}} \text{lactato} + \text{NAD}^+$	
Creatininasas-H ₂ O ₂	$\text{Creatininasas} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Creatininasas}} \text{Creatina}$	Adaptado para uso como método de placa seca; potencial para reemplazar a Jaffe; ninguna interferencia del acetoacetato o cefalosporinas; algún sesgo positivo debido a lidocaína
	$\text{Creatina} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Creatininasas}} \text{sarcosina} + \text{urea}$	
	$\text{Sarcosina} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Oxidasa de sarcosina}} \text{Glicina} + \text{CH}_3\text{O} + \text{H}_2\text{O}_2$	
	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{sustrato incoloro} \xrightarrow{\text{Peroxidasa}} \text{producto coloreado} + \text{H}_2\text{O}$	

Otros métodos

Ácido 3,5-dinitrobenzoico (DNBA)	$\text{Creatininasas} + \text{DNBA} \xrightarrow{-\text{OH}} \text{producto púrpura}$	Empleado en tiras reactivas; producto coloreado inestable
CLAP	Cromatografía de fase inversa o de intercambio catiónico	Altamente específico; método de referencia propuesto

detección ultravioleta (UV) de creatinina.³³ Otro método combina la separación por CLAP con determinación enzimática de concentración de creatinina.³⁴ Ambos métodos han sido recomendados como métodos de referencia para creatinina sérica. La espectrometría de masas con dilución de isótopo ha sido propuesta como un método definitivo.³⁵

El desarrollo y uso de métodos más exactos para creatinina plasmática que tienden a dar valores menores tendrá un efecto significativo en los resultados obtenidos para aclaramiento de creatinina porque los resultados para creatinina urinaria no están sujetos a tantas interferencias como la creatinina plasmática. El uso de métodos más específicos para la medición de creatinina plasmática puede dar como resultado tasas de aclaramiento en apariencia más altas. Estos resultados requerirán interpretación cuidadosa.²¹ Los métodos analíticos para creatinina se resumen en el cuadro 9-4.

Requisitos de la muestra y sustancias que interfieren

La creatinina se puede medir en plasma, suero u orina. Las muestras hemolizadas e ictericas se deben evitar en particular si se emplea un método de Jaffe. Las muestras lipémicas pueden producir resultados erróneos en algunos métodos. No se requiere una muestra de ayuno, aunque la ingestión alta de proteínas puede elevar de forma transitoria las concentraciones séricas. La orina se debe refrigerar después de la recolección o congelar si se requieren más de 4 días de almacenaje.¹⁸

Fuentes de error

El ascorbato, glucosa, α -cetoácidos y el ácido úrico pueden incrementar la concentración de creatinina medida por la reacción de Jaffe, en particular a temperaturas superiores a 30°C. Esta interferencia se reduce de forma importante cuando se aplica una medición cinética. Dependiendo de la concentración de los reactivos y el tiempo de medición, la interferencia de los α -cetoácidos puede persistir en métodos de Jaffe cinéticos. Algunas de estas sustancias interfieren en los métodos enzimáticos para medición de creatinina. La bilirrubina causa un sesgo negativo en los métodos de Jaffe y enzimáticos. El ascorbato interferirá en los métodos enzimáticos que emplean peroxidasa como reactivo.²⁸

Los pacientes que toman antibióticos de cefalosporina pueden tener resultados elevados falsamente cuando se emplea la reacción de Jaffe. Se ha demostrado que otros fármacos incrementan los resultados de creatinina. La dopamina, en particular, afecta tanto a los métodos enzimáticos como a los de Jaffe. La lidocaína causa un sesgo positivo en algunos métodos enzimáticos.³⁶

Un estudio del método de Jaffe cinético y varios métodos enzimáticos indicaron que aún se tiene que lograr la eliminación de interferencia en la medición de creatinina sérica.²⁸ El uso de una técnica de ajuste de curvas multipunto y no la determinación tradicional de tiempo fijo de dos puntos para calcular la concentración de creatinina es una solución propuesta.³⁷

CUADRO 9-5. INTERVALOS DE REFERENCIA PARA CREATININA EN PLASMA O SUERO mg/dl (μ mol/L)

POBLACIÓN	JAFFE	ENZIMÁTICO
Adulto		
Mujer	0.6–1.1 (53–97)	0.5–0.8 (44–71)
Varón	0.9–1.3 (80–115)	0.6–1.1 (53–97)
Niño	0.3–0.7 (27–62)	0–0.6 (0–53)

Intervalo de referencia¹⁸

Los intervalos de referencia varían con el tipo de ensayo, edad y género.¹⁸ La concentración de creatinina disminuye con la edad comenzando en la quinta década de la vida. Los intervalos de referencia del suero se enumeran en el cuadro 9-5.

Creatinina

Adulto, mujer	Orina de 24 h	600 a 1 800 mg/día	(5.3 a 15.9 mmol/día)
Adulto, varón		800 a 2 000 mg/día	(7.1 a 17.7 mmol/día)

Métodos analíticos para creatina

El método tradicional para la medición de creatina depende del análisis de la muestra con un método de Jaffe de punto final para creatinina antes y después de que se caliente en disolución ácida. El calentamiento convierte a la creatina en creatinina y la diferencia entre las dos muestras es la concentración de creatina. Las temperaturas altas podrían originar la formación de cromógenos adicionales, y la precisión de este método es deficiente. Se han desarrollado varios métodos enzimáticos; uno es el ensayo de creatininasas. Se omite la enzima inicial y la cinasa de creatina (EC 2.7.3.2), cinasa de piruvato (EC 2.1.7.40) y la deshidrogenasa de lactato (EC 1.1.1.27) se acoplan para producir un producto coloreado mensurable.³⁸ La creatina se puede medir mediante CLAP.^{39,40}

ÁCIDO ÚRICO

Bioquímica

En los primates superiores, como humanos y simios, el ácido úrico es el producto de descomposición final del metabolismo de la purina.⁴ La mayor parte de los mamíferos tienen la capacidad para catabolizar purinas a alantoína, un producto final más soluble en agua. Esta reacción se muestra en la figura 9-4.

Las purinas, como la adenosina y la guanina de la descomposición de ácidos nucleicos ingeridos o de la destrucción de tejido, son convertidas en ácido úrico, sobre todo en el hígado. El ácido úrico es transportado en el plasma del hígado a los riñones, donde se filtra a través del glomérulo. La reabsorción de 98 a 100% del ácido úrico en el filtrado glomerular ocurre en los túbulos proximales. Los túbulos

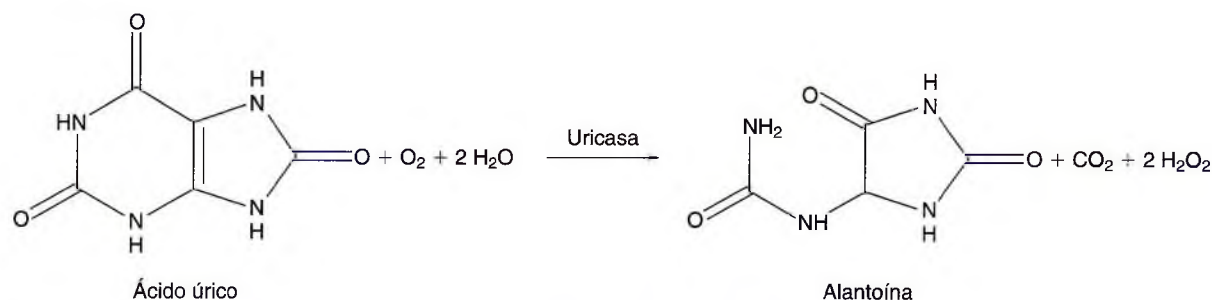


FIGURA 9-4. Conversión de ácido úrico a alantoína.

distales secretan pequeñas cantidades de ácido úrico en la orina. Esta ruta representa casi 70% de la excreción diaria de ácido úrico. El resto se excreta hacia el tubo digestivo y las enzimas bacterianas se encargan de degradarlo.

Casi todo el ácido úrico en el plasma se presenta como urato monosódico. En el pH del plasma, el urato es relativamente insoluble; a concentraciones mayores que 6.4 mg/dl, el plasma se satura. Como resultado, los cristales de urato se pueden formar y precipitar en el tejido. En la orina a un pH <5.75, el ácido úrico es la especie predominante y se podrían formar cristales de ácido úrico.

Correlaciones de enfermedad

Tres estados morbosos principales se relacionan con la concentración plasmática alta de ácido úrico: gota, catabolismo incrementado de ácidos nucleicos, y enfermedad renal. La *gota* es una enfermedad hallada sobre todo en los varones y, por lo común, se diagnostica entre los 30 y 50 años de edad. Los pacientes tienen dolor e inflamación de las articulaciones a causa de la precipitación de uratos de sodio. En 20 a 30% de estos pacientes, la *hiperuricemia* es un resultado de la sobreproducción de ácido úrico, aunque la hiperuricemia puede ser exacerbada por una dieta rica en purina, fármacos o alcohol. La concentración de ácido úrico plasmático en estos pacientes es por lo regular mayor que 6.0 mg/dl. Los pacientes con gota son muy susceptibles a desarrollar cálculos renales, aunque no todos los pacientes con concentraciones altas de urato sérico presentan esta complicación. En las mujeres, la concentración de urato aumenta después de la menopausia. Las mujeres posmenopáusicas pueden desarrollar hiperuricemia y gota. En casos graves, los depósitos de uratos llamados *tofus*, se forman en el tejido y causan deformidades.

Otra causa común de concentración plasmática alta de ácido úrico es el metabolismo incrementado de núcleos de células, como ocurre en pacientes con quimioterapia para enfermedades proliferativas como leucemia, linfoma, mieloma múltiple y policitemia. El monitoreo de ácido úrico en estos pacientes es importante para evitar nefrotoxicidad. El alopurinol, que inhibe a la oxidasa de xantina (EC 1.1.3.22), una enzima en la vía de síntesis de ácido úrico, se emplea como tratamiento.

Los pacientes con anemia hemolítica o megaloblástica pueden exhibir concentración alta de ácido úrico. La

enfermedad renal crónica causa un aumento en la concentración de ácido úrico porque se deterioran la filtración y la secreción. Sin embargo, el ácido úrico no es útil como indicador de la función renal porque muchos otros factores afectan su concentración plasmática. Las concentraciones de urato en el plasma arriba de 6 mg/dl se relacionan con el desarrollo de complicaciones de gota (cuadro 9-6). La concentración alta de ácido úrico es secundaria a la enfermedad de almacenaje de glucógeno (deficiencia de glucosa-6-fosfatasa, EC 3.1.3.9) y otras deficiencias enzimáticas congénitas. Se producen cantidades excesivas de metabolitos, como lactato y triglicéridos, y compiten con el urato para excreción renal en estas enfermedades.¹⁹

El síndrome de Lesch-Nyhan es un trastorno genético ligado al cromosoma X (visto sólo en varones) causado por deficiencia completa de guanina hipoxantina fosforribosiltransferasa (HGPRT, EC 2.4.2.8), una enzima importante en la biosíntesis de purinas. La falta de esta enzima evita la reutilización de bases de purina en la vía de rescate de nucleótido. La síntesis incrementada de nucleótidos

CUADRO 9-6. CAUSAS DE ÁCIDO ÚRICO PLASMÁTICO INCREMENTADO

Mayor ingestión en la dieta

Aumento de la producción de urato

Gota

Tratamiento de enfermedad mieloproliferativa con fármacos citotóxicos

Excreción reducida

Acidosis láctica

Toxemia de embarazo

Enfermedad de almacenaje de glucógeno tipo I (deficiencia de glucosa-6-fosfatasa)

Tratamiento con fármacos

Venenos: plomo, alcohol

Enfermedad renal

Defectos enzimático de la vía catabolítica

Síndrome de Lesch-Nyhan

de purina y del producto de degradación, ácido úrico, da como resultado concentraciones altas de ácido úrico en plasma y orina.⁴¹ Síntomas neurológicos, retraso mental y automutilación caracterizan a esta enfermedad bastante rara. Las mutaciones en la sintetasa de fosforribosilpirofosfato (EC 2.7.6.1) también causan que aumente la concentración de ácido úrico.¹⁹

La hiperuricemia es una característica común de toxemia de embarazo y acidosis láctica presumiblemente como resultado de la competencia por sitios de enlace en los túbulos renales. Las concentraciones altas se pueden encontrar después de la ingestión de una dieta rica en purinas (p. ej., hígado, riñón, mollejas, mariscos) o una disminución importante en la ingestión dietética total como resultado de catabolismo tisular incrementado o inanición.

La hipouricemia es menos común que la hiperuricemia y, por lo común, es secundaria a hepatopatía grave o reabsorción tubular defectuosa, como en el síndrome de Fanconi. La hipouricemia puede ser causada por quimioterapia con 6-mercaptopurina o azatioprina, inhibidores de la síntesis de purina *de novo*, así como el sobretratamiento con alopurinol.¹⁹

Métodos analíticos

Como se muestra en la figura 9-4, el ácido úrico se oxida fácilmente a alantoína y, por tanto, puede funcionar como un agente reductor en las reacciones químicas. Esta pro-

piedad se aprovechaba en los primeros procedimientos analíticos para la determinación de ácido úrico. El método más común de este tipo es el de Caraway, que se basa en la oxidación de ácido úrico en un filtrado libre de proteína, con una reducción posterior de ácido fosfotúngstico a azul de tungsteno.⁴² El carbonato de sodio provee un pH alcalino necesario para la formación de color. Este método carece de especificidad.

Los métodos en los que se emplea uricasa (oxidasa de urato, EC 1.7.3.3), la enzima que cataliza la oxidación de ácido úrico a alantoína, son más específicos. En el más simple de estos métodos se mide la absorción diferencial de ácido úrico y alantoína a 293 nm.⁴³ La diferencia en absorbancia antes y después de la incubación con uricasa es proporcional a la concentración de ácido úrico. Se ha propuesto una modificación de este método como posible método de referencia.⁴⁴ Las proteínas pueden causar absorbancia de fondo alta en este método, lo que reduce la sensibilidad. La interferencia negativa puede ocurrir a causa de la hemoglobina y xantina.⁴⁵

Se han desarrollado métodos con reacciones enzimáticas acopladas para medir el peróxido de hidrógeno producido cuando el ácido úrico es convertido en alantoína.^{46,47} La peroxidasa o catalasa (EC 1.11.1.6) se emplea para catalizar una reacción de indicador químico. El color producido es proporcional a la cantidad de ácido úrico en la muestra. Los métodos enzimáticos de esta clase han sido adaptados para uso en analizadores por vía húmeda

ESTUDIO DE CASO 9-3

Una niña de 3 años de edad fue admitida con un diagnóstico de leucemia linfocítica aguda. Sus datos de laboratorio de admisión se muestran en el cuadro 9-3.1 de estudio de caso. Después de la admisión, la niña fue tratada con concentrados celulares, 2 unidades de plaquetas, líquidos IV y alopurinol. En el segundo día de hospital, se inició la quimioterapia, con vincristina y prednisona IV e inyecciones intratecales de metotrexato, prednisona y arabinósido de citosina. Cinco días después fue enviada a su casa. Continuó con prednisona y alopurinol en su hogar. Un mes después recibió quimioterapia adicional (11/1) y de nuevo en 11/14. En 12/6, fue admitida de nuevo porque tenía llagas dolorosas en su boca y no podía comer.

Preguntas

1. ¿Cómo explicaría las concentraciones significativamente altas de ácido úrico en la admisión?
2. ¿A qué factores se deben las concentraciones normales de ácido úrico en admisiones posteriores?
3. ¿Cuál es la causa más probable de concentración anormalmente baja de nitrógeno de urea observada en 12/6? ¿Qué otro resultado de laboratorio sería útil para confirmar sus sospechas?

CUADRO 9-3.1 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

	10/1	10/2	10/3	10/4	11/14	12/6	6/20
N de urea, mg/dl	12.0	*	*	15	4.0	2.0	*
Creatinina, mg/dl	0.7	*	*	1.0	0.7	*	0.7
Ácido úrico, mg/dl	12.0	9.2	4.0	1.9	2.3	*	3.1
GB, mm ³	56,300			3,700		2,800	3,700

* Indica prueba no realizada.

tradicionales y para analizadores de placa por vía seca. La bilirrubina y el ácido ascórbico que destruyen peróxido pueden interferir. Las preparaciones de reactivos comerciales suelen incluir ferrocianuro de potasio y oxidasa de ascorbato para reducir estas interferencias.

Se han elaborado métodos de CLAP con varios tipos de columna.^{48,49} Estos métodos son sensibles y específicos; podría ser necesario el tratamiento previo de la muestra para eliminar proteína. La espectrometría de masas con dilución de isótopo ha sido propuesta como un posible método definitivo.⁵⁰ Los métodos analíticos se resumen en el cuadro 9-7.

Requisitos de la muestra y sustancias que interfieren

El ácido úrico se puede medir en plasma heparinizado, suero u orina. El suero se debe remover de las células lo más pronto posible para evitar la dilución por contenido intracelular. La dieta puede afectar la concentración de ácido úrico en general, pero una comida reciente no tiene efecto importante y es innecesaria una muestra en ayuno. Se debe evitar la lipemia total. Una concentración alta de bilirrubina podría disminuir de modo falso los resultados

obtenidos por métodos de peroxidasa. La hemólisis significativa, con liberación concomitante de glutatión, podría dar como resultado valores bajos. Se ha demostrado que fármacos como salicilatos y tiacidas incrementan los valores para ácido úrico.³⁶

El ácido úrico es estable en plasma o suero después de que han sido eliminados los eritrocitos. Las muestras de suero pueden ser puestas en refrigeración durante 3 a 5 días.¹⁸

Intervalo de referencia¹⁸

Los valores son un poco menores en niños y mujeres posmenopáusicas.

Ácido úrico (método de uricasa)			
Mujer adulta	Plasma	2.6 a 6.0	(0.16 a 0.36
	o suero	mg/dl	mmol/L)
Varón adulto		0.5 a 7.2	(0.21 a 0.43
		mg/dl	mmol/L)
	Orina de 24 h	250 a 750	(1.48 a 4.43
		mg/día	mmol/día)
Niño	Plasma	2.0 a 5.5	(0.12 a 0.33
	o suero	mg/dl	mmol/L)

CUADRO 9-7. RESUMEN DE MÉTODOS ANALÍTICOS, ÁCIDO ÚRICO

MÉTODOS QUÍMICOS		
Ácido fosfotúngstico	Ácido úrico + H ₃ PW ₁₂ O ₄₀ + O ₂ $\xrightarrow{\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{OH}^-}$ alantoína + azul de tungsteno + CO ₂	No específico; requiere eliminación de proteína
Métodos enzimáticos		Muy específico
Primer paso similar	Ácido úrico + O ₂ + 2 H ₂ O $\xrightarrow{\text{Uricasa}}$ alantoína + CO ₂ + H ₂ O ₂	
Espectrofotométrico	Disminución de absorbancia a 293 nm	Posible método de referencia; interfieren hemoglobina y xantina
Enzimático acoplado (I)	$\begin{array}{l} \text{H}_2\text{O}_2 + \text{CH}_3\text{OH} \xrightarrow{\text{Catalasa}} \text{H}_2\text{CO} + 2 \text{H}_2\text{O} \\ \text{CH}_2\text{O} + 3 \text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2 + \text{NH}_3 \longrightarrow 3 \text{H}_2\text{O} + \text{compuesto coloreado} \end{array}$	Por lo común es un método sesgo negativo agentes reductores
Enzimático acoplado (II)	H ₂ O ₂ + colorante indicador $\xrightarrow{\text{Peroxidasa}}$ compuesto coloreado + 2 H ₂ O	Automatizado con facilidad;interfieren agentes reductores
Otros métodos		
CLAP	Intercambio iónico, permeación en gel, columnas de fase inversa	Específico; por lo regular requiere extracción de muestra
Dilución isotópica/MS	Muestra diluida con cantidad conocida de isótopo; relación de dos isótopos detectada mediante un espectrómetro de masas	Método definitivo propuesto

AMONIACO

Bioquímica

El amoníaco (NH_3) surge de la desaminación de aminoácidos, que ocurre sobre todo por la acción de enzimas bacterianas y digestivas en proteínas en el tubo digestivo.¹⁹ El amoníaco se libera también de reacciones metabólicas que ocurren en el músculo esquelético durante el ejercicio. Las células parenquimatosas del hígado lo consumen para la producción de urea. En hepatopatía grave en la que hay circulación colateral importante o si la función de células hepáticas parenquimatosas está dañada, el amoníaco se elimina de la circulación y se incrementa la concentración sanguínea. A pH fisiológico normal, la mayor parte del amoníaco en la sangre existe como ion amonio. En la figura 9-5 se muestra el equilibrio dependiente del pH entre NH_3 y NH_4^+ . A diferencia de otras sustancias de NNP, la concentración de amoníaco en el plasma no depende de la función renal. La medición de amoníaco en la orina se puede usar para confirmar la capacidad de los riñones para producir amoníaco.

Las concentraciones altas de NH_3 son neurotóxicas y se relacionan por lo común con *encefalopatía*. La toxicidad puede ser en parte un resultado de la concentración incrementada de glutamato extracelular y el agotamiento posterior de trifosfato de adenosina (ATP) en el cerebro.⁵¹ El amoníaco se usa para monitorear el avance de varias condiciones clínicas graves, y debe estar disponible un estudio cuantitativo en los laboratorios de las instalaciones de atención terciaria.

Correlaciones de enfermedad

Las condiciones clínicas en las que la concentración de amoníaco provee información útil son insuficiencia hepática, síndrome de Reye y deficiencias hereditarias de enzimas del ciclo de la urea. La enfermedad hepática grave es la causa más común de metabolismo de amoníaco alterado. El monitoreo de amoníaco sanguíneo se puede usar para determinar el diagnóstico, aunque es posible que la correlación entre el grado de encefalopatía hepática y NH_3 plasmático no sea congruente. Un estudio reciente indica que la concentración de amoníaco corresponde a la gravedad de la encefalopatía hepática.⁵²

El síndrome de Reye, que ocurre con más frecuencia en niños, es una enfermedad grave que puede ser fatal. De ordinario, la enfermedad va precedida de infección viral, que suele tratarse con aspirina. El síndrome de Reye es un trastorno metabólico agudo del hígado, y los hallazgos de la necropsia muestran infiltración grasa intensa de ese órgano.⁴¹ La concentración de amoníaco en la sangre se puede correlacionar con la gravedad de la enfermedad y el diagnóstico. La supervivencia alcanza 100% si la concentración plasmática de NH_3 permanece cinco veces debajo de lo normal.⁵³

La concentración de amoníaco en la sangre se incrementa en la deficiencia hereditaria de todas las enzimas del ciclo

de la urea excepto argininosuccinasa (EC 4.3.2.1). La medición de amoníaco en plasma es importante en el diagnóstico y monitoreo de estos trastornos metabólicos hereditarios.

Métodos analíticos

La medición exacta de laboratorio de amoníaco en plasma es complicada por su baja concentración, inestabilidad y contaminación dominante. Se han empleado dos métodos para la medición de amoníaco plasmático. Uno es un método de dos pasos en el que se aísla el amoníaco de la muestra y luego se valora. El segundo conlleva la medición directa de amoníaco por un método enzimático o electrodo selectivo de iones. Los ensayos detectan NH_3 o NH_4^+ .

Uno de los primeros métodos analíticos para el amoníaco, desarrollado por Conway en 1935, explota la volatilidad del amoníaco para separar el compuesto en una cámara de microdifusión.⁵⁴ El gas amoníaco de la muestra se difunde hacia un compartimiento separado y se absorbe en una disolución que contiene un indicador de pH. La cantidad de amoníaco se determina por titulación.

Un segundo método más exitoso para aislar NH_3 es el uso de una resina de intercambio iónico (Dowex 50) seguida de elución de NH_3 con cloruro de sodio y cuantificación por la reacción de Berthelot.⁵⁵ Estos métodos de aislamiento son tardados y no se automatizan con facilidad.

Un ensayo enzimático con deshidrogenasa de glutamato es conveniente y es el método más común empleado en la actualidad.⁵⁶ La disminución de absorbancia a 340 nm cuando el fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADPH reducido) se consume en la reacción es proporcional a la concentración de amoníaco en la muestra. La NADPH es la coenzima preferida porque es usada de manera específica por la deshidrogenasa de glutamato; el NADH participará en reacciones de otros sustratos endógenos, como el piruvato. El difosfato de adenosina (ADP) se agrega a la mezcla de reacción para incrementar la tasa de reacción y estabilizar a la GLDH.⁵⁷ Este método se usa en muchos sistemas automatizados, y se puede obtener de muchos fabricantes como un conjunto preparado.

Se ha desarrollado una medición directa con un electrodo selectivo de iones.⁵⁸ El electrodo mide el cambio de pH de una disolución de cloruro de amonio cuando el amoníaco se difunde por una membrana semipermeable. Está disponible un ensayo colorimétrico de película delgada.⁵⁹ En este método, el amoníaco reacciona con un indicador para producir un compuesto coloreado que es detectado mediante espectrofotómetro. Los métodos analíticos para amoníaco se resumen en el cuadro 9-8.

Requisitos de la muestra y sustancias que interfieren

El manejo cuidadoso de la muestra es muy importante para estudios de amoníaco plasmático. La concentración de amoníaco de sangre total aumenta con rapidez después de la recolección de la muestra como resultado de la desaminación de aminoácido *in vitro*. La sangre venosa se debe obtener sin traumatismo y colocar en hielo de inmediato.



FIGURA 9-5. Interconversión de amonio y amoníaco.

CUADRO 9-8. RESUMEN DE MÉTODOS ANALÍTICOS, AMONIACO

Métodos enzimáticos		
GLDH	$\text{NH}_4^+ + 2\text{-oxoglutarato} + \text{NADPH} \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{glutamato} + \text{H}_2\text{O} + \text{NADP}^+$	Más común en instrumentos automatizados; exacto y preciso
Métodos químicos		
Intercambio iónico	NH ₃ absorbido en resina Dowex 50, se eluye y cuantifica con la reacción de Berthelot	Método manual tardado; exacto
Electrodo selectivo de iones	Difusión de NH ₃ a través de membrana selectiva en NH ₄ Cl que causa cambio de pH, el cual se mide con un potenciómetro	Buena exactitud y precisión; la estabilidad de la membrana puede ser un problema
Espectrofotométrico	NH ₃ + azul de bromofenol → colorante azul	

La heparina y el ácido etilendiaminotetracético (EDTA) son anticoagulantes adecuados. Los recipientes de recolección comerciales deben ser evaluados para interferencia de amoniaco antes de utilizar un nuevo lote. Las muestras se deben centrifugar a 0 a 4°C dentro de 20 min de la recolección y eliminar el plasma o suero. Las muestras se deben evaluar lo más pronto posible o congelar. El plasma congelado es estable por varios días a -20°C. Los eritrocitos contienen dos a tres veces tanto amoniaco como el plasma; se debe evitar la hemólisis.

Una fuente importante de contaminación con amoniaco se encuentra en pacientes que fuman. Se recomienda que los pacientes dejen de fumar durante varias horas antes de extraer la muestra.¹⁰

Fuentes de error

La concentración de amoniaco es un problema potencial en la medición de amoniaco en el laboratorio. Se deben tomar precauciones para reducir la contaminación en el laboratorio en el que se lleva a cabo el ensayo. La eliminación de fuentes de contaminación de amoniaco mejora de forma importante la exactitud de los resultados del ensayo de amoniaco. Entre las fuentes de contaminación están el humo del tabaco, orina y amoniaco en detergentes, material de vidrio, reactivos y agua.

El contenido de amoniaco del material de control basado en suero es inestable. Se pueden usar alícuotas congeladas de albúmina sérica humana que contienen cantidades conocidas de cloruro o sulfato de amonio. Existen en el mercado disoluciones que contienen cantidades conocidas de sulfato de amonio.

Muchas sustancias afectan la concentración de amoniaco in vivo.^{18,45} Las sales de amonio, asparaginasa, barbituratos, diuréticos, etanol, hiperalimentación, analgésicos narcóticos, y algunos otros fármacos pueden incrementar el amoniaco en el plasma. La difenhidramina, *Lactobacillus acidophilus*,

lactosa, levodopa y varios antibióticos disminuyen los valores. La glucosa en concentraciones mayores que 600 mg/dl (33 mmol/L) interfiere en métodos de placa seca.

Intervalo de referencia¹⁸

Los valores obtenidos varían un poco con el método usado. Las concentraciones mayores se ven en recién nacidos.

AMONIACO			
Adulto	Plasma	19–60 μg/dl	(11–35 μmol/L)
	Orina de 24 h	140–1500 mg N/día	(10–107 mmol N/día)
Niño (10 días a 2 años)		68–136 μg/dl	(40–80 μmol/L)

RESUMEN

Los compuestos de NNP clínicamente importantes hallados en el plasma son urea, creatinina, creatina, ácido úrico, amoniaco y aminoácidos. La urea, el producto excretorio primario del metabolismo de proteínas comprende la mayor proporción de la fracción de NNP. Su concentración en plasma se relaciona con el contenido de proteína de la dieta, el flujo sanguíneo renal, la cantidad de catabolismo de proteína y la función renal. Las condiciones clínicas que causan concentraciones elevadas de urea se clasifican, según la causa, como prerrenales, renales y posrenales. La relación de nitrógeno de urea/creatinina se puede usar para diferenciar estas condiciones. La urea se mide por lo común mediante un método enzimático que cuantifica la cantidad de amoniaco producida por hidrólisis de ureasa de la urea en la muestra.

La creatinina se forma como creatina y la fosfocreatina en el músculo pierde de forma espontánea agua o ácido fosfórico, respectivamente. La creatinina se excreta por el plasma a una tasa constante relacionada con la masa del músculo. La TFG se puede estimar calculando el aclaramiento de creatinina, que requiere medición de creatinina en plasma y orina. La creatinina plasmática se relaciona de forma inversa con la TFG y, aunque es una medida imperfecta, se emplea por lo común para monitorear la función de filtración renal. La medición de creatinina en plasma y orina se ha realizado de modo tradicional por medio de la reacción de Jaffe. Esta reacción es relativamente indefinida y está sujeta a interferencia de muchas sustancias, incluso glucosa, α -cetoácidos y proteína. La especificidad de la reacción se puede mejorar si se emplea un método cinético y no uno de punto final; sin embargo, el método de Jaffe cinético está sujeto a interferencia de la bilirrubina, α -cetoácidos y algunos fármacos. Se han desarrollado métodos enzimáticos que no tienen amplia aceptación. El uso de un método más específico para la medición de creatinina puede requerir el reajuste de intervalos de referencia para creatinina plasmática y aclaramiento de creatinina. Sin este ajuste es posible que pase desapercibida la disfunción renal.

El ácido úrico es el producto de la descomposición de las purinas del catabolismo de ácido nucleico. Se filtra en el glomérulo, es reabsorbido en los túbulos proximales y lo secretan los túbulos distales hacia la orina. Más ácido úrico es excretado hacia el tubo digestivo y es degradado por enzimas bacterianas. El ácido úrico es relativamente insoluble en plasma y, a altas concentraciones, puede ser depositado en las articulaciones y el tejido, lo que causa inflamación dolorosa. En situaciones como gota, catabo-

lismo incrementado de ácido nucleico y enfermedad renal se observa una mayor concentración de ureato plasmático. El aumento de ácido úrico se observa después de condiciones que dan como resultado producción excesiva de metabolitos, como lactato y triglicéridos, que compiten con el urato para secreción en el túbulo distal. De ordinario, el ácido úrico se cuantifica mediante un método enzimático en el que la uricasa oxida al ácido úrico a alantoína y peróxido. El peróxido producido se detecta por reacción con diversos colorantes. La bilirrubina en cantidad suficiente y otras sustancias que destruyen peróxido en la muestra pueden reducir de manera falsa los resultados.

El amoníaco está presente en el plasma en bajas concentraciones. Éste proviene de la desaminación de aminoácidos durante el metabolismo de proteínas, y por lo común es eliminado de la circulación y convertido en urea en el hígado. Las concentraciones altas de amoníaco son neurotóxicas. La concentración alta de amoníaco en el plasma se relaciona con insuficiencia hepática, síndrome de Reye o una deficiencia hereditaria en el metabolismo de la urea. El amoníaco se mide mediante un método enzimático con deshidrogenasa de glutamato. Se mide el cambio de absorbancia cuando la NADPH se convierte en NADP⁺. La recolección y manejo cuidadosos de la muestra son necesarios para controlar errores de medición. La concentración de amoníaco de sangre recién extraída aumenta con rapidez en reposo. Las muestras se deben colocar en hielo después de la recolección para evitar un incremento de NH₃ como resultado de la desaminación de aminoácidos. El plasma se debe separar y analizar lo más rápido posible. La contaminación con amoníaco en el laboratorio y el humo del cigarrillo son fuentes potenciales de contaminación de la muestra.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Cuál de las siguientes no es una sustancia de NNP?
 - a) Urea.
 - b) Amoníaco.
 - c) Creatinina.
 - d) Troponina T.
2. ¿Cuál fracción de NNP constituye casi la mitad de las sustancias de NNP en la sangre?
 - a) Urea.
 - b) Creatina.
 - c) Amoníaco.
 - d) Ácido úrico.
3. La azoemia prerenal es causada por:
 - a) Insuficiencia cardíaca congestiva.
 - b) Insuficiencia renal crónica.
 - c) Tumores renales.
 - d) Nefritis glomerular.
4. Una relación alta de N de urea/creatinina con una concentración alta de creatinina se ve por lo común en:
 - a) Hepatopatía.
 - b) Baja ingestión de proteínas.
 - c) Necrosis tubular.
 - d) Condiciones posrenales.
5. Normalmente las concentraciones de amoníaco se miden para evaluar:
 - a) Insuficiencia renal.
 - b) Estado ácido-base.
 - c) Encefalopatía hepática.
 - d) Filtración glomerular.
6. Un especialista obtiene un valor de N de urea de 61 mg/dl y un valor de creatinina sérica de 3.1 mg/dl en un paciente. Estos resultados indican:
 - a) Insuficiencia renal.
 - b) Falla del riñón.
 - c) Gota.
 - d) Insuficiencia prerenal.

7. En la reacción de Jaffe, se forma un cromógeno rojo-naranja cuando la creatinina reacciona con:
 - a) Ácido pícrico.
 - b) Naphtiletildiamina.
 - c) Monoxima de diacetilo.
 - d) Nitroferrocianuro.
8. Las sustancias que incrementan los resultados al medir creatinina mediante la reacción de Jaffe incluyen a las siguientes EXCEPTO:
 - a) Glucosa.
 - b) Ascorbato.
 - c) α -Cetoácidos.
 - d) Bilirrubina.
9. Un especialista obtiene una concentración de N de urea de 9 mg/dl. ¿Cuál es la concentración de urea?
 - a) 18.3 mg/dl.
 - b) 19.3 mg/dl.
 - c) 10.3 mg/dl.
 - d) 9.3 mg/dl.
10. El ácido úrico es el producto de descomposición final de:
 - a) Metabolismo de la urea.
 - b) Metabolismo de la purina.
 - c) Metabolismo de la glucosa.
 - d) Metabolismo de la bilirrubina.

REFERENCIAS

1. Gentzkow CJ. An accurate method for determination of blood urea nitrogen by direct nesslerization. *J Biol Chem* 1942;143:531.
2. Skogerboe KJ, Labbe RF, Rettmer RL, et al. Chemiluminescent measurement of total urinary nitrogen for accurate calculation of nitrogen balance. *Clin Chem* 1990;36:752.
3. Konstantinides FN, Konstantinides NN, Li JC, et al. Urinary urea nitrogen: too insensitive for calculating nitrogen balance studies in surgical clinical nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1991;15:189.
4. Hristova EN, Henry JB. Metabolic intermediates, inorganic ions and biochemical markers of bone metabolism. In: Henry JB, ed. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 20th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001:180.
5. Berthelot MPE. *Report Chim Appl* 1859;1:282.
6. Talke H, Schubert GE. Enzymatische hamstoffbestimmung im blut und serum im optischen test nach warburg. *Klin Wochenschr* 1965;43:174.
7. Scott P, Maguire GA. A kinetic assay for urea in undiluted urine specimens. *Clin Chem* 1990;36:1830.
8. Orsonneau J, Massoubre C, Cabanes M, et al. Simple and sensitive determination of urea in serum and urine. *Clin Chem* 1992;38:619.
9. Ohkubo A, Kamei S, Yamanaka M, et al. Multilayer-film analysis for urea nitrogen in blood, serum, or plasma. *Clin Chem* 1984;30:1222.
10. Akai T, Naka K, Yoshikawa C, et al. Salivary urea nitrogen as an index to renal function: a test-strip method. *Clin Chem* 1983;29:1825.
11. Paulson G, Ray R, Sternberg J. A rate sensing approach to urea measurement. *Clin Chem* 1971;17:644.
12. Georges J. Determination of ammonia and urea in urine and of urea in blood by use of an ammonia-selective electrode. *Clin Chem* 1979;25:1888.
13. Veniamin MP, Vakirtzi-Lemonias C. Chemical basis of the carbamido-diacetyl micromethod for estimation of urea, citrulline, and carbamyl derivatives. *Clin Chem* 1970;16:3.
14. Marsh WH, Fingerhut B, Miller H. Automated and manual direct methods for determination of blood urea. *Clin Chem* 1965;11:624.
15. Pesce AJ, Kaplan LA. *Methods in Clinical Chemistry*. St. Louis: CV Mosby, 1987.
16. Kessler A, Siekmann L. Measurement of urea in human serum by isotope dilution mass spectrometry: a reference procedure. *Clin Chem* 1999;45:1523.
17. Sampson EJ, Baird MA, Burtis CA, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC Study Group on urea candidate reference method. *Clin Chem* 1980;26:816.
18. Tietz N. *Clinical Guide to Laboratory Tests*. Philadelphia: WB Saunders, 1995.
19. Newman DJ, Price CP. Renal function and nitrogen metabolites. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999:1204.
20. Narayanan S, Appelton H. Creatinine: a review. *Clin Chem* 1980;26:1119.
21. Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insight into old concepts. *Clin Chem* 1992;38:1933.
22. Laterza OF, Price CP, Scott MG. Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate? *Clin Chem* 2002;48:699.
23. Jaffe M. Über den niederschlag welchen pikrinsaure in normalen harn erzeugt und über eine neue reaktion des kreatinins. *Z Physiol Chem* 1886;10:391.
24. Folin O, Wu H. System of blood analysis. *J Biol Chem* 1919;31:81.
25. Haeckel R. Assay of creatinine in serum with use of Fuller's earth to remove interferents. *Clin Chem* 1981;27:179.
26. Larsen K. Creatinine assay by a reaction kinetic principle. *Clin Chem Acta* 1972;41:209.
27. Bowers LD, Wong ET. Kinetic serum creatinine assays. II. A critical evaluation and review. *Clin Chem* 1980;26:555.
28. Weber JA, van Zanten AP. Interferences in current methods for measurements of creatinine. *Clin Chem* 1991;37:695.
29. Moss GA, Bondar RJL, Buzzelli DM. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. *Clin Chem* 1975;21:1422.
30. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Enzymic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *Clin Chem* 1983;29:1494.
31. *Creatinine test methodology*. Kodak Ektachem clinical chemistry products. Rochester, NY: Eastman Kodak Company, 1992;Pub No MP2-49.
32. Langley WD, Evans M. The determination of creatinine with sodium 3,5-dinitrobenzoate. *J Biol Chem* 1936;115:333.
33. Rosano TG, Ambrose RT, Wu AHB, et al. Candidate reference method for determining creatinine in serum: method development and interlaboratory validation. *Clin Chem* 1990;36:1951.
34. Linnet K, Bruunshuus I. HPLC with enzymatic detection as a candidate reference method for serum creatinine. *Clin Chem* 1991;37:1669.

35. Welch MJ, Cohen A, Hertz HS, et al. Determination of serum creatinine by isotope dilution mass spectrometry as a candidate definitive method. *Anal Chem* 1986;58:1681.
36. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 5th ed. Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry Press, 2000.
37. Bacon BL, Pardue HL. Kinetic study of the Jaffe reaction for quantifying creatinine in serum: evaluation of buffered reagent and comparison of different data processing options. *Clin Chem* 1989;35:360.
38. Beyer, C. Creatine measurement in serum and urine with an automated enzymatic method. *Clin Chem* 1993;39:1613.
39. Murakita H. Simultaneous determination of creatine and creatinine in serum by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1988;431:471.
40. Yang YD. Simultaneous determination of creatine, uric acid, creatinine and hippuric acid in urine by high performance liquid chromatography. *Biomed Chromatogr* 1998;12:47.
41. Harrison's Online. Available at: <http://harrisons.accessmedicine.com>. Accessed Winter 2003.
42. Caraway WT. Uric acid. In: Seligson, D, ed. *Standard Methods of Clinical Chemistry*. New York: Academic Press, 1965:239.
43. Feichtmeier TV, Wrenn HT. Direct determination of uric acid using uricase. *Am J Clin Pathol* 1955;25:833.
44. Duncan PH, Gochman N, Cooper T, et al. A candidate reference method for uric acid in serum: I. Optimization and evaluation. *Clin Chem* 1982;28:284.
45. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*, 2nd ed. Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry Press, 1997.
46. Gochman N, Schmitz JM. Automated determination of uric acid with use of a uricase-peroxidase system. *Clin Chem* 1971;17:1154.
47. Kageyama N. A direct colorimetric determination of uric acid in serum and urine with uricase-catalase system. *Clin Chim Acta* 1971;31:421.
48. Ingebrechtsen OC, Borgen J, Farstad M. Uric acid determinations: reversed-phase liquid chromatography with ultraviolet detection compared with kinetic and equilibrium adaptations of the uricase method. *Clin Chem* 1982;28:496.
49. Tanaka M, Hama M. Improved rapid assay of uric acid in serum by liquid chromatography. *Clin Chem* 1988;34:2567.
50. Ellerbe P, Cohen A, Welch MJ, et al. Determination of serum uric acid by isotope dilution mass spectrometry as a new candidate reference method. *Anal Chem* 1990;62:2173.
51. Monfort P, Kosenko E, Erceg S, et al. Molecular mechanism of acute ammonia toxicity: role of NMDA receptors. *Neurochem Int* 2002;41:95.
52. Ong JP, Aggarwal A, Krieger D, et al. Correlation between ammonia levels and the severity of hepatic encephalopathy. *Am J Med* 2003;114:188.
53. Fitzgerald JF, Clark JH, Angelides AG, et al. The prognostic significance of peak ammonia levels in Reye's syndrome. *Pediatrics* 1982;70:997.
54. Green A. When and how should we measure plasma ammonia? *Ann Clin Biochem* 1988;25:199.
55. Routh JI. Liver Function. In: Tietz NW, ed. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. Philadelphia: WB Saunders, 1976:1052.
56. Mondzac A, Ehrlich GE, Seegmiller JE. An enzymatic determination of ammonia in biological fluids. *J Lab Clin Med* 1965;66:526.
57. Ammonia test methodology. Roche/Hitachi products. Indianapolis, IN: Roche Diagnostics Corporation, 2001.
58. Willems D, Steenssens W. Ammonia determined in plasma with a selective electrode. *Clin Chem* 1988;34:2372.
59. VITROS AMON Slides. Instructions for use. VITROS Chemistry Products. Rochester, NY: Ortho-Clinical Diagnostics, 2002;Pub No MP2-90.

Enzimas

Robin Gaynor Krefetz y Gwen A. McMillin

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- PROPIEDADES GENERALES Y DEFINICIONES
- CLASIFICACIÓN DE ENZIMAS Y NOMENCLATURA
- CINÉTICA DE ENZIMAS
 - Mecanismo catalítico de enzimas
 - Factores que afectan las reacciones enzimáticas
 - Medición de la actividad enzimática
 - Cálculo de la actividad enzimática
 - Medición de la masa de enzima
 - Enzimas como reactivos
- ENZIMAS DE IMPORTANCIA CLÍNICA
 - Cinasa de creatina
 - Deshidrogenasa de lactato

- Aminotransferasa de aspartato
- Aminotransferasa de alanina
- Fosfatasa alcalina
- Fosfatasa ácida
- γ-Glutamiltransferasa
- Amilasa
- Lipasa
- Deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato

- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al terminar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Definir el término enzima, incluso su composición química y estructura.
- Clasificar las enzimas de acuerdo con la *International Union of Biochemistry* (IUB).
- Describir diferentes factores que afectan la velocidad de una reacción enzimática.
- Explicar la cinética de enzimas incluso la cinética de orden cero y primer orden.
- Explicar por qué la medición de las concentraciones de enzima sérica es útil desde el punto de vista clínico.

- Describir qué enzimas son útiles en el diagnóstico de varios trastornos, incluso cardíacos, hepáticos, óseos, musculares, malignos y pancreatitis aguda.
- Explicar las fuentes de tejido, importancia diagnóstica y ensayos, además de fuentes de error, para las siguientes enzimas: CK, LD, AST, ALT, ALP, ACP, GGT, amilasa, lipasa, colinesterasa y G-6-PD.
- Evaluar las concentraciones de enzimas séricas del paciente en relación con los estados morbosos.

TÉRMINOS CLAVE

Activadores
Apoenzima
Cinética de orden cero
Cinética de primer orden
Coenzima
Cofactor

Complejo enzima-sustrato (ES)
Constante de Michaelis-Menten
Energía de activación
Ensayo cinético

Enzima
Hidrolasa
Holoenzima
Isoenzima
Isoformas
Oxidorreductasa

Patrón de LD descontrolado
Transferasa
Unidad internacional (UI)
Zimógeno

Las enzimas son proteínas biológicas específicas que catalizan reacciones bioquímicas sin alterar el punto de equilibrio de la reacción o sin ser consumidas o experimentar algún cambio en su composición. Las otras sustancias en la reacción son convertidas a productos. Las reacciones son con frecuencia específicas y esenciales para funciones fisiológicas, como la hidratación de dióxido de carbono, conducción nerviosa, degradación de nutrientes y uso de energía. Halladas en el tejido corporal, las enzimas con frecuencia aparecen en el suero después de lesión celular o, algunas veces, en pequeñas cantidades, de células degradadas. Ciertas enzimas, como las que facilitan la coagulación, son específicas para el plasma y, por tanto, están presentes en concentraciones significativas en el plasma. Por tanto, las concentraciones de enzimas de plasma o suero suelen ser útiles en el diagnóstico de enfermedades particulares o anormalidades fisiológicas. En este capítulo se analizan las propiedades y principios generales de las enzimas, aspectos que se relacionan con la importancia diagnóstica clínica de enzimas fisiológicas específicas, y métodos de ensayo para esas enzimas.

PROPIEDADES GENERALES Y DEFINICIONES

Las enzimas catalizan muchas reacciones fisiológicas específicas. Estas reacciones se facilitan por la estructura de la enzima y otros cuantos factores. Como una proteína, cada enzima comprende una secuencia de aminoácido específica (*estructura primaria*), con la torsión de las cadenas peptídicas resultantes (*estructura secundaria*), que luego se pliega (*estructura terciaria*) y da como resultado cavidades estructurales. Si una enzima contiene más de una unidad polipeptídica, la *estructura cuaternaria* se refiere a las relaciones espaciales entre las subunidades. Cada enzima contiene un *sitio activo*, a menudo una cavidad sin agua, donde la sustancia sobre la que actúa la enzima (el *sustrato*) interactúa con residuos particulares de aminoácidos con carga. Un *sitio alostérico* —una cavidad distinta al sitio activo— puede enlazar moléculas reguladoras y, por tanto, ser significativo para la estructura enzimática básica.

Aun cuando una determinada enzima mantiene la misma función catalítica en el cuerpo, esa enzima puede existir en diferentes formas dentro del mismo individuo. Estas formas pueden ser diferenciadas entre sí con base en ciertas propiedades físicas, como movilidad electroforética, solubilidad o resistencia a desactivación. El término *isoenzima* se usa por lo general cuando se analiza esa clase de enzimas; sin embargo, la *International Union of Biochemistry* (IUB) recomienda restringir este término a múltiples formas de origen genético. Una *isoforma* resulta cuando una enzima está sujeta a modificaciones postraslacionales. Las isoenzimas e isoformas contribuyen a la heterogeneidad en las propiedades y función de las enzimas.

Además de la estructura básica de la enzima, una molécula no proteínica, llamada *cofactor*, puede ser necesaria para actividad enzimática. Cofactores inorgánicos, como los iones cloruro o magnesio, se llaman *activadores*. Una *coenzima* es un factor orgánico, como el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD). Cuando se une fuerte-

mente a la enzima, la coenzima se llama *grupo prostético*. La porción de enzima (*apoenzima*), con su respectiva coenzima, forma un sistema completo y activo, una *holoenzima*.

Algunas enzimas, en su mayor parte enzimas digestivas, son secretadas al principio del órgano de producción en una forma estructuralmente inactiva, llamada *proenzima* o *zimógeno*. Otras enzimas alteran después la estructura de la proenzima para hacer disponibles los sitios activos hidrolizando residuos específicos de aminoácido. Este mecanismo evita que las enzimas digestivas digieran su lugar de síntesis.

CLASIFICACIÓN DE ENZIMAS Y NOMENCLATURA

Para estandarizar la nomenclatura de enzimas, la *Enzyme Commission* (EC) de la IUB adoptó un sistema de clasificación en 1961; los estándares fueron revisados en 1972 y 1978. El sistema IUB asigna un *nombre sistemático* a cada enzima, que define al sustrato en el que actúa, la reacción catalizada y, posiblemente, el nombre de la coenzima que participa en la reacción. Debido a que muchos nombres sistemáticos son extensos, el sistema IUB asigna también un *nombre recomendado* trivial, más práctico.¹

Además de nombrar las enzimas, el sistema IUB identifica cada una mediante un código numérico EC que contiene cuatro dígitos separados por puntos decimales. El primer dígito coloca a la enzima en una de las seis clases siguientes:

1. Oxidorreductasas: catalizan una reacción de oxidación-reducción entre dos sustratos.
2. Transferasas: catalizan la transferencia de un grupo distinto al hidrógeno de un sustrato a otro.
3. Hidrolasas: catalizan la hidrólisis de varios enlaces.
4. Liasas: catalizan la eliminación de grupos de sustratos sin hidrólisis. El producto contiene enlaces dobles.
5. Isomerasas: catalizan la interconversión de isómeros geométricos, ópticos y posicionales.
6. Ligasas: catalizan la unión de dos moléculas de sustrato, junto con la rotura del enlace de pirofosfato en trifosfato de adenosina (ATP) o un compuesto similar.

Los dígitos segundo y tercero del número de código EC representan la subclase y subclases de la enzima, respectivamente, divisiones que se hacen de acuerdo con criterios específicos a las enzimas en la clase. El número final es el número serial específico para cada enzima en una subclase. En el cuadro 10-1 se dan los números de código EC, así como los nombres sistemático y recomendado, para enzimas medidas con frecuencia en el laboratorio clínico.

En el cuadro 10-1 se listan también las abreviaturas usual y estándar para enzimas analizadas comúnmente. Sin la recomendación IUB, las letras mayúsculas han sido utilizadas como conveniencia para identificar las enzimas. Las abreviaturas comunes, construidas a veces de nombres aceptados antes para las enzimas, se emplearon hasta que

CUADRO 10-1. CLASIFICACIÓN DE ENZIMAS CUANTIFICADAS CON FRECUENCIA

CLASE	NOMBRE RECOMENDADO	ABREVIATURA COMÚN	ABREVIATURA ESTÁNDAR	NÚMERO DE CÓDIGO EC	NOMBRE SISTEMÁTICO
Oxidorreductasas	Deshidrogenasa de lactato	LDH	LD	1.1.1.27	L-Lactato: NAD ⁺ oxidorreductasa
	Deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato	G-6-PDH	G-6-PD	1.1.1.49	D-Glucosa-6-fosfato: NADP ⁺ 1-oxidorreductasa
Transferasas	Aminotransferasa de aspartato	GOT (transaminasa de glutamato y oxaloacetato)	AST	2.6.1.1	L-Aspartato: 2-oxaloglutarato aminotransferasa
	Aminotransferasa de alanina	GPT (transaminasa de glutamato)	ALT	2.6.1.2	L-Alanina: 2-oxaloglutarato aminotransferasa
	Cinasa de creatina	CPK (fosfocinasa de creatina)	CK	2.7.3.2	ATP: cretina N-fosfotransferasa (5-Glutamilo)
	γ -Glutamilttransferasa	GGTP	GGT	2.3.2.2	Péptido: aminoácido-5-glutamilt-transferasa
Hidrolasas	Fosfatasa alcalina	ALP	ALP	3.1.3.1	de monoéster ortofosfórico (óptimo alcalino)
	Fosfatasa ácida	ACP	ACP	3.1.3.2	Fosfohidrolasa de monoéster ortofosfórico (óptimo ácido)
	α -Amilasa	AMY	AMS	3.2.1.1	1,4-D-Glucano glucanohidrolasa
	Lipasa de triacilglicerol		LPS	3.1.1.3	Triacilglicerol acilhidrolasa
	Colinesterasa	CHS	CHS	3.1.1.8	Acilcolina acilhidrolasa

Adaptado de Competence Assurance, ASMT. Enzymology, An Educational Program. Bethesda, MD: RMI Corporation, 1980.

se elaboraron las abreviaturas estándar listadas en el cuadro.^{2,3} Estas abreviaturas estándar se emplean en Estados Unidos y se usan después en este capítulo para indicar enzimas específicas.

CINÉTICA DE ENZIMAS

Mecanismo catalítico de enzimas

Una reacción química puede ocurrir de forma espontánea si la energía libre o la cinética disponible es mayor para los reactantes que para los productos. La reacción procede entonces hacia la energía más baja si un número suficiente de moléculas reactantes posee suficiente energía en exceso para romper sus enlaces químicos y colisionar para formar nuevos enlaces. La energía en exceso, llamada *energía de activación*, es la que se requiere para elevar todas las moléculas en 1 mol de un compuesto a cierta temperatura al

estado de transición en el pico de la barrera de energía. En el estado de transición, cada molécula tiene las mismas probabilidades de participar en la formación de producto o permanecer sin reaccionar. Los reactantes que poseen energía suficiente para vencer la barrera de energía participan en la formación de productos.

Una manera de proveer más energía para una reacción es incrementar la temperatura y, por tanto, colisiones intermoleculares; sin embargo, esto no ocurre normalmente a nivel fisiológico. Las enzimas catalizan reacciones fisiológicas disminuyendo el nivel de energía de activación que los reactantes (*sustratos*) deben alcanzar para que ocurra la reacción (fig. 10-1). La reacción puede ocurrir entonces más fácil en un estado de equilibrio en el que no hay reacción directa o inversa, aun cuando no se altere la constante de equilibrio de la reacción. El grado al que avanza la reacción depende del número de moléculas de sustrato que pasan la barrera de energía.

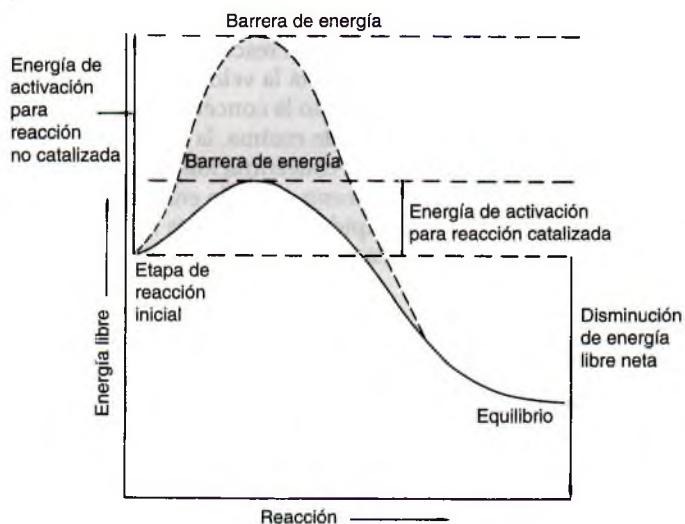


FIGURA 10-1. Energía contra avance de la reacción, que indica la barrera de energía que el sustrato debe superar para reaccionar con y sin catálisis enzimática. La enzima reduce de forma considerable la energía libre necesaria para activar la reacción.

La relación general entre enzima, sustrato y producto se puede representar como sigue:



donde

E = enzima
S = sustrato
ES = complejo enzima-sustrato
P = producto

El complejo ES es un enlace físico de un sustrato al sitio activo de una enzima. La disposición estructural de residuos de aminoácido dentro de la enzima hace que el sitio activo tridimensional esté disponible. A veces, la unión de ligando promueve una nueva distribución para activar el sitio. El estado de transición para el complejo ES tiene menor energía de activación que el estado de transición de S solo, de modo que la reacción procede después que se forma el complejo. En una reacción real puede haber varios sustratos y productos.

Las diferentes enzimas son específicas para sustratos en distintos alcances o aspectos. Ciertas enzimas exhiben *especificidad absoluta*, lo que significa que la enzima se combina con sólo un sustrato y cataliza sólo la reacción correspondiente. Otras enzimas son *específicas de grupo* porque se combinan con los sustratos que contienen un grupo particular, como un éster de fosfato. Aún otras enzimas son específicas a enlaces químicos y, por consiguiente, exhiben *especificidad de enlace*.

La *especificidad estereoisométrica* se refiere a enzimas que de manera predominante se combinan con sólo un isómero óptico de cierto compuesto. Además, una enzima puede unirse a más de una molécula de sustrato y esto puede ocurrir por cooperación. Por tanto, la unión de

una molécula de sustrato puede facilitar el enlace de más moléculas de sustrato.

Factores que afectan las reacciones enzimáticas

Concentración de sustrato

La velocidad a la que procede una reacción enzimática, y si ocurre la reacción directa o inversa dependen de varias condiciones de reacción. Una influencia principal en las reacciones enzimáticas es la concentración de sustrato. En 1913, Michaelis y Menten plantearon la hipótesis del papel que desempeña la concentración de sustrato en la formación del *complejo enzima-sustrato (ES)*. De acuerdo con su hipótesis, representada en la figura 10-2, el sustrato se une fácilmente con la enzima libre a una concentración de sustrato baja. Con la cantidad de enzima mayor que la cantidad de sustrato, la velocidad de reacción se incrementa de forma estable a medida que se agrega más sustrato. La reacción sigue una *cinética de primer orden* porque la velocidad de reacción es directamente proporcional a la concentración de sustrato. Sin embargo, en algún momento, la concentración de sustrato es bastante alta para saturar toda la enzima disponible, y la velocidad de reacción alcanza su máximo. Cuando se forma el producto, la enzima libre resultante se combina de inmediato con el exceso de sustrato libre. La reacción está en *cinética de orden cero*, y la velocidad de reacción depende sólo de la concentración de enzima.

La constante de Michaelis-Menten (K_m), derivada de la teoría de Michaelis y Menten, es una constante para una enzima y sustrato específicos bajo condiciones de reacción definidas, y es una expresión de la relación entre la velocidad de una reacción enzimática y la concentración de sustrato. Se supone que el equilibrio entre E, S, ES y P se establece con rapidez, y que la reacción $E + P \rightarrow ES$ es insignificante. El paso que limita la velocidad es la formación de producto y enzima a partir del complejo ES. Entonces, se fija la velocidad máxima, y la velocidad de reacción es

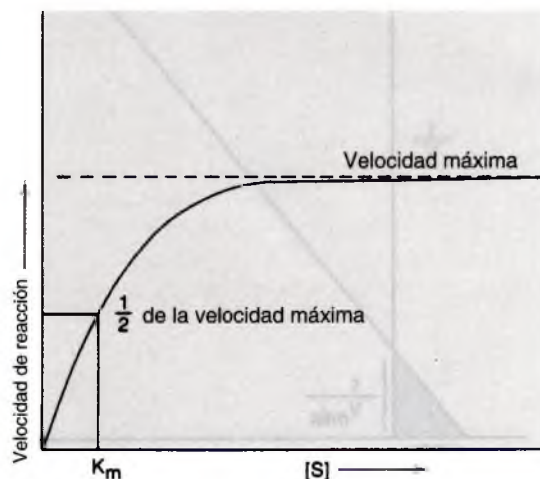


FIGURA 10-2. Curva de Michaelis-Menten de velocidad en función de la concentración de sustrato para reacción enzimática. K_m es la concentración de sustrato a la que la velocidad de la reacción es la mitad del nivel máximo.

una función de sólo la concentración de enzima. Como se designa en la figura 10-2, K_m es específicamente la concentración de sustrato a la que la enzima produce la mitad de la velocidad máxima posible. Por tanto, K_m indica la cantidad de sustrato necesaria para una reacción enzimática particular.

La hipótesis de Michaelis-Menten de la relación entre la velocidad de reacción y la concentración de sustrato se puede representar matemáticamente como sigue:

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \quad (\text{Ec. 10-2})$$

donde

V = velocidad de reacción medida

V_{\max} = velocidad máxima

$[S]$ = concentración de sustrato

K_m = constante de Michaelis-Menten de enzima para sustrato específico

En teoría, V_{\max} y después K_m se podrían determinar de la gráfica de la figura 10-2. Sin embargo, es difícil determinar V_{\max} de la gráfica hiperbólica, y a menudo no se logra de manera exacta en reacciones enzimáticas porque es posible que las enzimas no funcionen de forma óptima en presencia de sustrato excesivo. Una determinación más exacta y conveniente de V_{\max} y K_m se puede hacer con una gráfica de Lineweaver-Burk, una gráfica recíproca doble de la constante de Michaelis-Menten, que produce una recta (fig. 10-3). Se toma el recíproco de la concentración de sustrato y la velocidad de una reacción enzimática. La ecuación se convierte en

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (\text{Ec. 10-3})$$

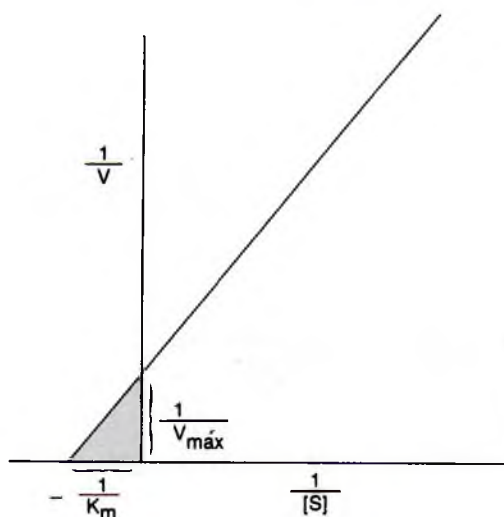


FIGURA 10-3. Transformación de Lineweaver-Burk de la curva de Michaelis-Menten. V_{\max} es el recíproco del intercepto y de la recta. K_m es el recíproco negativo del intercepto x de la misma recta.

Concentración de enzima

Debido a que las enzimas catalizan reacciones fisiológicas, la concentración de enzima afecta la velocidad de la reacción catalizada. Tan pronto como la concentración de sustrato excede la concentración de enzima, la velocidad de la reacción es proporcional a la concentración de la enzima. Mientras más alta sea la concentración de enzima, la reacción procederá con más rapidez porque más enzima está presente para unirse al sustrato.

pH

Las enzimas son proteínas que llevan cargas moleculares netas. Los cambios de pH pueden desnaturar una enzima o afectar su estado iónico, lo que da como resultado cambios estructurales o un cambio en la carga de un residuo aminoácido en el sitio activo. Por consiguiente, cada enzima opera dentro de un intervalo de pH específico. La mayor parte de las reacciones enzimáticas fisiológicas ocurren en el intervalo de pH de 7.0 a 8.0, pero algunas enzimas son activas en intervalos de pH más amplios que otras. En el laboratorio, el pH de una reacción se controla de manera cuidadosa en el pH óptimo por medio de disoluciones amortiguadoras apropiadas.

Temperatura

Al subir la temperatura normalmente se incrementa la velocidad de una reacción química porque aumenta el movimiento de las moléculas, la tasa a la que ocurren las colisiones intermoleculares, y la energía disponible para la reacción. Éste es el caso con las reacciones enzimáticas hasta que la temperatura es lo suficientemente alta para desnaturar la composición de proteína de la enzima. Por cada incremento de temperatura de 10 grados, la velocidad de la reacción aumenta casi el doble hasta que, por supuesto, se desnaturiza la proteína.

Cada enzima funciona de manera óptima a una determinada temperatura, que se ve afectada por otras variables de reacción, en particular el tiempo total para la reacción. La temperatura óptima por lo regular es cercana a la del medio fisiológico de la enzima; sin embargo, puede ocurrir cierta desnaturación a la temperatura fisiológica humana de 37°C. La tasa de desnaturación se incrementa conforme sube la temperatura, y normalmente es significativa de 40 a 50°C.

Debido a que las temperaturas bajas vuelven reversiblemente inactivas a las enzimas, muchas muestras de suero o plasma para medición de enzima se refrigeran o congelan para evitar pérdida de actividad hasta el análisis. Los procedimientos de almacenaje pueden variar de una enzima a otra como resultado de las características de estabilidad individuales. No obstante, la congelación y descongelación repetidas tienden a desnaturar la proteína, y esto se debe evitar.

Debido a su sensibilidad a la temperatura, las enzimas se deben analizar bajo condiciones de temperatura controladas en forma estricta. Las temperaturas de incubación deben ser exactas dentro de $\pm 0.1^\circ\text{C}$. Por lo general, los laboratorios intentan establecer una temperatura de análisis para medición rutinaria de enzimas de 25, 30 o 37°C. Han sido en

vano los intentos por establecer una temperatura universal para el análisis de enzimas y, por tanto, los intervalos de referencia para concentraciones de enzimas pueden variar de forma importante entre laboratorios. Sin embargo, en Estados Unidos, es común usar la temperatura de 37°C.

Cofactores

Los cofactores son entidades no proteínicas que se deben enlazar con enzimas particulares antes de que ocurra una reacción. Los *activadores* comunes (cofactores inorgánicos) son metálicos (Ca^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} y K^{+}) y no metálicos (Br^{-} y Cl^{-}). El activador puede ser esencial para la reacción o sólo incrementar la velocidad de la reacción en proporción con la concentración hasta el punto en el que el activador en exceso comienza a inhibir la reacción. Los activadores tienen como función alternar la configuración espacial de la enzima para la unión con el sustrato apropiado, enlazar el sustrato a la enzima o coenzima, o experimentar oxidación o reducción.

Algunas coenzimas comunes (cofactores orgánicos) son fosfatos de nucleótido y vitaminas. Las coenzimas sirven como segundos sustratos para reacciones enzimáticas. Cuando se enlazan fuertemente con la enzima, las coenzimas se llaman *grupos prostéticos*. Por ejemplo, el NAD como cofactor se puede reducir a fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADP) en una reacción en la que se oxida el sustrato primario. Incrementar la concentración de enzima incrementará la velocidad de una reacción enzimática de una manera comparable con la concentración de sustrato creciente. Al cuantificar una enzima que requiere un cofactor particular, el cofactor se debe proveer siempre en exceso para que el alcance de la reacción no dependa de la concentración del cofactor.

Inhibidores

Las reacciones enzimáticas no avanzan de manera normal si una determinada sustancia, un *inhibidor*, interfiere con la reacción. Los *inhibidores competitivos* se unen físicamente con el sitio activo de una enzima y compiten con el sustrato por el sitio activo. Con una concentración de sustrato mucho mayor que la concentración del inhibidor, la inhibición es reversible porque el sustrato tiene más probabilidades que el inhibidor de unirse con el sitio activo y no se ha destruido la enzima.

Un *inhibidor no competitivo* se une con una enzima en un lugar distinto al sitio activo, y puede ser reversible en el sentido de que algunas sustancias metabólicas presentes de modo natural se combinan en forma reversible con ciertas enzimas. La inhibición no competitiva también puede ser *reversible* si el inhibidor destruye parte de la enzima que participa en la actividad catalítica. Debido a que el inhibidor se une con la enzima independientemente del sustrato, incrementar la concentración de sustrato no invierte la inhibición.

La *inhibición no competitiva* es otra clase de inhibición en la que el inhibidor se une con el complejo ES; incrementar la concentración de sustrato produce más complejos ES con los que se une el inhibidor y, por consiguiente, se incrementa la inhibición. El complejo enzima-sustrato-inhibidor no da producto.

Cada una de las tres clases de inhibición es única con respecto a los efectos en las reacciones enzimáticas $V_{\text{máx}}$ y K_m de las reacciones enzimáticas (fig. 10-4). En la inhibición competitiva, el efecto del inhibidor se contrarresta si se añade exceso de sustrato para unirse con la enzima. La cantidad de inhibidor es insignificante entonces por comparación, y la reacción procederá menos rápido pero con

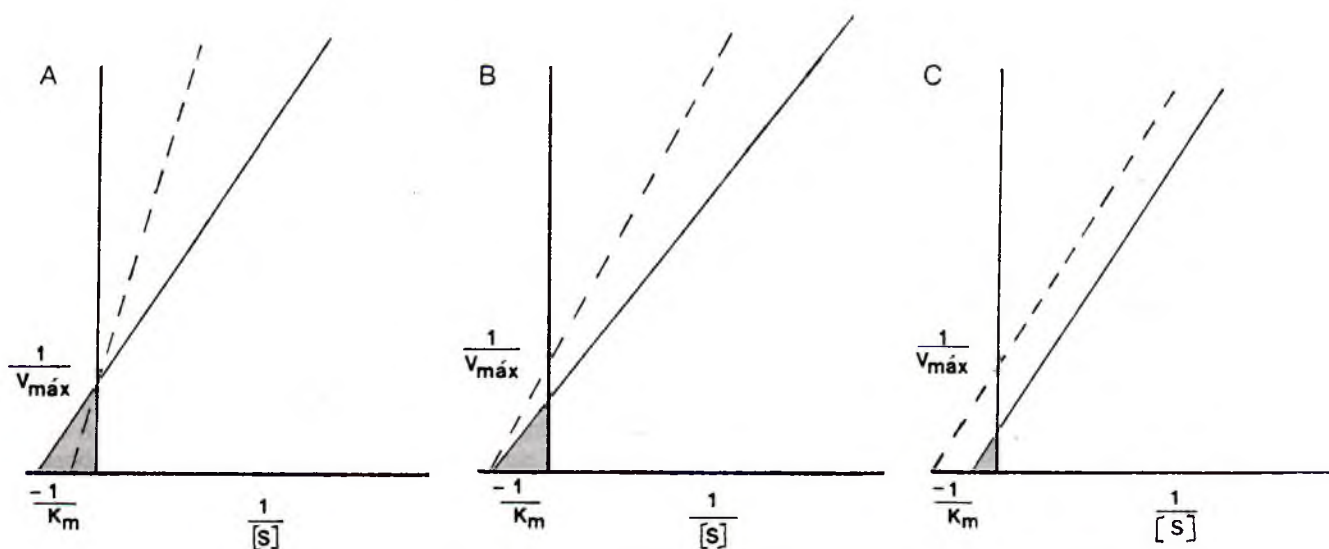


FIGURA 10-4. Gráfica normal de Lineweaver-Burk (*recta continua*) comparada con cada tipo de inhibición enzimática (*línea discontinua*). (A) Inhibición competitiva $V_{\text{máx}}$ sin cambio; K_m aparece incrementada. (B) Inhibición no competitiva $V_{\text{máx}}$ reducida; K_m sin cambio. (C) Inhibición no competitiva $V_{\text{máx}}$ reducida; K_m aparece reducida.

la misma velocidad que una reacción inhibida. La K_m es una constante para cada enzima y no puede ser alterada. Sin embargo, debido que la cantidad de sustrato necesaria para lograr una velocidad particular es mayor en presencia de un inhibidor competitivo, la K_m al parecer aumenta al mostrar el efecto del inhibidor.

El sustrato y el inhibidor, por lo general un ion metálico, pueden unirse con una enzima al mismo tiempo en inhibición no competitiva. El inhibidor puede inactivar ya sea un complejo ES o sólo la enzima causando cambios estructurales en ésta. Incluso si el inhibidor se une de forma reversible y no desactiva la enzima, la presencia del inhibidor cuando se une con la enzima disminuye la velocidad de la reacción. Por tanto, por inhibición competitiva, no se puede lograr la velocidad de reacción máxima. Incrementar las concentraciones de sustrato no tiene efecto en el enlace de un inhibidor no competitivo, de modo que la K_m no cambia.

Debido a que la inhibición no competitiva requiere la formación de un complejo ES, aumentar la concentración de sustrato incrementa la inhibición. Por tanto, no se puede lograr una velocidad máxima igual a la de una reacción no inhibida, y la K_m aparece reducida.

Medición de la actividad enzimática

Debido a que las enzimas normalmente están presentes en cantidades muy pequeñas en los líquidos biológicos y con frecuencia es difícil aislarlas de compuestos similares, un método conveniente para la cuantificación de enzimas es la medición de la actividad catalítica. Entonces la actividad se relaciona con la concentración. En los métodos comunes se podría medir con un potenciómetro un incremento en la concentración de producto, una disminución en la concentración de sustrato, una reducción en la concentración de coenzima o un aumento en la concentración de una coenzima alterada.

Si la cantidad de sustrato y cualquier coenzima está en exceso en una reacción enzimática, la cantidad de sustrato o coenzima empleada, o producto o coenzima alterada formada, dependerá sólo de la cantidad de enzima presente para catalizar la reacción. Por tanto, las concentraciones de enzima son ejecutadas siempre en cinética de orden cero, con el sustrato en exceso suficiente para asegurar que no más de 20% del sustrato disponible se convierte en producto. Cualquier coenzima también debe estar en exceso. El NADH es una coenzima que frecuentemente se mide en el laboratorio. El NADH absorbe luz a 340 nm, mientras que el NAD no lo hace, y se mide con facilidad un cambio de absorbancia a 340 nm.

En metodologías de laboratorio específicas, son necesarias otras sustancias distintas al sustrato o la coenzima y deben estar presentes en exceso. El NAD o NADH suele ser conveniente como reactivo para un ensayo de *enzima-acoplada* cuando NAD ni NADH son coenzimas para la reacción. En otros ensayos de enzima acoplada, se añade más de una enzima en exceso como un reactivo y se catalizan múltiples reacciones. Después que la enzima bajo análisis cataliza su reacción específica, un producto de esa

reacción se convierte en sustrato en el que actúa una *enzima auxiliar* intermediaria. Un producto de la reacción intermediaria se convierte en el sustrato para la reacción final, que emplea como catalizador una *enzima indicadora* y, por lo general, tiene que ver con la conversión de NAD a NADH o viceversa.

Al efectuar una cuantificación enzimática en cinética de orden cero, no debe haber inhibidores, y es necesario controlar de manera cuidadosa otras variables que pudieran afectar la velocidad de la reacción. Se debe mantener un pH constante por medio de una disolución amortiguadora apropiada. La temperatura debe ser constante dentro de $\pm 0.1^\circ\text{C}$ en todo el ensayo a una temperatura a la cual la enzima es activa (normalmente, 25, 30 o 37°C).

Durante el avance de la reacción, el período para el análisis también debe ser seleccionado con cuidado. Cuando la enzima se introduce al inicio a los reactivos y el sustrato en exceso se combina de forma estable con la enzima disponible, aumenta la velocidad de la reacción. Después que se satura la enzima, las tasas de formación de producto, liberación de enzima y recombinación con más sustrato proceden de forma lineal. Después de ese tiempo, de ordinario 6 a 8 min después del inicio de la reacción, la velocidad disminuye a medida que se agota el sustrato, la reacción inversa es más notable y el producto comienza a inhibir la reacción. Por tanto, las cuantificaciones de enzima se deben llevar a cabo durante la fase lineal de la reacción.

Es posible usar uno de dos métodos para medir el alcance de una reacción enzimática: a) de tiempo fijo y b) ensayo de monitoreo continuo o cinético. En el *método de tiempo fijo*, los reactantes se combinan, la reacción procede por un tiempo designado, se detiene la reacción (por lo regular al desactivar la enzima con un ácido débil) y se hace una medición de la cantidad de reacción que ha ocurrido. Se supone que la reacción es lineal con el tiempo de reacción; mientras más grande sea la reacción, más enzima está presente.

En los *ensayos de monitoreo continuo o cinéticos*, se hacen mediciones múltiples, normalmente de cambio de absorbancia, ya sea a intervalos de tiempo específicos (cada 30 o 60 s) o en forma continua mediante un espectrofotómetro de registro continuo. Estos ensayos ofrecen ventajas sobre los métodos de tiempo fijo porque la linealidad de la reacción se puede comprobar de forma más adecuada. Si la absorbancia se mide a intervalos, son necesarios varios puntos para incrementar la exactitud de la evaluación de linealidad. Se prefieren las mediciones continuas porque cualquier desviación respecto de la linealidad se observa sin dificultad.

La causa más común de desviación respecto de la linealidad ocurre cuando la concentración de la enzima es tan alta que se usa todo el sustrato al inicio del tiempo de reacción. Para el resto de la reacción, el cambio de velocidad es mínimo, lo que indica que la concentración de la enzima es muy baja. Con el monitoreo continuo, el laboratorista puede observar un cambio repentino en la velocidad de la reacción (desviación de la cinética de orden cero) de una determinación particular y puede repetirla con menos muestra del paciente. La disminución en la cantidad de muestra del paciente opera como una dilución, y la respuesta obtenida se puede multiplicar por el factor de

dilución para obtener la respuesta final. La muestra en sí no se diluye para que el diluyente no interfiera con la reacción. (La dilución de la muestra con disolución salina puede ser necesaria para minimizar los efectos negativos en el análisis a causa de hemólisis o lipemia.) Las mediciones de actividad enzimática pueden ser inexactas si las condiciones de almacenaje comprometen la integridad de la proteína, si hay inhibidores enzimáticos o si no están presentes cofactores necesarios.

Cálculo de la actividad enzimática

Cuando se realiza la cuantificación de las enzimas con respecto a su actividad y no con una medición directa de concentración, las unidades empleadas para expresar las concentraciones de enzima son *unidades de actividad*. La definición para la unidad de actividad debe considerar variables que pudieran alterar los resultados (p. ej., pH, temperatura, sustrato). A través de la historia, quienes elaboraban métodos específicos solían establecer sus propias unidades para expresar resultados, y era común que designaran a las unidades con su nombre (es decir, unidades Bodansky y King). Para estandarizar el sistema para expresar resultados cuantitativos, la EC definió la *unidad internacional* (UI) como la cantidad de enzima que catalizará la reacción de un μmol de sustrato por minuto en condiciones específicas de temperatura, pH, sustratos y activadores. Debido a que las condiciones especificadas pueden variar entre laboratorios, los valores de referencia son aún específicos del laboratorio. La concentración de enzima se expresa por lo regular en unidades por litro (UI/L). La unidad de actividad enzimática reconocida por el Sistema Internacional de Unidades (*Système Internationale d'Unités* [SI]) es el katal (mol/s). El mol es la unidad para la concentración de sustrato, y la unidad de tiempo es el segundo. La concentración de enzima se expresa entonces como katal por litro (kat/L). $1.0 \text{ UI} = 17 \text{ nkat}$.

Cuando las enzimas se cuantifican midiendo el aumento o disminución de NADH a 340 nm, la absorbividad molar ($6.22 \times 10^3 \text{ mol/L}$) de NADH se emplea para calcular la actividad enzimática.

Medición de la masa de enzima

También están disponibles las metodologías de inmunoensayo que cuantifican la concentración de enzima por masa, y se emplean de manera rutinaria para la cuantificación de algunas enzimas, como CK-MB. Los inmunoensayos pueden sobrestimar la enzima activa como un resultado de posible reactividad cruzada con enzimas inactivas, como zimógenos, isoenzimas inactivas, macroenzimas o enzima digerida en parte. La relación entre actividad enzimática y cantidad de enzima es por lo general lineal pero se debe determinar para cada enzima. Las enzimas se pueden determinar y cuantificar también por técnicas electroforéticas, que proveen resolución de isoenzimas e isoformas.

Asegurar la exactitud de las mediciones de enzimas ha sido por mucho tiempo una preocupación de los laboratoristas. La ley de 1988 de Enmiendas de Mejoramiento del Laboratorio Clínico (CLIA 88) ha establecido normas para

control de calidad y prueba de competencia para todos los laboratorios. Los problemas con materiales de control de calidad para prueba de enzimas han sido un tema importante. Las diferencias entre muestras clínicas y sueros de control incluyen especies de origen de la enzima, integridad de las especies moleculares, formas de isoenzimas, matriz de la disolución, adición de conservadores y proceso de liofilización. Se han realizado muchos estudios para asegurar mediciones exactas de enzimas y buenos materiales de control de calidad.⁴

Enzimas como reactivos

Las enzimas se pueden usar como reactivos para medir muchos constituyentes no enzimáticos en el suero. Por ejemplo, la glucosa, el colesterol y el ácido úrico se cuantifican con frecuencia por medio de reacciones enzimáticas, que miden la concentración del analito debido a la especificidad de la enzima. Las enzimas se emplean también como reactivos para métodos de cuantificación de analitos que son sustratos para las cuantificaciones enzimáticas correspondientes. Un ejemplo, la deshidrogenasa de lactato, puede ser un reactivo cuando se evalúan las concentraciones de lactato o piruvato. Para esta clase de métodos, la enzima se añade en exceso en una cantidad suficiente para proveer una reacción completa en un período corto.

Las *enzimas inmovilizadas* se enlazan químicamente a adsorbentes, como la agarosa o ciertos tipos de celulosa, mediante grupos azida, diazo y triacina. Las enzimas actúan como reactivos recuperables. Cuando se pasa el sustrato por la preparación, se recupera el producto y se analiza, y la enzima está presente y libre para reaccionar con más sustrato. Las enzimas inmovilizadas son convenientes para análisis por lotes y más estables que las enzimas en una disolución. Las enzimas se emplean también como reactivos en inmunoensayos competitivos y no competitivos, como los que se usan para medir anticuerpos de HIV, fármacos terapéuticos y antígenos de cáncer. Las enzimas de uso común son peroxidasa de rábano, fosfatasa alcalina, deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato y β -galactosidasa. La enzima en estos ensayos funciona como un indicador que refleja la presencia o ausencia del analito.

ENZIMAS DE IMPORTANCIA CLÍNICA

En el cuadro 10-2 se listan las enzimas analizadas comúnmente, incluso sus nombres sistemáticos e importancia clínica.

Cada enzima se analiza en este capítulo con respecto a fuente tisular, importancia diagnóstica, método de ensayo, fuente de error e intervalo de referencia.

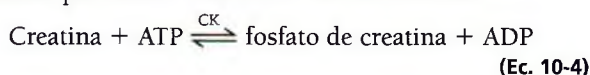
Cinasa de creatina

La cinasa de creatina (CK) es una enzima con un peso molecular de casi 82 000, que por lo general está relacionada con la regeneración de ATP en sistemas contráctiles o de transporte. Su función fisiológica predominante ocurre en las células de músculo, donde participa en el almacenaje de fosfato de creatina de alta energía. Todo ciclo de contracción del

CUADRO 10-2. ENZIMAS PRINCIPALES DE IMPORTANCIA CLÍNICA

ENZIMA	IMPORTANCIA CLÍNICA
Fosfatasa ácida (ACP)	Carcinoma prostático
Aminotransferasa de alanina (ALT)	Trastorno hepático
Fosfatasa alcalina (ALP)	Trastorno hepático Trastorno óseo
Amilasa (AMS)	Pancreatitis aguda
Aminotransferasa de aspartato (AST)	Infarto de miocardio Trastorno hepático Trastorno del músculo esquelético
Cinasa de creatina (CK)	Infarto de miocardio Trastorno del músculo esquelético
γ -Glutamyltransferasa (GGT)	Trastorno hepático
Deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato (G-6-PD)	Anemia hemolítica inducida por fármacos
Deshidrogenasa de lactato (LD)	Infarto de miocardio Trastorno hepático Carcinoma
Lipasa (LPS)	Pancreatitis aguda
Seudocolinesterasa (PChE)	Envenenamiento por organofosfato Variantes genéticas

músculo origina el uso de fosfato de creatina, con producción de ATP. Esto da como resultado concentraciones relativamente constantes de ATP de músculo. La reacción reversible catalizada por CK se muestra en la ecuación 10-4.



Fuente de tejido

La CK está distribuida de forma amplia en el tejido, con las actividades más altas halladas en el músculo esquelético, músculo cardíaco y tejido cerebral. La CK está presente en cantidades mucho más pequeñas en otras fuentes de tejido, como vejiga, placenta, tubo digestivo, tiroides, útero, riñón, pulmones, próstata, bazo, hígado y páncreas.

Importancia diagnóstica

Como resultado de las altas concentraciones de CK en el tejido muscular, las concentraciones de CK suelen elevarse en trastornos de músculo cardíaco y esquelético. Se considera que la concentración de CK es un indicador sensible de infarto de miocardio agudo (IMA) y distrofia muscular, en particular tipo Duchenne. Concentraciones notablemente altas de CK ocurren en la distrofia muscular tipo Duchenne, con valores que alcanzan 50 a 100 veces el límite superior normal (LSN). Aunque las concentraciones totales de CK son indicadores sensibles de estos trastornos, no lo son del todo específicos, ya que el aumento en la concentración de CK se halla en otras anomalías del músculo cardíaco y esquelético. Las concentraciones de CK varían también con la masa de músculo y, por tanto, pueden depender del género, raza, grado de acondicionamiento físico y edad.

Las concentraciones de CK altas se observan de forma ocasional en trastornos del sistema nervioso central como accidente cerebrovascular, convulsiones, degeneración nerviosa y choque del sistema nervioso central. El daño de la barrera hematoencefálica permite la liberación de enzima a la circulación periférica.

Otras condiciones fisiopatológicas en las que ocurren concentraciones altas de CK son hipotiroidismo, hiperpirexia maligna y síndrome de Reye. En el cuadro 10-3 se listan los principales trastornos relacionados con concentraciones anormales de CK. Las concentraciones de CK sérica y la relación CK/progesterona han sido útiles en el diagnóstico de embarazos ectópicos.⁵ Las concentraciones de CK sérica total se han empleado también como una herramienta de diagnóstico inicial para identificar pacientes con infecciones de *Vibrio vulnificus*.⁶

ESTUDIO DE CASO 10-1

Un hombre caucásico de 51 años de edad con sobrepeso visita a su médico familiar con dolencias de "indigestión" de cinco días de duración. También ha tenido ataques de sudoración, malestar general y cefalea. Su tensión arterial es de 140/105; sus antecedentes familiares incluyen un padre con diabetes que murió a la edad de 62 años de IMA secundario a diabetes mellitus. Un electrocardiograma reveló cambios de uno efectuado seis meses antes. Los resultados del análisis de la sangre del paciente son los siguientes:

CK	129 U/L	(30 A 60)
CK-MB	4%	(<6%)
LD	280 U/L	(100 a 225)
LD	Isoenzimas	LD-1>LD-2
AST	35 U/L	(5 a 30)

Preguntas

1. ¿Puede desecharse un diagnóstico de IMA en este paciente?
2. ¿Cuáles marcadores cardíacos adicionales pueden aplicarse en este paciente?
3. ¿Debe admitirse a este paciente en el hospital?

CUADRO 10-3. ISOENZIMAS DE CINASA DE CREATINA (LOCALIZACIÓN DEL TEJIDO Y FUENTES DE AUMENTO DE CONCENTRACIÓN)

ISOENZIMA	TEJIDO	CONDICIÓN
CK-MM	Corazón Músculo esquelético	Infarto de miocardio
		Trastorno del músculo esquelético
		Distrofia muscular
		Polimiositis
		Hipotiroidismo
		Hipertermia maligna
CK-MB	Corazón Músculo esquelético	Actividad física
		Inyección intramuscular
		Infarto de miocardio
		Lesión miocárdica
		Isquemia
		Angina
		Enfermedad cardíaca inflamatoria
		Cirugía cardíaca
		Distrofia muscular tipo Duchenne
		Polimiositis
		Hipertermia maligna
		Fiebre manchada de las Montañas Rocosas
		Fiebre exantemática
		Envenenamiento por monóxido de carbono
CK-BB	Cerebro	Choque del sistema nervioso central
	Vejiga	Encefalopatía anóxica
	Pulmón	Accidente cerebrovascular
	Próstata	Convulsión
	Útero	Traumatismo placentario o uterino
	Colon	Carcinoma
	Estómago	Síndrome de Reye
	Tiroides	Envenenamiento por monóxido de carbono
		Hipertermia maligna
		Insuficiencia renal aguda y crónica

Debido a que el aumento de la concentración de enzima se halla en numerosos trastornos, la separación de CK total en sus distintas fracciones de enzima se considera un indicador más específico de diversos trastornos que las concentraciones totales. Por lo general, la importancia clínica de la actividad de CK depende más del fraccionamiento de isoenzima que de concentraciones totales.

La CK aparece como un dímero que consta de dos subunidades que se separan con facilidad en tres formas moleculares distintas. Las tres isoenzimas han sido designadas como CK-BB (tipo cerebral), CK-MB (tipo híbrido) y CK-MM (tipo muscular). En la separación electroforética, la CK-BB migrará más rápido hacia el ánodo y, por tanto, se llama CK-1. La CK-BB va seguida de CK-MB (CK-2) y, por último, CK-MM (CK-3), que exhibe la movilidad más

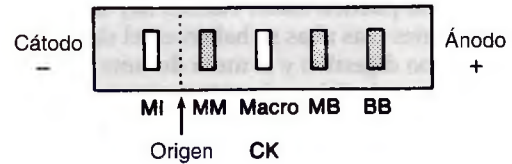


FIGURA 10-5. Patrón de migración electroforética de isoenzimas de CK normales y atípicas.

baja (fig. 10-5). En el cuadro 10-3 se indica la localización tisular de las isoenzimas y las condiciones principales relacionadas con concentraciones altas. La separación de isoformas de CK se puede ver también mediante separación electroforética de alto voltaje. Las isoformas aparecen después de la rotura del aminoácido c-terminal de la subunidad M por carboxipeptidasa N sérica. Se han descrito tres isoformas para CK-MM y dos isoformas para CK-MB; la importancia clínica no está bien establecida.

La isoenzima principal en el suero de personas saludables es la forma MM. Los valores para la isoenzima BB varían de indetectables a trazas (<6% de CK total). Al parecer la CK-BB está presente también en pequeñas cantidades en el suero de personas saludables; sin embargo, la presencia de CK-BB en el suero depende del método de detección. La mayor parte de las técnicas no detectan CK-BB en suero normal.

La CK-MM es la fracción de isoenzima principal hallada en músculo estriado y suero normal. El músculo esquelético contiene casi por completo CK-MM, con una pequeña cantidad de CK-MB. La mayor parte de la actividad de CK en el músculo cardíaco se atribuye también a CK-MM, con casi 20% que resulta de CK-MB.⁷ El suero normal consta de alrededor de 94 a 100% de CK-MM. La lesión del músculo cardíaco y esquelético representa la mayor parte de los casos de aumento en la concentración de CK-MM (cuadro 10-3). El hipotiroidismo produce aumento en la concentración de CK-MM debido a que tiene que ver el tejido muscular (mayor permeabilidad de la membrana), el efecto de la hormona tiroidea en la actividad enzimática y, posiblemente, el aclaramiento desacelerado de CK como resultado de metabolismo más lento.

La actividad leve a extenuante puede contribuir al aumento de las concentraciones de CK, como también las inyecciones intramusculares. En la actividad física, el grado de aumento es variable. Sin embargo, el grado de ejercicio en relación con la capacidad de ejercicio del individuo es el factor más importante para determinar el grado de incremento.⁸ Los pacientes con buena condición física muestran menos grados de aumento que los pacientes cuya condición física es deficiente. Las concentraciones pueden aumentar durante 48 horas después del ejercicio.

Por lo general, los incrementos de CK son menores que $5 \times \text{LSN}$ después de inyecciones intramusculares, y no son evidentes después de 48 horas, aunque podrían persistir durante una semana. La isoenzima predominante es CK-MM.

La cantidad de CK-BB en el tejido (cuadro 10-3) suele ser pequeña. La cantidad pequeña, junto con su vida media relativamente corta (1 a 5 h), da como resultado actividades de CK-BB que por lo general son bajas y transitorias, y por

lo común no se pueden medir cuando hay daño tisular. Las concentraciones más altas se hallan en el sistema nervioso central, el tubo digestivo y el útero durante el embarazo.

Aunque el tejido del cerebro tiene concentraciones altas de CK, el suero rara vez contiene CK-BB de origen cerebral. Debido a su tamaño molecular (80 000), su paso por la barrera hematoencefálica está impedido. Sin embargo, cuando ha ocurrido daño extenso en el cerebro, a veces se detectan cantidades importantes de CK-BB en el suero.

Se ha observado que la CK-BB puede estar en concentraciones significativamente altas en pacientes con carcinoma de varios órganos. Se ha hallado en relación con carcinoma prostático no tratado y otros adenocarcinomas. Estos hallazgos indican que la CK-BB puede ser un marcador útil en relación con tumores.⁹

Las causas más comunes de incrementos de CK-BB son daño del sistema nervioso central, tumores, parto y la presencia de CK macro, un complejo de enzima-inmunoglobulina. En la mayor parte de los casos, la concentración de CK-BB es mayor que 5 U/L, por lo general en el intervalo de 10 a 50 U/L. Otras condiciones listadas en el cuadro 10-3 muestran actividad de CK-BB abajo de 10 U/L.¹⁰

El valor de la separación de isoenzima CK se puede hallar sobre todo en la detección de daño de miocardio. El tejido cardíaco contiene cantidades significativas de CK-MB, casi 20% de toda la CK-MB. Mientras que la CK-MB se encuentra en pequeñas cantidades en otro tejido, el miocardio es en esencia el único tejido del que la CK-MB entra al suero en cantidades importantes. La demostración de concentraciones altas de CK-MB, mayores o iguales a 6% de la CK total, se considera un buen indicador de daño miocárdico, en particular IMA. Se ha encontrado que otras proteínas no enzimáticas, llamadas troponinas, son incluso más específicas y pueden tener una concentración alta en ausencia de concentraciones altas de CK-MB. Después del infarto de miocardio,

las concentraciones de CK-MB comienzan a subir dentro de 4 a 8 h, alcanzan el máximo en 12 a 24 h y vuelven a la normalidad dentro de 48 a 72 h. Este margen de tiempo se debe considerar al interpretar las concentraciones de CK-MB.

La actividad de la CK-MB ha sido observada en otros trastornos cardíacos (cuadro 10-3). Por tanto, las cantidades incrementadas no son del todo específicas para IMA sino que reflejan probablemente algún grado de daño cardíaco isquémico. La especificidad de las concentraciones de CK-MB en el diagnóstico de IMA se puede incrementar si se interpretan junto con isoenzimas de deshidrogenasa de lactato (LD) o troponinas, o ambas, y si se miden de forma secuencial durante un período de 48 h para detectar el aumento y disminución característicos de la actividad enzimática vista en el IMA (fig. 10-6).

La isoenzima MB también ha sido detectada en el suero de pacientes con trastornos no cardíacos. Las concentraciones de CK-MB halladas en estas condiciones es probable que representen filtración desde el músculo esquelético, aunque en la distrofia muscular tipo Duchenne puede haber también cierta intervención cardíaca. Las concentraciones de CK-MB en el síndrome de Reye también pueden reflejar daño miocárdico.

A pesar de los hallazgos de concentraciones de CK-MB en trastornos distintos al infarto de miocardio, su presencia aún es un indicador importante de IMA.¹¹ El curso de tiempo representativo de aumento en la concentración de CK-MB después del IMA no se encuentra en otras condiciones.

Las proteínas no enzimáticas (troponina I y T) han sido empleadas como un marcador más sensible y específico de daño miocárdico. Estas proteínas se liberan hacia el torrente sanguíneo antes y persisten durante más tiempo que la CK y su coenzima CK-MB. Más información sobre estos marcadores de proteína de IMA se encuentra en el capítulo 8, *Aminoácidos y proteínas*.

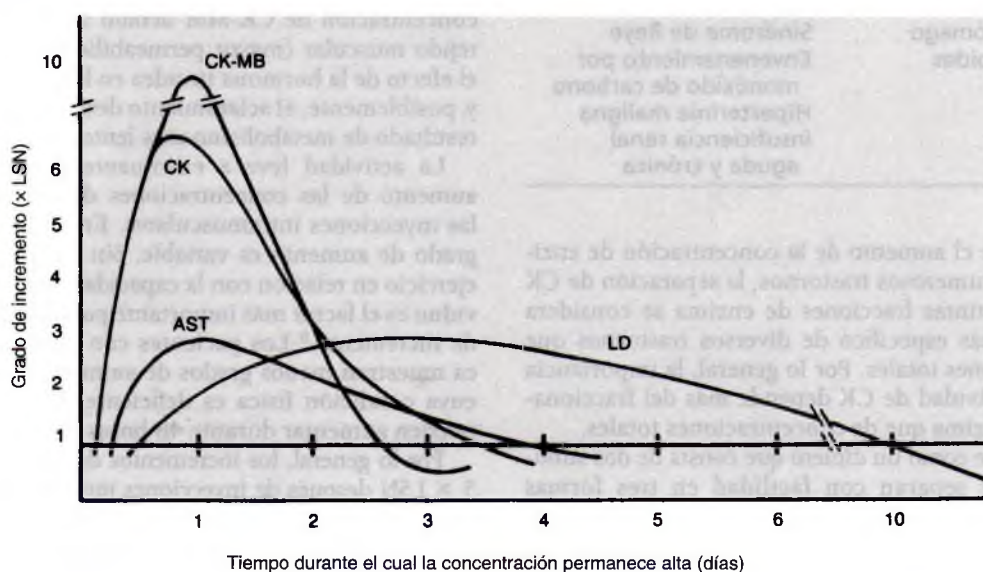


FIGURA 10-6. Curvas de actividad con el tiempo de enzimas en infarto de miocardio para AST, CK, CK-MB y LD. La CK, de manera específica la fracción MB, se incrementa al inicio, seguida de AST y LD. La LD es la que permanece incrementada por más tiempo. Todas las enzimas vuelven al nivel normal en 10 días.

Se han elaborado numerosos informes en donde se describe la presencia de bandas inusuales de isoenzima CK que muestran propiedades electroforéticas que difieren de las tres fracciones de isoenzima principales (fig. 10-5).¹²⁻¹⁶ Estas formas atípicas son por lo general de dos tipos y se conocen como CK macro y CK mitocondrial.

La CK macro al parecer migra a una posición media entre CK-MM y CK-MB. Este tipo de CK macro comprende en gran medida CK-BB acomplejada con inmunoglobulina. En muchos casos la inmunoglobulina relacionada es IgG, aunque también ha sido descrito un complejo con IgA. El término *CK macro* se ha empleado también para describir complejos de lipoproteínas con CK-MM.

La incidencia de CK macro en el suero varía de 0.8 a 1.6%. En la actualidad ningún trastorno específico se relaciona con su presencia, aunque parece estar relacionada con la edad y el género, y aparece con mayor frecuencia en mujeres mayores de 50 años.

La CK mitocondrial (CK-Mi) se une a la superficie exterior de las membranas mitocondriales internas del músculo, cerebro e hígado. Migra hasta un punto catódico a CK-MM y existe como una molécula dimérica de dos subunidades idénticas. Aparece en el suero en el estado dimérico y en la forma de agregados oligoméricos de alto peso molecular (350 000). La CK-Mi no está presente en el suero normal y por lo común tampoco después del infarto de miocardio. La incidencia de CK-Mi varía de 0.8 a 1.7%. Para que sea detectada en el suero, debe ocurrir daño tisular extenso, que causa descomposición de la mitocondria y la pared celular. Su presencia no tiene correlación con ningún estado morboso específico pero parece ser un indicador de enfermedad grave. La CK-Mi ha sido detectada en casos de tumor maligno y anormalidades cardíacas.

En vista de la correlación indefinida entre estas formas de CK atípicas y su estado morboso específico, parece que su importancia se relaciona sobre todo con los métodos primarios empleados para detectar CK-MB. En ciertos procedimientos analíticos, estas formas atípicas se pueden medir como CK-MB, que da como resultado concentraciones de CK-MB altas y erróneas.

Los métodos empleados para la medición de isoenzimas de CK son electroforesis; cromatografía de intercambio iónico, y varios inmunoensayos, incluso el radioinmunoensayo (RIA) y métodos de inmunoinhibición. Aunque los métodos de masa son más sensibles y preferidos para cuantificación de CK-MB, la electroforesis ha sido el método de referencia. Las propiedades electroforéticas de las isoenzimas de CK se muestran en la figura 10-5. Por lo general, la técnica consiste en realizar la electroforesis en la muestra, medir la reacción con una técnica de superposición y visualizar después las bandas bajo luz ultravioleta. Con la electroforesis, las bandas atípicas se pueden separar, lo que permite su detección aparte de tres bandas principales. Con frecuencia aparece una banda con fluorescencia intensa, que migra próxima a la forma CK-BB. Se desconoce la naturaleza exacta de esta fluorescencia, pero se ha atribuido a la unión de fármacos fluorescentes o bilirrubina mediante albúmina.

Además de ver bandas de CK atípicas, otras ventajas de los métodos de electroforesis son detectar una separación

insatisfactoria y permitir ver la cinasa de adenilato (AK). La AK es una enzima liberada de eritrocitos en muestras hemolizadas y aparece como una banda catódica a CK-MM. La AK puede interferir con métodos químicos o de inmunoinhibición, lo que causa un valor alto y falso de CK o CK-MB.

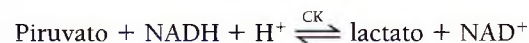
La cromatografía de intercambio iónico tiene el potencial para ser más sensible y precisa que los procedimientos electrónicos llevados a cabo con buena técnica. Sin embargo, en una columna no satisfactoria, la CK-MM se integra con la CK-MB y la CK-BB se puede eluir con CK-MB. También, la CK macro se puede eluir con CK-MB.

Los anticuerpos contra las subunidades M y B han sido usados para determinar la actividad de CK-MB. El anti-M inhibe toda la actividad de M pero no la actividad de B. La actividad de CK se mide antes y después de la inhibición. La actividad restante después de la inhibición de M es un resultado de la subunidad B de la actividad de MB y BB. La actividad residual después de la inhibición se multiplica por 2 para tomar en cuenta la actividad de MB (inhibida 50%). La desventaja principal de este método es que detecta actividad de BB, la cual, aunque no es detectable de manera normal, causará resultados de MB altos e incorrectos cuando está presente BB. Además, las formas atípicas de CK-Mi y CK macro no son inhibidas por anticuerpos anti-M y también podrían causar resultados erróneos para actividad de MB.

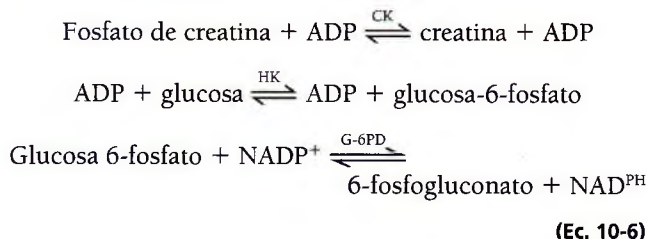
Con los inmunoensayos se detecta CK-MB de manera confiable con reactividad cruzada mínima. Los inmunoensayos miden la concentración de proteína de enzima en vez de actividad enzimática y, por tanto, pueden detectar CK-MB enzimáticamente inactiva. Esto lleva a la posibilidad de permitir la detección de infarto antes que otros métodos. Está disponible también un ensayo de inmuno-inhibición de anticuerpo doble. Esta técnica permite la diferenciación de actividad de MB debido a la cinasa de adenilato y las isoenzimas atípicas, y da como resultado un procedimiento analítico específico para CK-MB.¹⁷ Los sistemas de ensayo que se emplean en el lugar de la atención para CK-MB están disponibles pero su uso no es tan extendido como los que se emplean para troponinas.

Actividad enzimática de ensayo

Como se indica en la ecuación 10-4, la CK cataliza las reacciones directa e inversa que conllevan la fosforilación de creatina o ADP. Por lo general, en el caso de análisis de actividad de CK, esta reacción va acoplada con otros sistemas enzimáticos y se determina un cambio de absorbancia a 340 nm. La reacción directa va acoplada con el sistema cinasa de piruvato-deshidrogenasa de lactato-NADH y procede de acuerdo con la ecuación 10-5:



La reacción inversa va acoplada con el sistema hexocinasa-glucosa-6-fosfato deshidrogenasa-NADP, como se indica en la ecuación 10-6:



La reacción inversa propuesta por Oliver y modificada por Rosalki es el método más común en el laboratorio clínico.¹³ La reacción procede 2 a 6 veces más rápido que la reacción directa, lo que depende de las condiciones del ensayo, y hay menos interferencia de reacciones laterales. El pH óptimo para la reacción inversa es 6.8; para la reacción directa es 9.0.

La actividad de CK en suero es inestable, y es desactivada con rapidez debido a la oxidación de grupos sulfhidrilo. La desactivación se puede revertir de forma parcial mediante la adición de compuestos sulfhidrilo al reactivo de ensayo. Entre los compuestos utilizados están *N*-acetilcisteína, mercaptoetanol, tioglicerol y ditioneitol.

Fuente de error

La hemólisis de muestras de suero puede ser una fuente importante de actividad de CK alta. Los eritrocitos están virtualmente desprovistos de CK; sin embargo, tienen mucha actividad de AK. La AK reacciona con ADP para producir ATP, que entonces está disponible para participar en la reacción de ensayo, y causa que se eleven de manera falsa las concentraciones de CK. Esta interferencia puede ocurrir con hemólisis de más de 320 mg/L de hemoglobina, que libera suficiente AK para agotar los inhibidores de AK en el reactivo. La hemólisis de trazas causa poco aumento, si es que hay, en la concentración de CK. El suero se debe almacenar en un lugar oscuro porque la luz del día inactiva a la CK. La actividad se puede restablecer después del almacenaje en la oscuridad a 4°C durante 7 días o a -20°C durante 1 mes cuando el ensayo se realiza con un activador sulfhidrilo.¹⁸ Como resultado de la actividad muscular y la masa del músculo en las concentraciones de CK, se debe observar que las personas que están físicamente bien entrenadas tienden a tener concentraciones base altas, y que los pacientes encamados por largos períodos pueden tener actividad de CK reducida.

Intervalo de referencia

CK total:

Varón, 15 a 160 U/L (37°C)

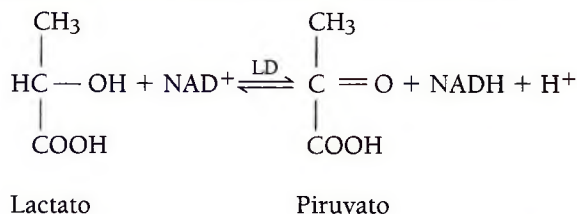
Mujer, 15 a 130 U/L (37°C)

CK-MB: <6% de CK total

Los valores superiores en varones se atribuyen a mayor masa muscular. Note que los intervalos de referencia de enzimas están sujetos a variación, lo que depende del método empleado y las condiciones del ensayo.

Deshidrogenasa de lactato

La deshidrogenasa de lactato (LD) es una enzima que cataliza la interconversión de ácidos láctico y pirúvico. Es una enzima de transferencia de hidrógeno que utiliza la coenzima NAD⁺ de acuerdo con la ecuación 10-7:



(Ec. 10-7)

Fuente de tejido

La LD está distribuida de manera extensa en el cuerpo. Las actividades altas se encuentran en el corazón, hígado, músculo esquelético, riñón y eritrocitos; cantidades menores se encuentran en los pulmones, músculo liso y cerebro.

Importancia diagnóstica

Debido a su actividad extendida en numerosos tejidos del cuerpo, la concentración de LD es alta en diversos trastornos. Las concentraciones altas se encuentran en enfermedades cardíacas, hepáticas, del músculo esquelético, y renales, así como en varios trastornos hematológicos y neoplásicos. Las concentraciones más altas de LD total se observan en la anemia perniciosa y trastornos hemolíticos. La destrucción intramedular de eritoblastos causa incremento como resultado de la alta concentración de LD en eritrocitos. Los trastornos hepáticos, como la hepatitis viral y la cirrosis, muestran incrementos ligeros de dos a tres veces el LSN. El IMA y el infarto pulmonar también muestran aumentos de casi el mismo grado (2 a 3 × LSN). En el IMA, las concentraciones de LD comienzan a aumentar dentro de 12 a 24 h, alcanzan el máximo en 48 a 72 h y permanecen altas durante 10 días. Los trastornos del músculo esquelético y algunas leucemias contribuyen al aumento de las concentraciones de LD. Incrementos notables se observan en particular en la mayor parte de pacientes con leucemia linfoblástica aguda.

Debido a las muchas condiciones que contribuyen a la actividad incrementada, un valor de LD total alto es un hallazgo bastante inespecífico. Por tanto, los ensayos de LD presuponen más importancia clínica cuando se separa en fracciones de isoenzima. La enzima se puede separar en cinco fracciones principales, y cada una comprende cuatro subunidades. Tiene un peso molecular de 128 000 daltons. Cada isoenzima comprende cuatro cadenas polipeptídicas con un peso molecular de 32 000 daltons cada una. Dos cadenas polipeptídicas distintas, designadas H (corazón) y M (músculo), se combinan en cinco configuraciones para producir las cinco fracciones de isoenzima principales.

En el cuadro 10-4 se indica la localización tisular de las isoenzimas de LD y los trastornos principales relacionados con concentraciones altas. La LD-1 migra con más rapidez hacia el ánodo, seguida en secuencia por otras fracciones. La LD-5 es la más lenta para migrar.

CUADRO 10-4. ISOENZIMAS DE DESHIDROGENASA DE LACTATO (LOCALIZACIÓN TISULAR Y FUENTES DE INCREMENTO DE LA CONCENTRACIÓN)

ISOENZIMA	TEJIDO	TRASTORNO
LD-1 (HHHH) y LD-2 (HHHM)	Corazón Eritrocitos Corteza renal	Infarto de miocardio Anemia hemolítica Anemia megaloblástica Infarto renal agudo Muestra de hemolizado
LD-3 (HHMM)	Pulmón Linfocitos Bazo Páncreas	Embolismo pulmonar Neumonía pulmonar extensa Linfocitosis Pancreatitis aguda Carcinoma
LD-4 (HMMM) y LD-5(MMMM)	Hígado Músculo esquelético	Lesión hepática o inflamación Lesión del músculo esquelético

En el suero de individuos saludables, la fracción de isoenzima principal es LD-2, seguida de LD-1, LD-3, LD-4 y LD-5 (para los intervalos de isoenzimas, véase el cuadro 10-5). La LD-1 y la LD-2 están presentes en casi el mismo grado en los tejidos listados en el cuadro 10-4. Sin embargo, el tejido cardíaco y los eritrocitos contienen una mayor concentración de LD-1. Por tanto, en condiciones relacionadas con necrosis cardíaca (IMA) y hemólisis intravascular, las concentraciones séricas de LD-1 se incrementarán hasta un punto en el que están presentes en mayor concentración que LD-2, condición que se conoce como *patrón de LD descontrolado* (LD-1 > LD-2).¹⁹ Este patrón descontrolado es alusivo a IMA. Sin embargo, la LD no es específica para tejido cardíaco y no es un marcador preferido de diagnóstico de IMA. Las relaciones LD-1/LD-2 mayores que 1 se pueden observar también en muestras de suero hemolizadas.²⁰ El incremento en las concentraciones de LD-3 ocurren con más frecuencia en afectación pulmonar y se observan también en pacientes con varios carcinomas. Las isoenzimas LD-4 y LD-5 se encuentran sobre todo en el hígado y tejido de músculo esquelético, con una fracción de LD-5 predominante en estos tejidos. Las concentraciones de LD-5 tienen mayor importancia clínica en la detección de trastornos hepáticos, en particular trastornos intrahepáticos. Los trastornos del músculo esquelético revelarán concentraciones altas de LD-5, como se ilustra en distrofias musculares.

Se ha identificado una sexta isoenzima de LD, que migra catódica respecto a LD-5.²¹⁻²³ La LD-6 es deshidrogenasa de alcohol. En estudios de suministro de datos, la

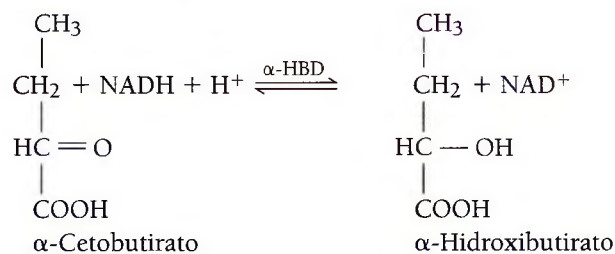
CUADRO 10-5. ISOENZIMAS DE LD COMO UN PORCENTAJE DE LD TOTAL¹⁹

ISOENZIMA	%
LD-1	14–26
LD-2	29–39
LD-3	20–26
LD-4	8–16
LD-5	6–16

LD-6 ha estado presente en pacientes con insuficiencia cardiovascular arteriosclerótica. Se cree que su presencia significa un pronóstico grave y muerte inminente. La LD-5 se incrementa al mismo tiempo con la aparición de LD-6, lo que es probable que represente congestión hepática debido a enfermedad cardiovascular. Se sugiere, por tanto, que la LD-6 podría reflejar lesión hepática secundaria a insuficiencia circulatoria grave.

Se ha mostrado que la LD forma complejos con inmunoglobulinas y revela bandas atípicas en la electroforesis. La LD se acompleja con IgA e IgG, y por lo regular migra entre LD-3 y LD-4. Este complejo macromolecular no se relaciona con ninguna anormalidad clínica específica.

El análisis de isoenzimas de LD se puede llevar a cabo mediante electroforesis, por inmunoinhibición de métodos de inhibición química, o por diferencias en afinidad de sustrato. Debido a la utilidad clínica limitada, este tipo de pruebas no es de uso común. El procedimiento electroforético ha sido utilizado de modo extenso desde hace mucho tiempo. Después de la separación electroforética, las isoenzimas se detectan ya sea de forma fluorométrica o colorimétrica. La LD puede usar otras sustancias además de lactato; por ejemplo, α -hidroxibutirato. Las subunidades H tienen una mayor afinidad para el α -hidroxibutirato que para las subunidades M. Esto ha conducido al uso de este sustrato en un intento por medir la actividad de LD-1, que consiste por completo en subunidades H. El ensayo químico, conocido como la medición de la actividad de deshidrogenasa de α -hidroxibutirato (α -HBD), se describe en la ecuación 10-8.



(Ec. 10-8)

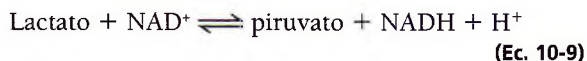
La α -HBD no es una enzima separada y distinta pero se considera que representa la actividad de LD-1 de LD total. Sin embargo, la actividad de α -HBD no es del todo específica para la fracción LD-1 porque LD-2, LD-3 y LD-4 contienen distintas cantidades de la subunidad H. La actividad

de HBD se incrementa en condiciones en las que se incrementan las fracción LD-1 y LD-2.

La LD se emplea por lo común para medir ácidos láctico y pirúvico o como una reacción acoplada.

Ensayo para actividad enzimática

La LD cataliza la interconversión de ácidos láctico y pirúvico con la coenzima NAD⁺. La secuencia de reacción se describe en la ecuación 10-9:



La reacción puede proceder ya sea en dirección directa (lactato [L]) o inversa (piruvato [P]). Ambas reacciones han sido usadas en ensayos clínicos. La velocidad de la reacción inversa es casi tres veces más rápida, lo que permite volúmenes de muestra más pequeños y tiempos de reacción más cortos. Sin embargo, la reacción inversa es más susceptible al agotamiento de sustrato y pérdida de linealidad. El pH óptimo para la reacción directa es 8.3 a 8.9; para la reacción inversa es 7.1 a 7.4.

Fuente de error

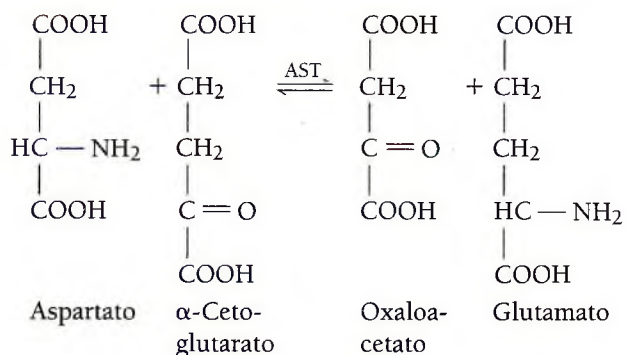
Los eritrocitos contienen una concentración de LD de casi 100 a 150 veces que se halla en el suero. Por tanto, cualquier grado de hemólisis debe volver inaceptable una muestra para análisis. La actividad de LD es inestable en suero sin importar la temperatura a la que se almacenó. Si la muestra no se puede analizar de inmediato, se debe almacenar a 25°C y analizar dentro de 48 horas. La LD-5 es la isoenzima más lábil. La pérdida de actividad ocurre con más rapidez a 4°C que a 25°C. Las muestras de suero para el análisis de la isoenzima LD se deben almacenar a 25°C a analizar dentro de 24 horas de la recolección.

Intervalo de referencia

LD, 100 a 225 U/L (37°C).

Aminotransferasa de aspartato

La aminotransferasa de aspartato (AST) es una enzima que pertenece a la clase de *transferasas*. Suele conocerse como *transaminasa* e interviene en la transferencia de un grupo amino entre aspartato y α -cetoácidos. La terminología más antigua, *transaminasa glutámica-oxaloacética sérica* (SGOT o GOT), también se puede usar. El fosfato de piridoxal funciona como una coenzima. La reacción procede de acuerdo con la ecuación 10-10:



(Ec. 10-10)

La reacción de transaminación es importante en el metabolismo intermediario como resultado de su función en la síntesis y degradación de aminoácidos. Los cetoácidos que se forman en la reacción son oxidados en última instancia por el ciclo del ácido tricarboxílico para proveer una fuente de energía.

Fuente de tejido

La AST está distribuida de manera extensa en el tejido humano. Las concentraciones más altas se encuentran en el tejido cardíaco, hígado y músculo esquelético, con cantidades más pequeñas halladas en el riñón, páncreas y eritrocitos.

Importancia diagnóstica

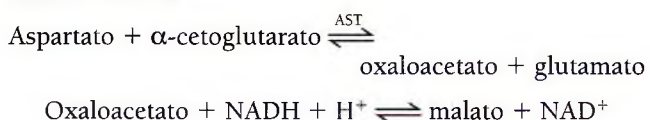
El uso clínico de AST se limita sobre todo a la evaluación de trastornos hepatocelulares y participación del músculo esquelético. En el IMA, las concentraciones de AST comienzan a subir dentro de 6 a 8 h, alcanzan el máximo en 24 h y, por lo regular, regresan al nivel normal en 5 días. Sin embargo, debido a la amplia distribución de tejido, las concentraciones de AST no son útiles en el diagnóstico de IMA.

Las concentraciones altas de AST se encuentran con frecuencia en embolismo pulmonar. Después de la insuficiencia cardíaca congestiva, las concentraciones de AST se pueden incrementar también, lo que es probable que refleje participación hepática como resultado de suministro sanguíneo inadecuado a ese órgano. Las concentraciones de AST son más altas en los trastornos hepatocelulares agudos. En la hepatitis viral, las concentraciones pueden alcanzar 100 veces el LSN. En la cirrosis, se detectan sólo concentraciones moderadas —alrededor de cuatro veces el LSN— (véase el capítulo 22, *Función hepática*). Los trastornos del músculo esquelético, como las distrofias musculares, y condiciones inflamatorias también causan incrementos en las concentraciones de AST (4 a 8 \times LSN).

La AST existe como dos fracciones de isoenzima localizadas en el citoplasma y mitocondrias de la célula. La concentración intracelular de AST puede ser 7000 veces mayor que la concentración extracelular. La isoenzima citoplásmica es la forma predominante que aparece en el suero. En los trastornos que producen necrosis celular, como la cirrosis hepática, la forma mitocondrial se puede incrementar de forma significativa. El análisis de isoenzima de AST no se lleva a cabo de manera rutinaria en el laboratorio clínico.

Ensayo para actividad enzimática

Los métodos de ensayo para AST se basan por lo general en el principio del método de Karmen, que incorpora una reacción enzimática acoplada con deshidrogenasa de malato (MD) como la reacción de indicador, y monitorea el cambio de absorbancia a 340 nm de modo continuo cuando el NADH se oxida a NAD⁺ (ec. 10-11). El pH óptimo es 7.3 a 7.8.



(Ec. 10-11)

Fuente de error

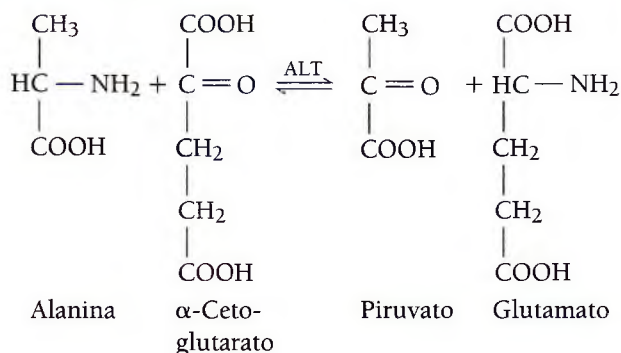
La hemólisis se debe evitar porque puede incrementar de manera decisiva la concentración de AST sérica. La actividad de AST es estable en el suero durante 3 a 4 días a temperaturas refrigeradas.

Intervalo de referencia

AST, 5 a 30 U/L (37°C).

Aminotransferasa de alanina

La aminotransferasa de alanina (ALT) es una transferasa con actividad enzimática similar a AST. De manera específica, cataliza la transferencia de un grupo amino de alanina a α -cetoglutarato con la formación de glutamato y piruvato. La terminología más antigua era *transaminasa glutámica-pirúvica sérica* (SGPT o GPT). La ecuación 10-12 indica la reacción de transferasa. El fosfato de piridoxal actúa como la coenzima.



(Ec. 10-12)

Fuente de tejido

La ALT está distribuida en muchos tejidos, con concentraciones comparativamente altas en el hígado. Se considera que es la enzima hepatoespecífica de las transferasas.

Importancia diagnóstica

Las aplicaciones clínicas de los ensayos de ALT están confinadas sobre todo a evaluación de trastornos hepáticos. En trastornos hepatocelulares se hallan concentraciones mayores que en trastornos obstructivos extrahepáticos o intrahepáticos. En condiciones inflamatorias agudas del hígado, las concentraciones de ALT son con frecuencia mayores que las de AST y tienden a permanecer elevadas durante más tiempo como resultado de la vida media más larga de la ALT en suero (16 y 24 h, respectivamente).

El tejido cardíaco contiene una pequeña cantidad de actividad de ALT, pero la concentración sérica permanece normal en el IMA a menos que haya ocurrido daño hepático posterior. Las concentraciones de ALT han sido comparadas históricamente con las concentraciones de AST para ayudar a determinar la fuente de una concentración de AST alta y detectar la participación concurrente con lesión miocárdica.

Ensayo para actividad enzimática

El procedimiento de ensayo característico para ALT consiste en una reacción enzimática acoplada con LD como la enzima indicadora, que cataliza la reducción de piruvato a lactato con oxidación simultánea de NADH. El cambio de absorbancia a 340 nm medido de manera continua es directamente proporcional a la actividad de ALT. La reacción procede de acuerdo con la ecuación 10-3. El pH óptimo es 7.3 a 7.8.



(Ec. 10-13)

Fuente de error

La ALT es estable durante 3 a 4 días a 4°C. Casi no la afecta la hemólisis.

Intervalo de referencia

ALT, 6 a 37 U/L (37°C).

ESTUDIO DE CASO 10-2

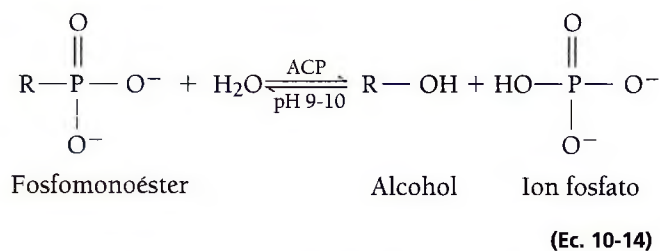
Mientras caminaba a casa una anciana de 71 años desde un centro comercial, se desvanece y cae. Una amiga la lleva a casa. Allí, se percata que sangra de la boca y está ligeramente desorientada. Al parecer se hirió al caer, pero no recuerda haber tropezado o caído. La mujer es llevada al departamento de urgencias local. El médico que la examina determina que hubo pérdida de la conciencia; para determinar la razón, el médico ordena una CT de la cabeza y un ECG y las siguientes pruebas de laboratorio: CBC, PT, APTT, CK, LD, AST y troponina T e I. Todas las pruebas están dentro de los límites normales. A la mujer se le suturan las lesiones de la boca y es admitida en una unidad de observación de 24 h.

Preguntas

1. ¿Qué posibles diagnósticos considera el médico?
2. ¿Qué pruebas de laboratorio serían elevadas a 6, 12 y 24 h si la paciente hubiera sufrido un IMA?
3. ¿Qué pruebas de isoenzima serían útiles con esta paciente?

Fosfatasa alcalina

La fosfatasa alcalina (ALP) pertenece a un grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de varios fosfomonoésteres a un pH alcalino. En consecuencia, la ALP es una enzima no específica capaz de reaccionar con muchos sustratos distintos. De manera específica, la ALP funciona para liberar fosfato inorgánico de un éster de fosfato orgánico con la producción concomitante de un alcohol. La reacción procede de acuerdo con la ecuación 10-14:



El pH óptimo para la reacción es 9.0 a 10.0, pero el pH óptimo varía con el sustrato empleado. La enzima requiere Mg^+ como activador.

Fuente de tejido

La actividad de la ALP se presenta en superficies celulares en la mayor parte del tejido humano. Las concentraciones más altas se encuentran en el intestino, hígado, huesos, bazo, placenta y riñón. En el hígado, la enzima se localiza en membranas canaliculares sinusoidales y biliares; la actividad en el hueso está confinada a los osteoblastos, las células que intervienen en la producción de matriz ósea. La localización específica de la enzima dentro de este tejido explica las concentraciones más predominantes en ciertos trastornos.

Importancia diagnóstica

Los incrementos de ALP tienen una gran importancia diagnóstica en la evaluación de trastornos hepatobiliares y óseos. En los trastornos hepatobiliares, los incrementos son más predominantes en condiciones obstructivas que en trastornos hepatocelulares; en trastornos óseos, los incrementos se observan cuando intervienen osteoblastos.

En la obstrucción tractobiliar, las concentraciones de ALP abarcan tres a 10 veces el límite superior normal (LSN). Los incrementos son sobre todo un resultado de la síntesis acrecentada de la enzima inducida por colestasis. En contraste, los trastornos hepatocelulares, como la hepatitis y cirrosis, muestran sólo incrementos ligeros, por lo general menores que tres veces el LSN. Como resultado del grado de traslape de los incrementos de ALP que ocurre en varios trastornos hepáticos, se dificulta interpretar una sola concentración alta de ALP. Adopta más importancia diagnóstica cuando se evalúa junto con otras pruebas de función hepática (véase el capítulo 22, *Función hepática*).

Las concentraciones altas de ALP se presentan en varios trastornos óseos. Quizá los incrementos mayores de actividad de ALP ocurren en la enfermedad de Paget (osteítis deformante). Otros trastornos óseos son osteomalacia, raquitismo, hiperparatiroidismo y sarcoma osteogénico.

Además, las concentraciones altas se observan en fracturas óseas en recuperación y durante períodos de crecimiento óseo fisiológico.

En el embarazo normal, la mayor actividad de ALP, que en promedio es casi una y media veces el LSN, se puede detectar entre las semanas 16 y 20. La actividad vuelve a la normalidad en 3 a 6 días.²⁴ Los incrementos se observan en complicaciones del embarazo como hipertensión, preeclampsia y eclampsia, así como en amenaza de aborto.

Las concentraciones de ALP disminuyen de forma importante en la condición heredada de hipofosfatasa. La actividad subnormal es un resultado de la ausencia isoenzima ósea y produce calcificación ósea inadecuada.

La ALP existe como una cantidad de isoenzimas, que han sido estudiadas mediante diversas técnicas. Las isoenzimas principales, que se encuentran en el suero y han sido estudiadas de manera extensa, son las derivadas del hígado, hueso, intestino y placenta.²⁵

La electroforesis es considerada la técnica simple más útil para el análisis de isoenzima ALP. Sin embargo, debido a que puede haber aún cierto grado de traslape entre las fracciones, la electroforesis en combinación con otra técnica de separación puede proveer la información más confiable. En la actualidad está disponible un método inmunoquímico directo para la medición de la ALP relacionada con el hueso; esto en muchos casos ha hecho innecesaria la electroforesis de ALP.

La fracción hepática es la que migra más rápido, seguida por la del hueso, placenta y fracciones intestinales. Como resultado de la similitud entre las fosfatasas hepática y ósea, con frecuencia no hay una separación clara entre ellas. La cuantificación mediante un densitómetro resulta difícil a veces debido al traslape entre los dos picos. La isoenzima hepática se puede dividir en dos fracciones, la banda hepática principal y una fracción más pequeña llamada *hígado rápido* o *hígado α_1* , que migra anodal a la banda principal y corresponde a la fracción α_1 de electroforesis de proteínas. Cuando se incrementan las concentraciones de ALP total, la fracción hepática es la que aumenta con más frecuencia. Muchas condiciones hepatobiliares causan incrementos de esta fracción, por lo general al inicio en el curso de la enfermedad. La fracción *hígado rápido* ha sido determinada en carcinoma metastático del hígado, así como en otras enfermedades hepatobiliares. Su presencia es considerada como un indicador valioso de enfermedad hepática obstructiva. Sin embargo, se presenta en forma ocasional en ausencia de algún estado morboso detectable.

La isoenzima ósea se incrementa debido a actividad osteoblástica y, por lo general, se incrementa en los niños durante períodos de crecimiento y en adultos mayores de 50 años. En estos casos, una concentración alta de ALP podría ser difícil de interpretar.²⁶

La presencia de isoenzima de ALP intestinal en el suero depende del grupo sanguíneo y el estado secretor del individuo. Los individuos que tienen grupo sanguíneo B u O y son secretores tienen más probabilidades de tener esta fracción. En apariencia, los eritrocitos del grupo A se unen con la ALP intestinal. Además, en estos individuos, los incrementos de ALP intestinal ocurren después

de consumir una comida grasosa. La ALP intestinal puede aumentar en distintos trastornos, como las enfermedades del tubo digestivo y cirrosis. Las concentraciones altas se hallan también en pacientes que experimentan hemodiálisis crónica.

La diferencia de estabilidad térmica es la base de un segundo método empleado para identificar la fuente de isoenzima de una ALP de alta concentración. Por lo general, la actividad de ALP se mide antes y después de calentar el suero a 56°C durante 10 min. Si la actividad residual después del calentamiento es menor que 20% de la actividad total antes del calentamiento, entonces se supone que el incremento de ALP es un resultado de la fosfatasa ósea. Si permanece más de 20% de la actividad, el incremento es probable que sea resultado de la fosfatasa hepática. Estos resultados se basan en el hallazgo de que la ALP placentaria es la más estable al calor de las cuatro fracciones principales, seguida de las fracciones intestinal, hepática y ósea en orden de estabilidad térmica. La ALP placentaria resistirá la desnaturalización térmica a 65° durante 30 minutos.

La desactivación térmica es un método impreciso para diferenciación porque la desactivación depende de muchos factores, como el control correcto de temperatura, tiempo y métodos analíticos con la sensibilidad suficiente para detectar pequeñas cantidades de actividad residual de ALP. Además, hay cierto grado de traslape entre la desactivación térmica de las fracciones hepática y ósea tanto en enfermedades hepáticas como óseas.

Un tercer método de identificación de las isoenzimas de ALP se basa en la inhibición química selectiva. La fenilalanina es uno de varios inhibidores que han sido utilizados. La fenilalanina inhibe la ALP intestinal y placentaria a un grado mucho mayor que la ALP hepática y ósea. Sin embargo, con el uso de fenilalanina es imposible diferenciar la ALP placentaria de la intestinal o la ALP hepática de la ósea.

Además de las cuatro fracciones principales de isoenzima de ALP, ciertas fracciones anormales se relacionan con neoplasmas. Las que se observan con más frecuencia son las isoenzimas de Regan y Nagao. Éstas se denominan *fosfatasas alcalinas carcinoplacentarias* debido a sus similitudes con la isoenzima placentaria. La frecuencia de intervalos de aparición varía de 3 a 5% en pacientes con cáncer. La isoenzima de Regan ha sido caracterizada como un ejemplo de una producción ectópica de una enzima por tejido maligno. Ha sido detectada en varios carcinomas; por ejemplo, de pulmón, mama, ovario y colon, con las incidencias más altas en cánceres de ovario y ginecológicos. Como resultado de su baja incidencia en pacientes con cáncer, el diagnóstico de malignidad rara vez se basa en su presencia. Sin embargo, es útil en el monitoreo de los efectos del tratamiento porque desaparecerá si el tratamiento resulta exitoso.

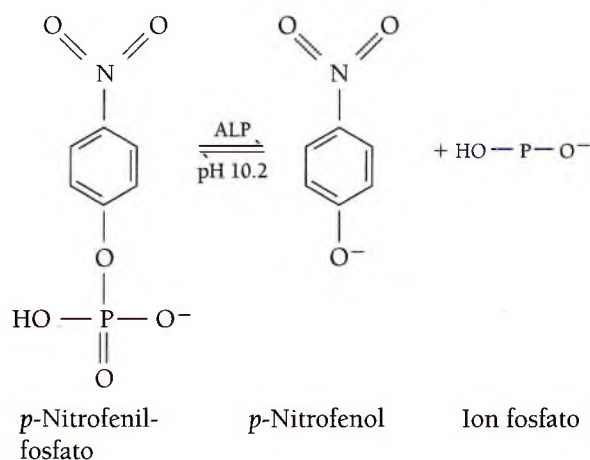
La isoenzima de Regan migra a la misma posición que la fracción ósea y es la más estable al calor de todas las isoenzimas de ALP. Resiste la desnaturalización a 65°C durante 30 minutos. La fenilalanina inhibe su actividad.

La isoenzima de Nagao puede ser considerada una variante de la isoenzima de Regan. Sus propiedades electroforéticas, estabilidad térmica e inhibición por fenilalanina

son idénticas a las de la fracción de Regan. Sin embargo, la leucina inhibe también a la isoenzima de Nagao. Su presencia ha sido detectada en carcinoma metastático de superficies pleurales, y en adenocarcinoma del páncreas y el ducto biliar.

Ensayo para actividad enzimática

Como resultado de la no especificidad relativa de la ALP en relación con sustratos, ha sido propuesta una diversidad de metodologías para su análisis, y en la actualidad aún no están en uso. Las diferencias principales entre éstas se relacionan con la concentración y los tipos de sustrato y disolución amortiguadora empleados y el pH de la reacción. Una técnica de monitoreo continua basada en un método diseñado por Bowers y McComb permite calcular la actividad de ALP con base en la absorptividad molar de *p*-nitrofenol. La reacción procede de acuerdo con la ecuación 10-15:



(Ec. 10-15)

El *p*-nitrofenilfosfato (incolore) se hidroliza a *p*-nitrofenol (amarillo) y se mide el incremento de absorbancia a 405 nm, que es directamente proporcional a la actividad de ALP.

Fuente de error

La hemólisis puede causar ligeros incrementos porque la ALP está concentrada alrededor de seis veces más en los eritrocitos que en el suero. Los ensayos de ALP se deben ejecutar lo más pronto posible después de la recolección. La actividad en suero se incrementa casi 3 a 10% si se mantiene a 25 o 4°C durante varias horas. La dieta puede inducir incrementos en la actividad de ALP de individuos del grupo sanguíneo B u O que son secretores. Los valores pueden ser 25% más altos después de la ingestión de una comida con alto contenido de grasa.

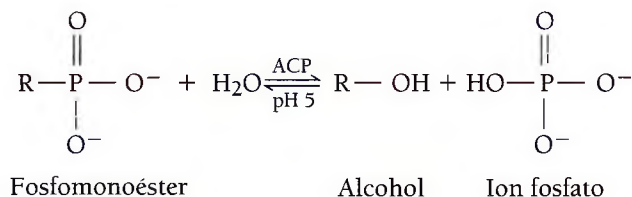
Intervalo de referencia

ALP, 30 a 90 U/L (30°C).

Fosfatasa ácida

La fosfatasa ácida (ACP) pertenece al mismo grupo de enzimas de fosfatasa que la ALP y es una *hidrolasa* que

cataliza el mismo tipo de reacciones. La diferencia principal entre ACP y ALP es el pH de la reacción. La ACP funciona a un pH óptimo de alrededor de 5.0. En la ecuación 10-16 se describe la secuencia de reacción:



(Ec. 10-16)

Fuente de tejido

La actividad de ACP se halla en la próstata, hueso, hígado, bazo, riñón, eritrocitos y plaquetas. La próstata es la fuente más rica, con muchas veces la actividad hallada en otro tejido.

Importancia diagnóstica

Desde hace tiempo, la medición de ACP se ha empleado como auxiliar en la detección de carcinoma prostático, en particular carcinoma metastático de la próstata. Las determinaciones de ACP total son técnicas relativamente insensibles, que permiten detectar concentraciones altas de ACP que resultan de carcinoma prostático en la mayor parte de los casos sólo cuando el tumor es metastático. Los marcadores más recientes, como el antígeno específico de próstata (PSA), son las herramientas de detección y diagnóstico más útiles (véase el capítulo 30, *Marcadores tumorales en circulación*).

Uno de los sustratos más específicos para ACP prostático es el monofosfato de timolfaleína. Los métodos de inhibición química empleados para diferenciar la porción prostática emplean tartrato como inhibidor. El tartrato inhibe la fracción prostática. El suero y el sustrato se incuban con y sin la adición de L-tartrato. La actividad de ACP que permanece después de la inhibición con L-tartrato se resta de la actividad de ACP total determinada sin inhibición, y la diferencia representa la porción prostática:

$$\text{ACP total} - \text{ACP después de la inhibición con tartrato} = \text{ACP prostática} \quad (\text{Ec. 10-17})$$

La reacción no es del todo específica para ACP prostática, pero otras fuentes de tejido están desinhibidas en gran medida.

Ninguno de estos métodos de determinación de ACP es sensible a carcinoma prostático que no se encuentre metastático. Por lo general, los valores son normales en la mayor parte de los casos y, de hecho, pueden ser altos sólo en 50% de los casos de carcinoma prostático que están metastáticos.

Una técnica con mucha más sensibilidad sobre los ensayos de ACP ordinarios es el método inmunológico con anticuerpos que son específicos para la porción prostática. Sin embargo, las técnicas inmunoquímicas no son de valor como pruebas de detección para carcinoma prostático.

El PSA tiene más probabilidades que la ACP de permanecer en una concentración alta en cada etapa de

carcinoma prostático, aun cuando se puede hallar una concentración normal de PSA en tumores de etapa D. El PSA es en particular útil para monitorear el éxito del tratamiento; sin embargo, el PSA es controversial como prueba de detección para malignidad prostática porque el incremento de PSA puede ocurrir en condiciones distintas a las del carcinoma prostático, como hipertrofia prostática benigna y prostatitis.²⁷⁻²⁹

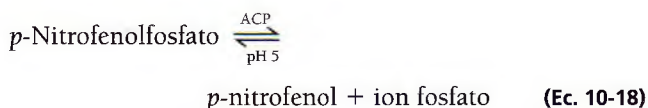
Otras condiciones prostáticas en las que se han hallado incrementos de ACP son la hiperplasia de la próstata y la cirugía prostática. Hay informes contradictorios de incrementos después del examen rectal y masaje de la próstata. En ciertos estudios se han descrito concentraciones altas de ACP, y en otros no se ha hallado cambio detectable. Cuando se hallan incrementos, las concentraciones vuelven por lo regular a la normalidad en 24 horas.³⁰

Se ha encontrado que los ensayos de la ACP son útiles en la química clínica forense, en particular en la investigación de violación. Los lavados vaginales se examinan para detectar actividad de líquido seminal-ACP, que puede persistir durante hasta cuatro días.³¹ La actividad alta es supuesta evidencia de violación en tales casos.

La actividad de la ACP sérica puede ser alta la mayor parte de las veces en la enfermedad ósea. Se ha mostrado que la actividad se relaciona con los osteoclastos.³² Se han observado concentraciones altas en enfermedad de Paget; cáncer de mama con metástasis ósea, y enfermedad de Gaucher, en la que células de Gaucher ricas en actividad de ACP se infiltran en la médula ósea y otro tejido. Debido a la actividad de ACP en las plaquetas, se observan incrementos cuando ocurre daño plaquetario, como en la trombocitopenia que resulta de la destrucción excesiva de plaquetas por púrpura idiopática trombocitopénica.

Ensayo para actividad enzimática

En los procedimientos para ACP total se emplean las mismas técnicas que en los ensayos para ALP pero se efectúan a pH ácido:



Los productos de la reacción son incoloros al pH ácido de la reacción, pero la adición de álcali detiene la reacción y transforma los productos en cromógenos, que se pueden medir por medios espectrofotométricos.

Ya se han analizado algunas especificidades de sustrato e inhibidores químicos para mediciones de ACP prostática. El monofosfato de timolfaleína es el sustrato de elección para reacciones de punto final cuantitativas. Para métodos de monitoreo continuo, se prefiere el α -naftil fosfato.

Las técnicas inmunoquímicas para ACP prostática usan diversos métodos, como RIA, contrainmunolectroforesis e inmunoprecipitación. También, un ensayo inmunoenzimático (tándem E) incluye incubación con un anticuerpo a ACP prostática seguida de lavado e incubación con p-NFE. El p-NF formado, medido fotométricamente, es proporcional al ACP prostático en la muestra.

Fuente de error

El suero se debe separar de los eritrocitos tan pronto como se coagula la sangre para evitar fuga de ACP de eritrocitos y plaquetas. La actividad sérica disminuye en 1 a 2 h si se deja la muestra a temperatura ambiente sin la adición de un conservador. La actividad reducida es un resultado de la pérdida de dióxido de carbono del suero, con un incremento resultante de pH. Si no se realiza de inmediato el ensayo, el suero se debe congelar o acidificar a un pH menor que 6.5. Con la acidificación, la ACP es estable por dos días a temperatura ambiente. Se debe evitar la hemólisis debido a la contaminación con ACP eritrocítica.

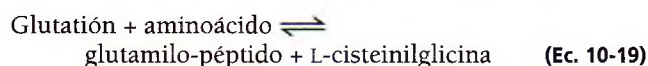
Los procedimientos de RIA para medición de ACP prostática requieren muestras de suero no acidificadas. La actividad es estable durante dos días a 4°C.

Intervalo de referencia

ACP prostática, 0 a 3.5 ng/ml.

γ -Glutamyltransferasa

La γ -glutamyltransferasa (GGT) es una enzima que interviene en la transferencia del residuo γ -glutamilo de péptidos de γ -glutamilo a aminoácidos, H_2O y otros péptidos pequeños. En la mayor parte de los sistemas biológicos, el glutatión sirve como donador de γ -glutamilo. En la ecuación 10-19 se describe la secuencia de reacción:



Fuente de error

La actividad de GGT es estable, sin ninguna pérdida de actividad durante una semana a 4°C. La hemólisis no interfiere con las concentraciones de GGT porque la enzima carece de eritrocitos.

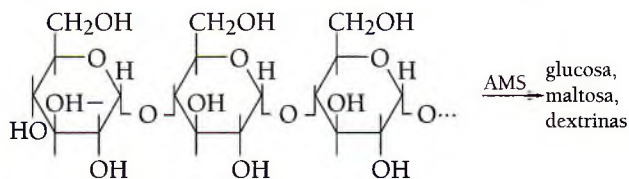
Intervalo de referencia

GGT: varón, 6 a 45 U/L (37°C); mujer, 5 a 30 U/L (37°C)

Los valores son menores en las mujeres presumiblemente como resultado de la supresión de la actividad enzimática que resulta de hormonas estrogénicas o progestacionales.

Amilasa

La amilasa (AMS) es una enzima que pertenece a la clase de hidrolasas que catalizan la descomposición del almidón y el glucógeno. El almidón consta de amilosa y amilopectina. La amilosa es una cadena larga no ramificada de moléculas de glucosa, unida por enlaces 1-4 glucosídicos; la amilopectina es un polisacárido de cadena ramificada con uniones α , 1-6 en los puntos de ramificación. La estructura del glucógeno es similar a la de la amilopectina pero es más ramificada. La α -amilasa ataca sólo los enlaces glucosídicos α , 1-4 para producir productos de degradación que consisten en glucosa; maltosa, y cadenas intermediarias, llamadas *dextrinas*, que contienen enlaces de ramificación α , 1-6. La celulosa y otros polisacáridos estructurales que consisten en enlaces no son atacados por α -AMS. Por tanto, la AMS es una enzima importante en la digestión fisiológica de almidones. La reacción procede de acuerdo con la ecuación 10-21:



(Ec. 10-21)

La AMS requiere iones calcio y cloruro para su activación.

Fuente de tejido

Las células acinares del páncreas y las glándulas salivales son las fuentes tisulares principales de AMS sérica. Concentraciones menores se encuentran en el músculo esquelético y el intestino delgado y trompas de Falopio. La AMS es la enzima más pequeña, con un peso molecular de 50 000 a 55 000. Debido a su tamaño pequeño, se filtra con facilidad en el glomérulo y también aparece en la orina.

La digestión de almidones comienza en la boca con la acción hidrolítica de la AMS salival. Sin embargo, la actividad de la AMS salival es de corta duración porque, al deglutir, se inactiva por la acidez del contenido gástrico. La AMS pancreática lleva a cabo entonces una mayor acción digestiva de los almidones una vez que los polisacáridos llegan al intestino.

Importancia diagnóstica

La importancia diagnóstica de las mediciones de AMS del suero y la orina es en el diagnóstico de pancreatitis aguda.³⁴ Trastornos del tejido distinto al páncreas pueden

producir incrementos en las concentraciones de AMS. Por tanto, una concentración alta de AMS es un hallazgo no específico. Sin embargo, el grado de incremento de AMS es útil, en cierto grado, en el diagnóstico diferencial de pancreatitis aguda. Además, otras pruebas de laboratorio (como mediciones de concentraciones de AMS urinaria, estudios de aclaramiento de AMS, estudios de isoenzimas de AMS y mediciones de concentraciones de lipasa sérica [LPS]), cuando se emplean junto con la medición de AMS sérica, incrementan la especificidad de las mediciones de AMS en el diagnóstico de pancreatitis aguda.

En la pancreatitis aguda, las concentraciones de AMS sérica comienzan a subir 2 a 12 h después del inicio de un ataque, alcanzan el máximo en 24 h y vuelven a los niveles normales en 3 a 5 días. Los valores varían por lo general de 250 a 1000 unidades Somogyi/dl ($2.55 \times \text{LSN}$). Los valores pueden alcanzar concentraciones mucho más altas.

Otros trastornos que causan una concentración sérica alta de AMS son las lesiones de las glándulas salivales, como paperas y parotiditis y otras enfermedades intraabdominales, como úlcera hepática perforada, obstrucción intestinal, colecistitis, rotura de embarazo ectópico, infarto mesentérico y apendicitis aguda. Además, han sido descritas concentraciones altas en insuficiencia renal y cetoacidosis diabética. Las concentraciones de AMS sérica en condiciones intraabdominales distintas a la pancreatitis aguda son por lo general menores que 500 unidades Somogyi/dl.

Una condición en apariencia asintomática de hiperamilasemia ha sido notada en alrededor de 1 a 2% de la población. Esta condición, llamada *macroamilasemia*, resulta cuando la molécula de AMS se combina con inmunoglobulinas para formar un complejo que es demasiado grande para ser filtrado a través del glomérulo. Las concentraciones séricas de AMS se incrementan debido a la reducción del aclaramiento renal normal de la enzima y, en consecuencia, la excreción urinaria de AMS es anormalmente baja. La importancia diagnóstica de la macroamilasemia radica en la necesidad de diferenciarla de otras causas de hiperamilasemia.

En fechas recientes se ha puesto mucho interés en el posible uso diagnóstico de las mediciones de isoenzima de AMS.^{34,35} La AMS sérica es una mezcla de diversas isoenzimas que se pueden separar por diferencias en propiedades físicas, de manera más notable electroforesis, aunque también han sido aplicados la cromatografía y el enfoque isoelectrico. En el suero humano normal, se pueden observar dos bandas principales y unas cuatro bandas menores. Las bandas se designan como isoamilasa tipos P y S. La isoamilasa P se deriva del tejido pancreático; la S se obtiene del tejido de glándulas salivales, así como de las trompas de Falopio y el pulmón. Las isoenzimas de origen salival migran con más rapidez (S1, S2, S3), mientras que las de origen pancreático son más lentas (P1, P2, P3). En el suero humano normal, las isoamilasas migran en regiones que corresponden a las regiones de la β a α -globulina de electroforesis de proteínas. Las fracciones que se observan con más frecuencia son P2, S1 y S2.

En la pancreatitis aguda, suele haber un incremento en la actividad del tipo P, con P3 como la isoenzima más predominante. Sin embargo, P3 ha sido detectada en casos de

La actividad enzimática de la LPS pancreática es específica para los residuos de ácidos grasos en las posiciones 1 y 3 de la molécula de triglicérido, pero el sustrato debe ser una emulsión para que ocurra actividad. La velocidad de reacción se acelera por la presencia de colipasa y una sal biliar.

Fuente de tejido

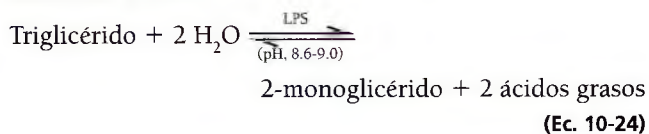
La concentración de LPS se encuentra sobre todo en el páncreas, aunque está presente también en el estómago y el intestino delgado.

Importancia diagnóstica

Los ensayos clínicos de mediciones de LPS sérica están confinados casi de manera exclusiva al diagnóstico de pancreatitis aguda. Es similar en este respecto a las mediciones de AMS pero más específica para trastornos pancreáticos que la medición de AMS. Tanto la concentración de AMS como la de LPS aumentan con rapidez, pero los incrementos de LPS persisten por casi 5 días en pancreatitis aguda, mientras que los incrementos de AMS persisten durante sólo 2 a 3 días. El alcance de los incrementos no tiene correlación con la gravedad de la enfermedad. Las concentraciones altas de LPS se pueden hallar también en otras condiciones intraabdominales, pero con menos frecuencia que los incrementos de AMS sérica. Se han determinado incrementos en casos de úlceras duodenales penetrantes y pépticas perforadas, obstrucción intestinal y colecistitis aguda. En contraste con las concentraciones de AMS, las concentraciones de LPS son normales en condiciones de interacción de las glándulas salivales. Por tanto, las concentraciones de LPS son útiles para diferenciar el incremento de AMS sérica como resultado de interacción pancreática contra salival. De las tres isoenzimas de lipasa, se considera que L2 es la más específica y sensible desde el punto de vista clínico.

Ensayo para actividad enzimática

Los procedimientos empleados para medir actividad de LPS incluyen estimación de ácidos grasos liberados y métodos turbidimétricos. La reacción se describe en la ecuación 10-24:



Los primeros métodos para LPS fueron históricamente deficientes. En el método clásico de Cherry-Crandall se empleaba un sustrato de aceite de oliva y se medían los ácidos grasos liberados por titulación después de una incubación de 24 h. Las modificaciones del método de Cherry-Crandall han sido complicadas por la falta de sustratos estables y uniformes. Sin embargo, la trioleína es un sustrato que se emplea en la actualidad como una forma más pura de triglicérido.

Los métodos turbidimétricos son más simples y más rápidos que los ensayos titulométricos. Las grasas en disolución crean una emulsión turbia. Conforme la LPS hidroliza las grasas, las partículas se dispersan, y la tasa de aclaramiento se puede medir como una estimación de la actividad de la LPS. Los métodos colorimétricos están disponibles y se basan en reacciones acopladas con enzimas como la peroxidasa y la cinasa de glicerol.

Fuente de error

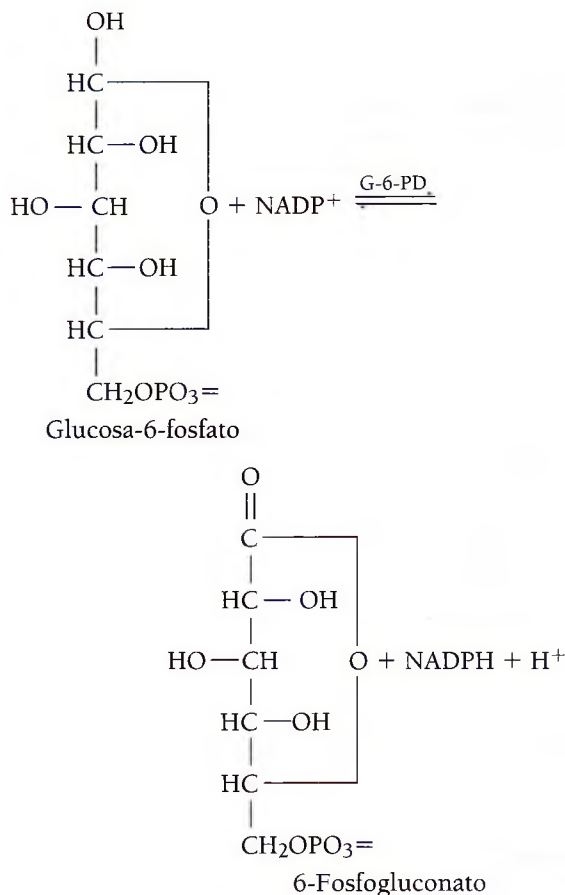
La LPS es estable en suero, con pérdida insignificante de actividad a temperatura ambiente durante una semana o por tres semanas a 4°C. Se debe evitar la hemólisis porque la hemoglobina inhibe la actividad de la LPS sérica, y causa valores falsos bajos.

Intervalo de referencia

LPS, 0 a 1.0 U/ml.

Deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato

La deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato (G-6-PD) es una *oxidoreductasa* que cataliza la oxidación de glucosa-6-fosfato a 6-fosfogluconato o la lactona correspondiente. La reacción es importante como primer paso en la derivación de pentosa-fosfato del metabolismo de la glucosa con la producción última de NADPH. La reacción se describe en la ecuación 10-25:



(Ec. 10-25)

Fuente de tejido

Las fuentes de G-6-PD incluyen la corteza suprarrenal, bazo, timo, nodos linfáticos, glándula mamaria lactante y eritrocitos. Se encuentra poca actividad en el suero normal.

ESTUDIO DE CASO 10-3

Una mujer hispana de 36 años de edad acude al departamento de urgencias con dolor abdominal, debilidad y pérdida del apetito; no ha viajado en los meses recientes, tampoco ha estado bien durante varios días.

Preguntas

1. ¿Qué pruebas de laboratorio se deben ordenar para ayudar al diagnóstico de esta paciente?
2. ¿Qué pruebas enzimáticas serían útiles en el diagnóstico de esta paciente?
3. ¿Qué par de diagnósticos es más probable para esta paciente?

Importancia diagnóstica

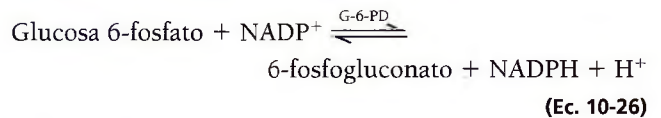
Casi todo el interés de la G-6-PD se centra en su función en el eritrocito. Aquí, funciona para mantener al NADPH en forma reducida. Se requiere una concentración adecuada de NADPH para regenerar proteínas que contienen sulfhidrilo, como el glutatión, del estado oxidado al reducido. El glutatión en la forma reducida, a su vez, protege a la hemoglobina de oxidación por agentes que podrían estar presentes en la célula. Una deficiencia de G-6-PD da como resultado un suministro inadecuado de NADPH y, en última instancia, en la capacidad para mantener concentraciones reducidas de glutatión. Cuando se exponen los eritrocitos a agentes oxidantes, ocurre hemólisis como resultado de la oxidación de hemoglobina y daño a la membrana celular.

La deficiencia de G-6-PD es un rasgo hereditario relacionado con el sexo. El trastorno puede originar diferentes manifestaciones clínicas, una de las cuales es anemia hemolítica inducida por fármacos. Cuando son expuestos a un fármaco oxidante como la primaquina, un fármaco antipalúdico, los individuos afectados experimentan un episodio hemolítico. La gravedad de la hemólisis se relaciona con la concentración del fármaco. La deficiencia de G-6-PD es más común en afroestadounidenses, pero ha sido descrita en todo grupo étnico.

Las concentraciones incrementadas de G-6-PD en el suero han sido descritas en infarto de miocardio y anemias megaloblásticas. En los trastornos hepáticos no se observan incrementos. Sin embargo, las concentraciones de G-6-PD no son ejecutadas de forma rutinaria como medios auxiliares de diagnóstico en estas condiciones.

Ensayo para actividad enzimática

El procedimiento de ensayo para actividad de G-6-PD se describe en la ecuación 10-26:



Se emplea un hemolizado de eritrocitos para valorar la deficiencia de la enzima; el suero se emplea para evaluación de incrementos enzimáticos.

Intervalo de referencia

G-6-PD, 10 a 15 U/g Hgb.

RESUMEN

Las enzimas, halladas en todos los tejidos del cuerpo, son proteínas que catalizan reacciones bioquímicas. Las reacciones catalizadas son específicas y esenciales para el bienestar fisiológico. En la lesión o en muchos estados morbosos, se liberan ciertas enzimas de sus ubicaciones normales y aparecen en cantidades incrementadas en la circulación general. En el diagnóstico y tratamiento de ciertos estados morbosos es útil comprender la importancia biológica de las enzimas y las reacciones que catalizan.

En este capítulo se revisaron las propiedades generales de las enzimas y su clasificación y mecanismos catalíticos. Se analizaron también varios factores que afectan la velocidad de las reacciones enzimáticas y los métodos generales para medir actividad enzimática.

Muchas enzimas son clínicamente importantes. Cuantificar las concentraciones séricas de ciertas enzimas o isoenzimas puede ayudar en el diagnóstico y pronóstico de trastornos hepáticos, del músculo esquelético, óseos, cardíacos; malignidad, o pancreatitis aguda. En este capítulo se analizó la fuente de tejido, la importancia diagnóstica, las metodologías en ensayo preferidas y los intervalos de referencia de varias enzimas importantes desde el punto de vista clínico.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Cuando se lleva a cabo una reacción en cinética de orden cero:
 - a) La concentración de sustrato es muy baja.
 - b) La velocidad de reacción es directamente proporcional a la concentración de sustrato.
 - c) La velocidad de reacción es independiente de la concentración de sustrato.
 - d) La concentración de enzima es muy alta.
2. La energía de activación es:
 - a) La energía necesaria para que se detenga una reacción enzimática.
 - b) Incrementada por enzimas.
 - c) Muy alta en reacciones catalizadas.
 - d) Reducida por enzimas.

3. Las velocidades de reacciones enzimáticas se incrementan al aumentar las temperaturas hasta que alcanzan el punto de desnaturalización en:
 - a) 40 a 60°C.
 - b) 25 a 35°C.
 - c) 100°C.
 - d) 37°C.
4. Un ejemplo de usar enzimas como reactivos en el laboratorio clínico es:
 - a) El método de nitrógeno ureico sanguíneo (NUS) monoxima de diacetilo.
 - b) El método de la hexocinasa glucosa.
 - c) El método de creatinina de picrato alcalino.
 - d) El método de proteína total de biuret.
5. Se puede determinar la actividad de las enzimas en el suero y no la concentración porque:
 - a) La temperatura es demasiado alta.
 - b) La cantidad de enzima es muy baja para medir.
 - c) No hay sustrato suficiente.
 - d) La cantidad de enzima es muy alta para medir.
6. Las concentraciones de las isoenzimas LD-4 y LD-5 son altas en:
 - a) Embolismo pulmonar.
 - b) Enfermedad hepática.
 - c) Enfermedad renal.
 - d) Infarto de miocardio.
7. ¿Qué isoenzima de CK tiene una concentración alta en enfermedades musculares?
 - a) CK-BB.
 - b) CK-MB.
 - c) CK-MM.
 - d) CK-NN.
8. Por lo general, el incremento en la concentración de amilasa y lipasa séricas se observa en:
 - a) Apendicitis aguda.
 - b) Pancreatitis aguda.
 - c) Enfermedad de la vesícula biliar.
 - d) Enfermedad de reflujo ácido.
9. El método saccarogénico para determinaciones de amilasa mide:
 - a) La cantidad de producto producida.
 - b) La cantidad de sustrato consumido.
 - c) La cantidad de yodo presente.
 - d) La cantidad de almidón presente.
10. El incremento de la concentración de enzimas tisulares en el suero se puede usar para detectar:
 - a) Presencia de toxinas.
 - b) Enfermedades infecciosas.
 - c) Necrosis o daño tisular.
 - d) Diabetes mellitus.

REFERENCIAS

1. Enzyme Nomenclature 1978, Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry on the Nomenclature and Classification of Enzymes. New York: Academic Press, 1979.
2. Baron DN, Moss DW, Walker PG, et al. Abbreviations for names of enzymes of diagnostic importance. *J Clin Pathol* 1971;24:656.
3. Baron DN, Moss DW, Walker PG, et al. Revised list of abbreviations for names of enzymes of diagnostic importance. *J Clin Pathol* 1975;28:592.
4. Rej R. Accurate enzyme measurements. *Arch Pathol Lab Med* 1998;117:352.
5. Spitzer M, Pinto A. Early diagnosis of ectopic pregnancy: can we do it accurately using a chemical profile? *J Women's Health Gender Based Med* 2000;9:537.
6. Na Kafusa J, et al. The importance of serum creatine phosphokinase levels in the early diagnosis, and as a prognostic factor, of *Vibrio vulnificus* infection. *Br Med J* 2001;145:2.
7. Galen RS. The enzyme diagnosis of myocardial infarction. *Human Pathol* 1975;6:141.
8. Wilkinson JH. The Principles and Practice of Diagnostic Enzymology. Chicago, IL: Year Book Medical Publishers, 1976:395.
9. Silverman LM, Dermer GB, Zweig MH, et al. Creatine kinase BB: a new tumor-associated marker. *Clin Chem* 1979;25:1432.
10. Lang H, ed. Creatine Kinase Isoenzymes: Pathophysiology and Clinical Application. Berlin: Springer-Verlag, 1981.
11. Irvin RG, Cobb FR, Roe CR. Acute myocardial infarction and MB creatine phosphokinase: relationship between onset of symptoms of infarction and appearance and disappearance of enzyme. *Arch Intern Med* 1980;140:329.
12. Bark CJ. Mitochondrial creatine kinase—a poor prognostic sign. *J Am Med Assoc* 1980;243:2058.
13. Batsakis J, Savory J, eds. Creatine kinase. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1982;16:291.
14. Lang H, Wurzburg U. Creatine kinase, an enzyme of many forms. *Clin Chem* 1982;28:1439.
15. Lott JA. Electrophoretic CK and LD isoenzyme assays in myocardial infarction. *Lab Management* 1983;Feb:23.
16. Pesce MA. The CK isoenzymes: findings and their meaning. *Lab Management* 1982;Oct:25.
17. Roche Diagnostics. Isomune-CK package insert. Nutley, NJ: Hoffman-La Roche, 1979.
18. Faulkner WR, Meites S, eds. Selected Methods for the Small Clinical Chemistry Laboratory: Selected Methods of Clinical Chemistry. Vol. 9. Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry, 1982:475.
19. Lott JA, Stang JM. Serum enzymes and isoenzymes in the diagnosis and differential diagnosis of myocardial ischemia and necrosis. *Clin Chem* 1980;26:1241.
20. Leung FY, Henderson AR. Influence of hemolysis on the serum lactate dehydrogenase1/lactate dehydrogenase-2 ratio as determined by an accurate thin-layer agarose electrophoresis procedure. *Clin Chem* 1981;27:1708.

21. Bhagavan NV, Darm JR, Scottolini AG. A sixth lactate dehydrogenase isoenzyme (LD-6) and its significance. *Arch Pathol Lab Med* 1982; 106:521.
22. Cabello B, Lubin J, Rywlin AM, et al. Significance of a sixth lactate dehydrogenase isoenzyme (LDH₆). *Am J Clin Pathol* 1980; 73:253.
23. Goldberg DM, Werner M, eds. LD-6, A Sign of Impending Death From Heart Failure, Selected Topics in Clinical Enzymology. New York: Walter de Gruyter, 1983:347.
24. Posen S, Doherty E. The measurement of serum alkaline phosphatase in clinical medicine. *Adv Clin Chem* 1981;22:165.
25. Warren BM. The isoenzymes of alkaline phosphatase. Beaumont, TX: Helena Laboratories, 1981.
26. Fleisher GA, Eickelberg ES, Elveback LR. Alkaline phosphatase activity in the plasma of children and adolescents. *Clin Chem* 1977;23:469.
27. Gittes RF. Carcinoma of the prostate. *N Engl J Med* 1991;324:236.
28. Gittes RF. Prostate specific antigen. *N Engl J Med* 1987;318:954.
29. Oesterling JE. Prostate specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. *J Urol* 1991;145:907.
30. Griffiths JC. The laboratory diagnosis of prostatic adenocarcinoma. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1983;19:187.
31. Lantz RK, Berg MJ. From clinic to court: acid phosphatase testing. *Diagn Med* 1981;Mar/Apr:55.
32. Yam LT. Clinical significance of the human acid phosphatases. A review. *Am J Med* 1974;56:604.
33. Rosalki SB. Gamma-glutamyl transpeptidase. *Adv Clin Chem* 1975;17:53.
34. Salt WB II, Schenker S. Amylase: its clinical significance. A review of the literature. *Medicine* 1976;4:269.
35. Murthy U, et al. Hyperamylasemia in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Gastroenterol* 1992;87(3):332.

Carbohidratos

Vicki S. Freeman

11

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- DESCRIPCIÓN GENERAL DE LOS CARBOHIDRATOS
 - Clasificación de los carbohidratos
 - Estereoisómeros
 - Monosacáridos, disacáridos y polisacáridos
 - Propiedades químicas de los carbohidratos
 - Metabolismo de la glucosa
 - Destino de la glucosa
 - Regulación del mecanismo de carbohidratos
- HIPERGLUCEMIA
 - Diabetes mellitus
 - Fisiopatología de la diabetes mellitus
 - Criterios para el diagnóstico de la diabetes mellitus
- HIPOGLUCEMIA
 - Defectos genéticos en el metabolismo de carbohidratos
- FUNCIÓN DEL LABORATORIO EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON ALTERACIONES METABÓLICAS DE LA GLUCOSA
 - Métodos de medición de glucosa
 - Automonitoreo de glucosa sanguínea (AMGS)
 - Tolerancia a la glucosa y pruebas posprandiales de dos horas
 - Hemoglobina glucosilada
 - Cetonas
 - Microalbuminuria
 - Prueba de autoanticuerpo insulínico de los islotes
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al terminar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Clasificar los carbohidratos en sus respectivos grupos.
- Explicar el metabolismo de los carbohidratos en el cuerpo y el modo de acción de las hormonas en el metabolismo de carbohidratos.
- Diferenciar los tipos de diabetes mediante síntomas clínicos y hallazgos de laboratorio de acuerdo con la American Diabetes Association (ADA)
- Explicar la importancia clínica de los tres cuerpos cetónicos.
- Relacionar los resultados de laboratorio esperados y los síntomas clínicos para las siguientes complicaciones metabólicas de la diabetes.
 - cetoacidosis
 - coma hiperosmolar
- Distinguir entre hipoglucemia reactiva y espontánea.
- Describir el principio, muestra de elección, y las ventajas y desventajas de los métodos de análisis de la glucosa.
- Describir los tres métodos hallados por lo común para hemoglobina glucosilada, muestra de elección y fuente de error.
- Describir el uso de hemoglobina glucosilada en el monitoreo a largo plazo de la diabetes.
- Explicar los métodos de análisis, y las ventajas y desventajas de los cuerpos cetónicos.

TÉRMINOS CLAVE

Carbohidratos	Glucógeno	Hiperglucémico	Polisacárido
Cetona	Glucogenólisis	Hipoglucémico	Proyección de Fisher
Diabetes mellitus	Glucólisis	Insulina	Proyección de Haworth
Disacárido	Gluconeogénesis	Microalbuminuria	Triosa
Glucagon	Hemoglobina glucosilada	Monosacárido	Vía de Embden-Myerhof

Los organismos dependen de la oxidación de compuestos orgánicos complejos para obtener energía. Tres tipos generales de esta clase de compuestos son carbohidratos, aminoácidos y lípidos. Aunque los tres se emplean como fuente de energía, los carbohidratos son la fuente primaria del cerebro, eritrocitos y células retinales en humanos. Los carbohidratos son la fuente de alimento principal y suministro de energía del cuerpo, y se almacenan sobre todo como glucógeno del hígado y músculo. Los estados morbosos relacionados con carbohidratos se dividen en dos grupos: hiperglucemia e hipoglucemia. La detección oportuna de diabetes mellitus es el objetivo de las normas de la *American Diabetes Association* establecidas en 1997. Las complicaciones aguda y crónica se pueden evitar con el diagnóstico, monitoreo y tratamiento. El laboratorio desempeña un papel importante a través de mediciones periódicas de hemoglobina glucosilada y microalbúmina.

DESCRIPCIÓN GENERAL DE LOS CARBOHIDRATOS

Los *carbohidratos* son compuestos que contienen C, H y O. La fórmula general para un carbohidrato es $C_x(H_2O)_y$. Los carbohidratos contienen los grupos funcionales $C=O$ y $-OH$. Hay algunos derivados de esta fórmula básica porque los derivados de carbohidratos se pueden formar mediante la adición de otros grupos químicos, como fosfatos, sulfatos y aminas. La clasificación de carbohidratos se basa en cuatro propiedades distintas: *a)* el tamaño de la cadena de carbono base, *b)* la ubicación del grupo funcional CO , *c)* el número de unidades de azúcar y *d)* la estereoquímica del compuesto.

Clasificación de los carbohidratos

Los carbohidratos se pueden agrupar en clasificaciones genéricas con base en el número de carbonos en la molécula. Por ejemplo, las *triosas* contienen tres carbonos, las *tetrosas* cuatro, las *pentosas* cinco y las *hexosas* seis. En la práctica real, el carbohidrato más pequeño es el gliceraldehído, un compuesto de tres carbonos.

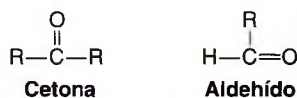


FIGURA 11-1. Estructuras de un aldehído y una cetona.

Los carbohidratos son hidratos de derivados de aldehído o cetona con base en la ubicación del grupo funcional CO (fig. 11-1). Las dos formas de carbohidratos son aldosa y cetosa (fig. 11-2). La aldosa tiene un aldehído como su grupo funcional, mientras que la cetosa tiene una cetona como el grupo funcional. El carbono en el grupo funcional se llama carbono anomérico.

Se emplean varios modelos para representar carbohidratos. La *proyección de Fisher* de un carbohidrato tiene al aldehído o cetona en la parte superior del dibujo. Los carbonos se numeran comenzando en el extremo aldehído o cetona. El compuesto se puede representar como una cadena recta o se podría unir para mostrar una representación de la forma hemiacetal cíclica (fig. 11-3). La *proyección de Haworth* representa al compuesto en la forma cíclica que es más representativa de la estructura real. Esta estructura se forma cuando el grupo funcional (cetona o aldehído) reacciona con un grupo alcohol en el mismo azúcar para formar un anillo llamado el *anillo hemiacetal* (fig. 11-4).

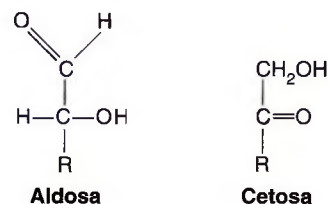


FIGURA 11-2. Dos formas de carbohidratos.

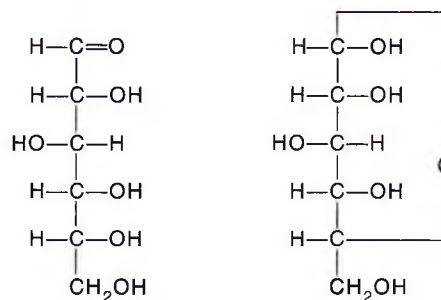


FIGURA 11-3. Proyección de Fisher de la glucosa. La *figura de la izquierda* es la proyección de Fisher de cadena abierta, y la *figura de la derecha* es una proyección de Fisher cíclica.

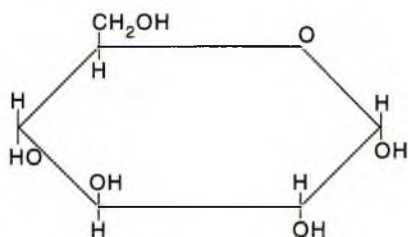


FIGURA 11-4. Proyección de Haworth de la glucosa.

Estereoisómeros

Los carbonos centrales de un carbohidrato son asimétricos —cuatro grupos distintos están unidos a los átomos de carbono. Esto permite tener varias configuraciones espaciales de moléculas de carbohidrato llamadas *estereoisómeros*. Éstos tienen el mismo orden y tipos de enlaces pero diferentes disposiciones espaciales y propiedades distintas. Por cada carbono asimétrico, hay 2^n isómeros posibles; por tanto, hay 2^1 , o dos, formas de gliceraldehído. Estos isómeros son imágenes especulares. Debido a que una aldosa contiene cuatro carbonos asimétricos, hay 2^4 o 16 isómeros posibles, dos de los cuales son estereoisómeros designados D-glucosa y L-glucosa. D y L son términos empleados para describir algunos de los posibles isómeros ópticos de glucosa y otros compuestos que existen como estereoisómeros. Son imágenes especulares que no se pueden superponer. La configuración D tiene al -OH en el menor carbono asimétrico a la derecha; la forma L tiene al -OH a la izquierda. En la figura 11-5, la D-glucosa se representa en la proyección de Fisher con el grupo hidroxilo en el carbono número 5 colocado a la derecha. La L-glucosa tiene al grupo hidroxilo en el carbono cinco ubicado a la izquierda. La mayor parte de los azúcares en los humanos están en la forma D.

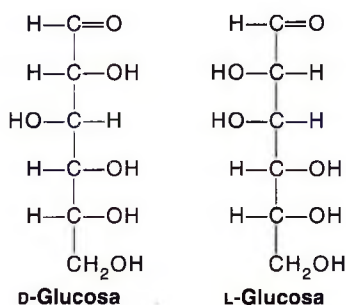
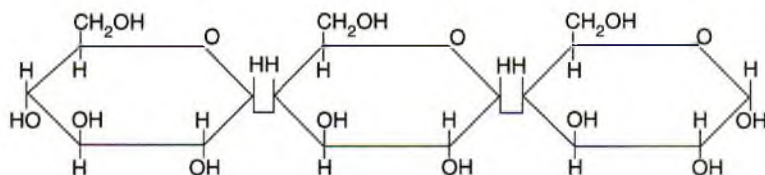


FIGURA 11-5. Estereoisómeros de la glucosa.



Monosacáridos, disacáridos y polisacáridos

Otra clasificación de los carbohidratos se basa en el número de unidades de azúcar en la cadena: monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. Este encadenamiento de azúcares depende de la formación de enlaces glucosídicos que son puentes de átomos de oxígeno. Cuando se unen dos moléculas de carbohidrato, se produce una molécula de agua. Cuando se dividen, se emplea una molécula de agua para formar los compuestos individuales. Esta reacción se llama *hidrólisis*. En los enlaces glucosídicos de carbohidrato puede participar cualquier número de carbonos; sin embargo, dependiendo del carbohidrato se favorecen ciertos carbonos.

Los *monosacáridos* son azúcares simples que no pueden hidrolizarse a una forma más simple. Estos azúcares contienen tres, cuatro, cinco y seis o más átomos de carbono (conocidos como triosas, tetrasas, pentosas y hexosas, respectivamente). Los más comunes son glucosa, fructosa y galactosa.

Los *disacáridos* se forman en la interacción de grupos entre dos monosacáridos con la producción de una molécula de agua. En la hidrólisis, los disacáridos serán divididos en dos monosacáridos por enzimas de disacárido (como la lactasa) localizadas en las microvellosidades del intestino. Estos monosacáridos son absorbidos de manera activa. Los disacáridos más comunes son maltosa (que comprende moléculas de 2-β-D-glucosa en un enlace 1→4), lactosa y sucrosa.

Los *oligosacáridos* son los encadenamientos de dos a 10 unidades de azúcar, mientras que los *polisacáridos* se forman mediante el enlace de muchas unidades de monosacárido. En la hidrólisis, los polisacáridos producirán más de diez monosacáridos. La amilasa hidroliza al almidón a disacáridos en el duodeno. Los polisacáridos más comunes son almidón (moléculas de glucosa) y glucógeno (fig. 11-6).

Propiedades químicas de los carbohidratos

Algunos carbohidratos son sustancias reductoras; éstos pueden reducir u oxidar otros compuestos. Para ser una sustancia reductora, el carbohidrato debe contener un grupo cetona o aldehído. Ejemplos de sustancias reductoras son glucosa, maltosa, fructosa, lactosa y galactosa. Esta propiedad se usó en muchos métodos de laboratorio en el pasado en la determinación de carbohidratos.

Los carbohidratos pueden formar enlaces glucosídicos con otros carbohidratos y con no carbohidratos. La aldosa o

FIGURA 11-6. Enlace de monosacáridos.

grupo cetona en el carbohidrato forma un enlace de oxígeno. Si el enlace se forma con uno de los otros carbonos en el carbohidrato distintos al carbono anomérico, este último (grupo funcional) no sufre ningún cambio y el grupo resultante es una sustancia reductora.

Si el enlace se forma con el carbono anomérico en el otro carbohidrato, el compuesto resultante *ya no es* una sustancia reductora. Los carbohidratos no reductores *no* tienen un grupo cetona o aldehído activo. *No* oxidarán o reducirán otros compuestos. El azúcar no reductor más común es la sucrosa, azúcar de mesa (fig. 11-7).

Los monosacáridos y muchos disacáridos son agentes reductores. Esto se debe a que el aldehído o cetona libre (la forma de cadena abierta) se puede oxidar bajo condiciones apropiadas. Como un disacárido, uno de los aldehídos o cetonas suele ser alfa para al enlace glucosídico. El otro aldehído o cetona aún está libre para funcionar como agente reductor. Sin embargo, cuando ambos aldehídos o cetonas son alfa respecto al enlace glucosídico, como en la sucrosa, entonces el disacárido es capaz de experimentar mutarrotación y es, por tanto, incapaz de funcionar como un agente reductor. Tanto la maltosa como la lactosa son agentes reductores, mientras que la sucrosa no lo es.

Metabolismo de la glucosa

La glucosa es la fuente primaria de energía para los humanos. El sistema nervioso, incluso el cerebro, depende por completo de la glucosa del líquido extracelular circundante (LEC) para la energía. El tejido nervioso no puede concentrar o almacenar carbohidratos; por tanto, es crítico mantener un suministro permanente de glucosa para el tejido. Por esta razón, la concentración de glucosa en el LEC se debe mantener en un intervalo reducido. Cuando la concentración cae abajo de cierto nivel, el tejido nervioso pierde la fuente de energía primaria y es incapaz de mantener la función normal.

Destino de la glucosa

La mayor parte de los carbohidratos que ingerimos son polímeros, como el almidón y el glucógeno. La digestión de estos polímeros no absorbibles a dextrinas y disacáridos, que luego son hidrolizados a monosacáridos por la maltasa, una enzima liberada por la mucosa intestinal, se debe a la amilasa salival y a la pancreática. La sucrasa y la

lactasa son otras dos enzimas importantes derivadas del intestino que hidrolizan la sucrosa a glucosa, y la fructosa y lactosa a glucosa y galactosa.

Cuando los disacáridos son convertidos a monosacáridos, son absorbidos por el intestino y transportados al hígado por el suministro sanguíneo venoso del portal hepático. La glucosa es el único carbohidrato que se usa de manera directa para energía o se almacena como glucógeno. La galactosa y la fructosa deben convertirse a glucosa antes que se puedan usar. Después que la glucosa entra a la célula, es desviada con rapidez hacia una de tres posibles vías metabólicas, dependiendo de la disponibilidad de sustratos o del estado nutricional de la célula. El objetivo final de la célula es convertir la glucosa en dióxido de carbono y agua. Durante este proceso, la célula obtiene la molécula de alta energía trifosfato de adenosina (ATP) de fosfato inorgánico y difosfato de adenosina (ADP). La célula requiere oxígeno para las etapas finales en la cadena de transporte de electrones (CTE). El dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) en su forma reducida (NADH) actuará como un intermediario para acoplar la oxidación de glucosa a la CTE en las mitocondrias donde se obtiene mucho del ATP.

El primer paso para las tres vías requiere que la glucosa sea convertida a glucosa-6-fosfato por medio de la molécula de alta energía, ATP. Esta reacción se cataliza mediante la enzima hexocinasa (fig. 11-8). La glucosa 6-fosfato puede entrar a la vía de *Embden-Myerhof* o a la *vía del monofosfato de hexosa* o se puede convertir en glucógeno (fig. 11-8). Las primeras dos vías son importantes para la generación de energía a partir de glucosa; la conversión a la vía del glucógeno es importante para el almacenamiento de glucosa.

En la vía de *Embden-Myerhof*, la glucosa se descompone en dos moléculas de tres carbonos de ácido pirúvico que pueden entrar al *ciclo del ácido tricarboxílico* (ciclo ATC) en la conversión a acetil-coenzima A (acetil-CoA). Esta vía requiere oxígeno y se denomina *vía aeróbica* (fig. 11-8). Otros sustratos tienen la oportunidad de entrar a la vía en varios puntos. El glicerol liberado de la hidrólisis de triglicéridos puede entrar en 3-fosfoglicerato, los ácidos grasos y cetonas, y algunos aminoácidos pueden ser convertidos o catabolizados a acetil-CoA, que es parte del ciclo del ATC. Otros aminoácidos entran a la vía como piruvato o como α -cetoácidos o α -oxoácidos desaminados. La conversión de aminoácidos por el hígado y otro tejido especializado, como el riñón, a sustratos que pueden ser convertidos a glucosa se llama *gluconeogénesis*. Esta última también comprende la conversión a glicerol, lactato y piruvato a glucosa.

La *glucólisis anaeróbica* es importante para tejido como el músculo, que con frecuencia tiene requisitos de energía importantes sin un suministro adecuado de oxígeno. Estos tejidos pueden derivar ATP de la glucosa en un ambiente con deficiencia de oxígeno al convertir el ácido pirúvico en ácido láctico. El ácido láctico se difunde desde las células del músculo, entra a la circulación sistémica y luego el hígado lo toma y emplea (fig. 11-8). Para que ocurra la *glucólisis anaeróbica*, se deben consumir dos moles de

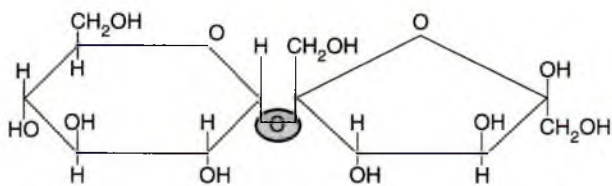


FIGURA 11-7. Proyección de Haworth de la sucrosa.

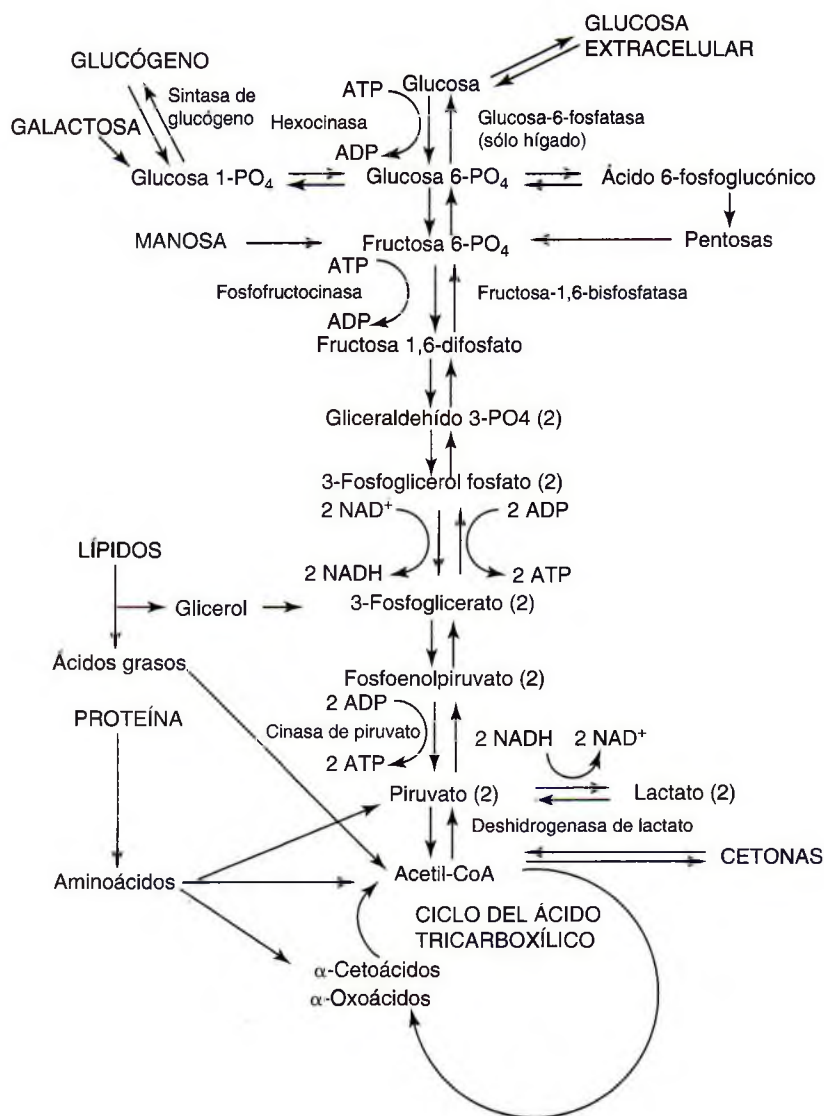


FIGURA 11-8. Vía de Embden-Meyerhof para la glucólisis anaerobia.

ATP por cada mol de glucosa; sin embargo, se producen de modo directo 4 moles de ATP, lo que da como resultado una ganancia neta de dos moles de ATP. Las ganancias adicionales de ATP resultan de la introducción de piruvato en el ciclo de ATC y el NADH en el CTE.

La segunda vía de energía es la *desviación de monofosfato de hexosa* (desviación HMP), que es en realidad una desviación de la glucosa 6-fosfato de la vía glucolítica para convertirse en ácido 6-fosfogluconico. El producto oxidado permite la formación de ribosa 5-fosfato y NDP en su forma reducida (NADPH). El NADPH es importante para los eritrocitos que carecen de mitocondrias y, por tanto, no pueden llevar a cabo el ciclo del ATC. La capacidad reductora del NADPH se requiere para proteger a la célula de daño oxidativo y por radicales libres. Sin NADPH, la membrana de bicapa lipídica de la célula y las enzimas críticas serían destruidas finalmente, y como resultado se tendría muerte celular. La desviación HMP

también permite a las pentosas, como la ribosa, entrar a la vía glucolítica.

Cuando se satisfacen los requisitos de energía de la célula, la glucosa se puede almacenar como glucógeno. Esta tercera vía, que se llama *glucogénesis*, es relativamente directa. La glucosa 6-fosfato es convertida en glucosa 1-fosfato, que luego se convierte en difosfoglucosa de uridina y después en glucógeno mediante la sintasa de glucógeno. Varios tejidos pueden sintetizar glucógeno, en particular el hígado y los músculos. Los hepatocitos son capaces de liberar glucosa de glucógeno y otras fuentes para mantener la concentración de glucosa en la sangre. Esto es porque el hígado sintetiza la enzima glucosa-6-fosfatasa. Sin esta enzima, la glucosa es atrapada en la vía glucolítica. Las células del músculo no sintetizan glucosa-6-fosfatasa y, por tanto, no pueden desfosforilar glucosa. Una vez que la glucosa entra a la célula del músculo, permanece como glucógeno a menos que sea catabolizada. La *glucogenólisis*

es el proceso mediante el cual el glucógeno se convierte de nuevo en glucosa 6-fosfato para entrar en la vía glucolítica. En el cuadro 11-1 se describen las principales vías de energía relacionadas de manera directa o indirecta con el metabolismo de la glucosa.

En general, el hígado y otras células pueden usar la glucosa dietética y otros carbohidratos para energía o se almacena como glucógeno para uso posterior. Cuando el suministro de glucosa es bajo, el hígado usará glucógeno y otros sustratos para aumentar la concentración de glucosa en la sangre. Estos sustratos incluyen glicerol de triglicéridos, ácido láctico de la piel y músculos y aminoácidos. Si se regula la lipólisis de triglicéridos, da como resultado la formación de cuerpos cetónicos, que el cerebro puede usar como fuente de energía por el ciclo del ATC. La síntesis de glucosa de aminoácidos es la gluconeogénesis. Este proceso se usa junto con la formación de cuerpos cetónicos cuando se agotan los depósitos de glucógeno —condiciones relacionadas normalmente con la inanición. La vía fundamental para la oxidación de la glucosa es por la vía de Embden-Myerhof. El NADPH se puede sintetizar por la desviación HMP, que es una vía lateral de la vía glucolítica anaeróbica (fig. 11-8).

Regulación del mecanismo de carbohidratos

El hígado, páncreas y otras glándulas endocrinas intervienen en el control de las concentraciones de glucosa sanguínea en un intervalo reducido. Durante un ayuno breve, la glucosa es suministrada al LEC desde el hígado por gluconeogénesis. Dos hormonas principales controlan la glucosa sanguínea: insulina y glucagon, ambas producidas en el páncreas. Sus acciones se oponen entre sí. Otras hormonas y sustancias neuroendocrinas también ejercen cierto control sobre las concentraciones de glucosa sanguínea, que permite al cuerpo responder a mayores demandas de glucosa o sobrevivir ayunos prolongados. Esto también

permite la conservación de energía como lípidos cuando se ingieren sustratos en exceso.

La *insulina* es la hormona primaria a la que se debe la entrada de glucosa en la célula. Es sintetizada por las células β de los islotes de Langerhans en el páncreas. Cuando estas células detectan un incremento en la glucosa del cuerpo, liberan insulina. La liberación de insulina causa un mayor movimiento de glucosa en las células y mayor metabolismo de glucosa. Por lo general, la insulina se libera cuando las concentraciones de glucosa son altas y *no* se libera cuando disminuyen las concentraciones de glucosa. Esto reduce las concentraciones de glucosa plasmática al incrementar la entrada de transporte de glucosa en el músculo y el tejido adiposo por medio de receptores no específicos. También regula la glucosa al incrementar la glucogénesis, lipogénesis y glucólisis e inhibir la gluconeogénesis. La insulina es la única hormona que disminuye las concentraciones de glucosa y se le puede llamar agente *hipoglucémico* (cuadro 11-2).

El *glucagon* es la hormona primaria a la que se debe el incremento de las concentraciones de glucosa. Se sintetiza mediante las células α de los islotes de Langerhans en el páncreas y se libera durante estados de estrés y ayuno. Cuando estas células detectan una disminución en la glucosa del cuerpo, liberan glucagon. Esta sustancia incrementa las concentraciones de glucosa plasmática mediante glucogenólisis en el hígado y un incremento en la gluconeogénesis. Se puede llamar también agente *hiperglucémico* (cuadro 11-2).

Dos hormonas que produce la glándula suprarrenal afectan el metabolismo de carbohidratos. La *adrenalina*, producida por la médula espinal, incrementa la glucosa plasmática al inhibir la secreción de insulina, incrementar la glucogenólisis y promover la lipólisis. La adrenalina se libera durante el estrés. Los *glucocorticoides*, sobre todo cortisol, se liberan de la corteza suprarrenal al estimular la hormona adrenocorticotrópica (ACTH). El cortisol incrementa la glucosa plasmática al disminuir la entrada intestinal en la célula e incrementar la gluconeogénesis, el glucógeno hepático y la lipólisis.

Dos hormonas de la hipófisis anterior, hormona del crecimiento y ACTH, promueven el incremento de glucosa plasmática. La *hormona del crecimiento* incrementa la glucosa plasmática al disminuir la entrada de glucosa en las células e incrementar la glucólisis. Su liberación de la hipófisis es estimulada por las concentraciones de glucosa reducidas y se inhibe cuando se incrementa la glucosa. Las concentraciones reducidas de cortisol estimulan la hipófisis anterior para liberar ACTH. La ACTH, a su vez, estimula la corteza suprarrenal para liberar cortisol e incrementar las concentraciones de glucosa plasmática al convertir el glucógeno hepático en glucosa y promover la gluconeogénesis.

Otras dos hormonas afectan las concentraciones de glucosa: tiroxina y somatostatina. La glándula tiroides es estimulada por la producción de hormona estimulante de la tiroides (TSH) para liberar *tiroxina* que incrementa las concentraciones de glucosa plasmática al aumentar la glucogenólisis, gluconeogénesis y absorción intestinal

CUADRO 11-1. VÍAS EN EL METABOLISMO DE LA GLUCOSA

Glucólisis	Metabolismo de la molécula de glucosa a piruvato o lactato para producción de energía
Gluconeogénesis	Formación de glucosa 6-fosfato de fuentes distintas a carbohidratos
Glucogenólisis	Descomposición de glucógeno a glucosa para uso como energía
Glucogénesis	Conversión de glucosa a glucógeno para almacenamiento
Lipogénesis	Conversión de carbohidratos a ácidos grasos
Lipólisis	Descomposición de grasa

CUADRO 11-2. ACCIÓN DE LAS HORMONAS

Acción de la insulina

Incrementa la glucogénesis y la glucólisis: glucosa \longrightarrow glucógeno \longrightarrow piruvato \longrightarrow Acetil-CoA

Incrementa la lipogénesis

Disminuye la glucogenólisis

Acción del glucagon

Incrementa la glucogenólisis:

Glucógeno \longrightarrow glucosa

Incrementa la gluconeogénesis:

Ácidos grasos \longrightarrow acetil-CoA \longrightarrow cetona

Proteínas \longrightarrow aminoácidos

de glucosa. La *somatostatina*, producida por las células δ de los islotes de Langerhans del páncreas, incrementa las concentraciones de glucosa plasmática mediante la inhibición de insulina, glucagon, hormona del crecimiento y otras hormonas endocrinas.

HIPERGLUCEMIA

La *hiperglucemia* es un incremento en las concentraciones de glucosa plasmática. En pacientes saludables, durante un estado de hiperglucemia, las células β de los islotes pancreáticos de Langerhans secretan insulina. Ésta incrementa la permeabilidad de la membrana a células del

hígado, músculo y tejido adiposo. También altera las vías metabólicas de la glucosa. La hiperglucemia, o concentraciones altas de glucosa plasmática, es causada por un desequilibrio de hormonas.

Diabetes mellitus

La *diabetes mellitus* es en realidad un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia que resultan de defectos en la secreción de insulina, acción de ésta, o ambas. En 1979, el grupo *National Diabetes Data* elaboró un esquema de clasificación y diagnóstico para la diabetes mellitus.¹ En este esquema se incluyó la diabetes

ESTUDIO DE CASO 11-1

Un estudiante de preparatoria de 18 años de edad con una historia de cuatro años de diabetes mellitus es llevado al departamento de urgencias debido a somnolencia excesiva, vómito y diarrea. Su diabetes ha estado bien controlada con 40 unidades de insulina NPH diaria hasta hace varios días cuando presentó sed excesiva y poliuria. Durante los tres días anteriores también había experimentado cefalea, mialgia y fiebre de menor grado. La diarrea y el vómito comenzaron hace un día.

ANÁLISIS DE ORINA		QUÍMICA DE RESULTADOS DE PRUEBA	
Densidad relativa	1.012	Sodio	126 mEq/L
pH	5.0	Potasio	6.1 mEq/L
Glucosa	4+	Cloruro	87 mEq/L
Cetona	Gran cantidad	Bicarbonato	6 mEq/L
		Glucosa plasmática	600 mg/dL
		NUS	48 mg/dL
		Creatinina	2.0 mg/dL
		Cetonas séricas	4+

Preguntas

1. ¿Cuál es el diagnóstico probable de este paciente con base en los datos presentados?
2. ¿Qué prueba(s) de laboratorio se debe llevar a cabo para hacer un seguimiento de este paciente y ayudar a ajustar las concentraciones de insulina?
3. ¿Por qué son positivas las cetonas de la orina?
4. ¿Qué métodos se emplean para cuantificar la cetona de la orina? ¿Qué cetonas se detectarán?

mellitus en dos categorías amplias: tipo 1, diabetes mellitus insulín dependiente (DMID), y tipo 2, diabetes mellitus no insulín dependiente (DMNID).

Establecido en 1995, el Comité de Expertos Internacional en el Diagnóstico y Clasificación de la Diabetes Mellitus, trabajando bajo el patrocinio de la ADA, se le asignó la tarea de actualizar el sistema de clasificación de 1979. Los cambios propuestos incluyeron eliminar los términos antiguos DMID y DMNID. Se retuvieron las categorías de tipo 1 y 2, con la adopción de números arábigos en lugar de número romanos (cuadro 11-3).²

Por tanto, las normas de la ADA y la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomendaron las siguientes categorías de diabetes:

- Diabetes tipo 1
- Diabetes tipo 2
- Otros tipos específicos de diabetes
- Diabetes mellitus gestacional (DMG)

La *diabetes tipo 1* se caracteriza por hiperglucemia inapropiada que es resultado sobre todo de la destrucción de células β de los islotes pancreáticos y una tendencia a cetoacidosis. La diabetes tipo 2, en contraste, incluye casos de hiperglucemia que resultan de resistencia a la insulina

con un defecto secretorio de insulina. Una etapa intermedia, en la que la glucosa de ayuno se incrementa arriba de los límites normales pero no a la concentración de diabetes, ha sido denominada *glucosa de ayuno alterada*. Se retuvo el término *intolerancia a la glucosa* para indicar valores de tolerancia a la glucosa arriba de lo normal pero abajo de las concentraciones de diabetes. Asimismo, se retuvo el término *diabetes mellitus gestacional* para mujeres que desarrollan intolerancia a la glucosa durante el embarazo.

La *diabetes mellitus tipo 1* es un resultado de la destrucción autoinmune mediada por células de las células β del páncreas, que causa una deficiencia absoluta de secreción de insulina. El límite superior de 110 mg/dl en la glucosa plasmática de ayuno se designa como el límite superior de la glucosa sanguínea normal. El tipo 1 constituye sólo 10 a 20% de toda la diabetes y, por lo general, ocurre en la niñez y la adolescencia. Esta enfermedad se inicia normalmente por un factor ambiental o infección (por lo regular un virus) en individuos con predisposición genética y causa la destrucción inmune de las células β del páncreas y, por tanto, una producción reducida de insulina. Las características de la diabetes tipo 1 incluyen inicio abrupto, dependencia de insulina y tendencia a cetoacidosis. El tipo diabético está relacionado de manera genética. Uno o más de los marcadores siguientes se encuentra en 85 a 90% de los individuos con hiperglucemia de ayuno: autoanticuerpos de las células de los islotes, autoanticuerpos de insulina, autoanticuerpos de descarboxilasa de ácido glutámico y anticuerpos de fosfatasa de tirosina IA-2, IA-2B.

Los signos y síntomas incluyen polidipsia (sed excesiva), polifagia (mayor ingestión de alimentos), poliuria (producción excesiva de orina), pérdida rápida de peso, hiperventilación, confusión mental y posible pérdida de la conciencia (debido a mayor cantidad de glucosa para el cerebro). Entre las complicaciones están los problemas microvasculares como nefropatía, neuropatía y retinopatía. Una mayor cardiopatía también se encuentra en pacientes con diabetes. En el cuadro 11-4 se listan los hallazgos de laboratorio en la hiperglucemia. La *diabetes idiopática tipo 1* es una forma de diabetes tipo 1 que no tiene causas conocidas, depende mucho de la herencia y no tiene autoinmunidad de células β . Los individuos con esta forma de diabetes tienen requisitos episódicos para reemplazo de insulina.

La *diabetes mellitus tipo 2* se caracteriza por hiperglucemia como resultado de la resistencia de un individuo a la insulina con un defecto secretorio de insulina. Esta

CUADRO 11-3. CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES MELLITUS

	PATOGÉNESIS
Tipo 1	Destrucción de células β Deficiencia de insulina absoluta Autoanticuerpos <ul style="list-style-type: none"> • Autoanticuerpos de células de los islotes • Autoanticuerpos de insulina • Autoanticuerpos de descarboxilasa de ácido glutámico • Autoanticuerpos IA-2 y IA-2B de fosfatasa de tirosina
Tipo 2	Resistencia a la insulina con un defecto secretorio de insulina Deficiencia de insulina relativa
Otra	Relacionada con condiciones secundarias <ul style="list-style-type: none"> • Defectos genéticos de la función de las células β • Enfermedad pancreática • Enfermedad endocrina • Inducida por fármacos o sustancias químicas • Anormalidades del receptor de insulina • Otros síndromes genéticos
Gestacional	Intolerancia a la glucosa durante el embarazo Debida a cambios metabólicos y hormonales

CUADRO 11-4. HALLAZGOS DE LABORATORIO EN HIPERGLUCEMIA

Concentración alta de glucosa en plasma y orina
Mayor densidad relativa de la orina
Mayor osmolalidad de suero y orina
Cetonas en suero y orina (cetonemia y cetonuria)
pH reducido de sangre y orina (acidosis)
Desequilibrio electrolítico

resistencia origina una deficiencia de insulina relativa no absoluta. El tipo 2 constituye la mayor parte de los casos de diabetes. La mayoría de los pacientes con este tipo de diabetes son obesos o tienen un alto porcentaje de distribución de grasa corporal en la región abdominal. Este tipo de diabetes suele no ser diagnosticada durante muchos años y se relaciona con una fuerte predisposición genética, donde los pacientes con mayor riesgo son los de mayor edad, con obesidad y falta de ejercicio físico. De ordinario, las características incluyen inicio de la enfermedad en la edad adulta y síntomas más leves que en la diabetes tipo 1. Pocas veces se presenta cetoacidosis. Sin embargo, estos pacientes tienen más probabilidades de entrar en un coma hiperosmolar y poseen mayor riesgo de desarrollar complicaciones macro y microvasculares.

Otros tipos específicos de diabetes se relacionan con ciertas condiciones (secundarias), que incluyen defectos genéticos de la función de las células β o acción de la insulina, enfermedad pancreática, enfermedades de origen endocrino, anormalidades de receptores de insulina inducidas por fármacos o compuestos químicos y ciertos síndromes genéticos. Las características y pronóstico de esta forma de diabetes dependen del trastorno primario. La diabetes de la juventud de inicio en la madurez (MODY) es una forma rara de diabetes que es heredada en un modo dominante autosómico.³

La *diabetes mellitus gestacional* (DMG) es “cualquier grado de intolerancia a la glucosa con inicio o primer reconocimiento durante el embarazo”.⁴ Las causas de DMG son cambios metabólicos y hormonales. Las pacientes con

ESTUDIO DE CASO 11-2

Un varón obeso de 58 años de edad con orina frecuente acude a consulta con su médico de atención primaria. Se realizó el siguiente trabajo de laboratorio, y se obtuvieron los siguientes resultados:

Glucosa plasmática casual	225 mg/dl		
Análisis de orina			
Color y apariencia	Pálido/claro	Sangre	Negativo
pH	6.0	Bilirrubina	Negativo
Densidad relativa	1.025	Urobilinógeno	Negativo
Glucosa	2+	Nitritos	Negativo
Cetonas	Negativo	Esterasa de leucocitos	Negativo

Preguntas

1. ¿Cuál es el diagnóstico probable de este paciente?
2. ¿Qué otra prueba(s) se debe realizar para confirmar esto? ¿Cuál es la prueba preferida?
3. Después del diagnóstico, ¿qué prueba(s) se debe llevar a cabo para monitorear esta condición?

ESTUDIO DE CASO 11-3

Un estudiante de 14 años de edad recibe atención de un médico. Sus dolencias principales son fatiga; pérdida de peso; e incremento del apetito, sed, y micción frecuente. Durante las tres a cuatro semanas pasadas ha tenido sed excesiva y orina cada pocas horas. Empezó a levantarse tres a cuatro veces en la noche a orinar. El paciente tiene antecedentes familiares de diabetes mellitus.

Datos de laboratorio

Glucosa plasmática de ayuno	160 mg/dl		
Análisis de orina	Densidad relativa	1.040	
	Glucosa	4+	
	Cetonas	Cantidad moderada	

Preguntas

1. Con base en la información anterior, ¿se puede diagnosticar que este paciente tiene diabetes?
2. ¿Qué pruebas adicionales se pueden realizar para confirmar el diagnóstico?
3. De acuerdo con la *American Diabetes Association*, ¿qué criterios se requieren para el diagnóstico de diabetes?
4. Suponiendo que este paciente tiene diabetes, ¿de qué tipo sería?

DMG con frecuencia vuelven a la normalidad después del parto. Sin embargo, esta enfermedad se relaciona con complicaciones perinatales incrementadas y un mayor riesgo de desarrollar diabetes mellitus en años posteriores. Los infantes que nacen de madres con diabetes tienen mayor riesgo de síndrome de dificultad respiratoria, hipocalcemia e hiperbilirrubinemia. La secreción de insulina fetal es estimulada en el neonato de una madre con diabetes. Sin embargo, cuando nace el infante y se corta el cordón umbilical, se interrumpe de manera abrupta el suministro en exceso del infante, lo cual causa hipoglucemia aguda.

Fisiopatología de la diabetes mellitus

En la diabetes tipo 1 y tipo 2, el individuo tendrá hiperglucemia, que puede ser grave. La glucosuria también puede ocurrir después que se satura el sistema de transporte tubular renal para la glucosa. Esto sucede cuando la concentración de glucosa del plasma excede casi 180 mg/dl en un individuo con función renal y producción de orina normales. A medida que continúa la sobreproducción de glucosa hepática, la concentración de glucosa plasmática se estabiliza en alrededor de 300 a 500 mg/dl (17 a 28 mmol/L). Siempre que se mantenga la producción renal, la excreción de glucosa corresponderá con la sobreproducción, que causa el nivel relativamente estable.

El individuo con diabetes tipo 1 tiene una mayor tendencia a producir cetonas. Los pacientes con diabetes tipo 2 pocas veces generan cetonas, pero en cambio tienen una mayor tendencia a desarrollar estados no cetósicos hiperosmolares. Al parecer la diferencia en las concentraciones de glucagon e insulina en estos dos grupos causa la generación de cetonas a través de la oxidación β incrementada. En el tipo 1, hay ausencia de insulina con un exceso de glucagon. Esto permite que ocurran la gluconeogénesis y la lipólisis. En el tipo 2, la insulina está presente como tal (a veces) en la hiperinsulinemia; por tanto, el glucagon está atenuado. En el tipo 2 se inhibe la oxidación de ácidos grasos. Esto causa que los ácidos grasos se incorporen en los triglicéridos para liberación como lipoproteínas de muy baja densidad.

Los hallazgos de laboratorio de un paciente con diabetes o cetoacidosis tienden a reflejar deshidratación, alteración de electrolitos y acidosis. El acetoacetato, el β -hidroxibutirato y la cetona se producen de la oxidación de ácidos grasos. Los dos primeros cuerpos cetónicos contribuyen a la acidosis. El lactato, ácidos grasos y otros ácidos orgánicos también pueden contribuir en menor grado. De ordinario, las concentraciones de bicarbonato y dióxido de carbono total son bajas debido a la respiración de Kussmaul-Kien (respiraciones profundas). Éste es un mecanismo de compensación para expulsar dióxido de carbono y eliminar iones hidrógeno en el proceso. El intervalo aniónico en esta acidosis puede exceder 16 mmol/L. La osmolaridad sérica es alta como resultado de hiperglucemia; las concentraciones de sodio tienden a ser más bajas en parte debido a las pérdidas (poliuria) y en parte a un cambio de agua de las células como resultado de la hiperglucemia. El valor del sodio no se debe subestimar falsamente como

resultado de la hipertrigliceridemia. La concentración de triglicéridos incrementada en demasía desplazará al volumen plasmático y dará la apariencia de una menor cantidad de electrolitos cuando se empleen fotometría de flama o electrodos específicos de iones, prediluidos, para determinaciones de sodio. La hiperpotasemia casi siempre está presente como resultado del desplazamiento de potasio de las células en la acidosis. Esto es un poco engañoso porque por lo general la concentración de potasio en el cuerpo del paciente es baja.

Más representativo del paciente con diabetes tipo 2 sin tratamiento es el estado hiperosmolar no cetósico. El individuo que presenta este síndrome tiene una sobreproducción de glucosa; sin embargo, al parecer hay un desequilibrio entre producción y eliminación en la orina. Con frecuencia, este estado es precipitado por cardiopatía, accidente cerebrovascular o pancreatitis. Las concentraciones de glucosa exceden los 300 a 500 mg/dl (17 a 28 mmol/L) y hay deshidratación intensa. Ésta contribuye a la incapacidad para excretar glucosa en la orina. La mortalidad es alta con esta condición. No se observa presencia de cetonas porque el estado hiperosmolar agudo inhibe la capacidad del glucagon para estimular la lipólisis. Los hallazgos de laboratorio de coma hiperosmolar no cetósico incluyen valores de glucosa plasmática mayores que 1000 mg/dl (55 mmol/L), concentraciones normales o altas de sodio y potasio en el plasma, concentración un poco baja de bicarbonato, concentraciones altas de nitrógeno ureico sanguíneo (NUS) y creatinina e incremento de la osmolaridad. El aumento total de glucosa y osmolaridad, el incremento de NUS y la ausencia de cetonas distinguen a esta condición de la cetoacidosis diabética.

Otras formas de metabolismo dañado de la glucosa que no satisfacen los criterios para diabetes mellitus incluyen glucosa de ayuno alterada e intolerancia a la glucosa. Estas formas se analizan en la siguiente sección.

Criterios para el diagnóstico de la diabetes mellitus

El Comité de Expertos de EUA modificó los criterios de diagnóstico para la diabetes mellitus a fin de permitir la detección oportuna de la enfermedad. Según las recomendaciones de la ADA, los adultos con más de 45 años deben solicitar una medición de la glucosa sanguínea de ayuno cada tres años a menos que la persona esté enterada que tiene diabetes. La prueba se debe realizar a una edad menor o con más frecuencia en persona que muestren:

- Obesidad (120% del peso corporal deseable o índice de masa corporal [IMC] de 27 kg/m²).
- Antecedentes familiares de diabetes en un pariente de primer grado.
- Pertenencia a una población minoritaria de alto riesgo (p. ej., afroestadounidense, hispanoamericano, nativo americano o asiaestadounidense).
- Antecedentes de DMG o dar a luz un bebé >4.1 kg.
- Hipertensión (>140/90)
- Concentraciones bajas de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (p. ej., <35 mg/dl)

CUADRO 11-5. CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO PARA DIABETES MELLITUS

1. Glucosa plasmática aleatoria ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/L) + síntomas de diabetes
2. Glucosa plasmática de ayuno ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/L)
3. Glucosa plasmática de dos horas ≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/L) durante una POTG

Se deben confirmar tres criterios cualesquiera en un día posterior por cualquiera de los tres métodos.

- Concentraciones altas de triglicéridos (como >250 mg/dl)
- Antecedentes de glucosa de ayuno alterada e intolerancia a la glucosa

Los criterios listados en los cuadros 11-5, 11-6 y 11-7 sugieren tres métodos de diagnóstico, cada uno de los cuales se debe confirmar en un día posterior mediante cualquiera de los tres métodos. Estos métodos son a) síntomas de diabetes más una concentración plasmática aleatoria ≥ 200 mg/dl, b) glucosa plasmática de ayuno ≥ 126 mg/dl o c) una prueba oral de tolerancia a la glucosa (POTG) con una concentración de poscarga de 2 h (carga de glucosa de 75 g) ≥ 200 mg/dl. La prueba preferida para diagnóstico de diabetes es la medición de la concentración de glucosa plasmática en ayuno.

Mediante dos métodos se definió un grupo intermedio que no cumplió con los criterios de diabetes mellitus pero que tuvo concentraciones de glucosa arriba de lo normal. Primero, a los pacientes con concentraciones de glucosa de ayuno ≥ 110 mg/dl pero <126 mg/dl se les

CUADRO 11-6. CATEGORÍAS DE GLUCOSA PLASMÁTICA DE AYUNO

Glucosa de ayuno normal	GSA <110 mg/dl
Glucosa de ayuno alterada	GSA ≥ 110 mg/dl y <126 mg/dl
Diagnóstico provisional de diabetes	GSA ≥ 126 mg/dl

CUADRO 11-7. CATEGORÍAS DE TOLERANCIA DE GLUCOSA ORAL

Tolerancia a la glucosa normal	GP de 2 h <140 mg/dL
Tolerancia a la glucosa deteriorada	GP de 2 h ≥ 140 mg/dL y <200 mg/dL
Diagnóstico provisional de diabetes	GP de 2 h ≥ 200 mg/dL

asignó el nombre de grupo con glucosa de ayuno alterada. Otro conjunto de pacientes que tuvieron concentraciones de POTG de 2 h ≥ 140 mg/dl pero <200 mg/dl se definió como intolerancia a la glucosa.

Los criterios de diagnóstico para diabetes gestacional siguen las normas establecidas por el *American College of Obstetrics and Gynecology*. La detección de DMG es sólo para pacientes de alto riesgo. Los criterios para mujeres en riesgo alto son cualquiera de los siguientes: edad de más de 25 años; sobrepeso; antecedentes familiares de diabetes; o bien ser afroestadounidense, hispanoamericana o nativa americana. Las pruebas de detección incluyen la medición de glucosa plasmática una hora después de la carga (carga de 50 g de glucosa). Si el valor es ≥ 140 mg/dl

ESTUDIO DE CASO 11-4

Una adolescente de 13 años de edad sufre un colapso en el patio de la escuela. Cuando se contacta a la madre, menciona que su hija ha estado perdiendo peso y que va con frecuencia al baño durante la noche. La brigada de rescate notó un aliento con olor a frutas. Al ingresar al departamento de urgencias sus signos vitales fueron los siguientes:

Presión arterial	98/50
Respiraciones	Rápidas
Temperatura	37.2°C

Los resultados del laboratorio incluyeron

ORINA ALEATORIA		QUÍMICA DEL SUERO	
pH	5.5	Glucosa	500 mg/dl
Proteína	Negativo	Cetonas	Positivo
Glucosa	4+	NUS	6 mg/dl
Cetonas	Moderada	Creatinina	0.4 mg/dl
Sangre	Negativo		

Preguntas

1. Identifique el tipo más probable de diabetes de esta paciente.
2. Con base en su identificación, circule las características más comunes relacionadas con el tipo de diabetes en el estudio de caso anterior.
3. ¿Cuál es la causa de aliento con olor a frutas?

(7.8 mmol/dl), entonces es necesario llevar a cabo una POTG con una carga de 100 g de glucosa. La DMG se diagnostica cuando se satisfacen o exceden dos de los cuatro valores siguientes: ayuno, >105 mg/dl, 1 hora, <190 mg/dl; 2 horas, ≥ 165 mg/dl; o 3 h, ≥ 145 mg/dl.

HIPOGLUCEMIA

La hipoglucemia tiene que ver con concentraciones reducidas de glucosa plasmática y puede tener muchas causas—algunas son transitorias y relativamente insignificantes; otras pueden ser una amenaza para la vida. La concentración de glucosa plasmática a la que se liberan glucagon y otros factores glucémicos está entre 65 y 70 mg/dl (3.6 a 3.9 mmol/L); en cerca de 50 a 55 mg/dl (2.8 a 3.0 mmol/L), aparecen síntomas observables de hipoglucemia. Los signos y síntomas de advertencia de hipoglucemia están relacionados con el sistema nervioso. La liberación de adrenalina hacia la circulación sistémica y noradrenalina en las terminales nerviosas de neuronas específicas actúan junto con el glucagon para incrementar la glucosa plasmática. El glucagon se libera de las células de los islotes del páncreas e inhibe a la insulina. La adrenalina se libera de la glándula suprarrenal e incrementa el metabolismo de la glucosa e inhibe a la insulina. Además, el cortisol y la hormona del crecimiento se liberan e incrementan el metabolismo de la glucosa.

Históricamente, la hipoglucemia se clasificó como posabsortiva (de ayuno) y posprandial (reactiva). Sin embargo, la hipoglucemia reactiva sólo describía el momento de la hipoglucemia, no la causa. Los enfoques actuales hacen pensar en una clasificación con base en las características clínicas. Esta clasificación separa a los pacientes en los que parecen estar saludables y los que están enfermos

(cuadro 11-8).⁵ Entre los pacientes que en apariencia son saludables, están aquéllos con una enfermedad coexistente compensada o sin ella. En esta categoría se incluye a individuos en los que las medicaciones pueden ser la causa de la hipoglucemia por ingestión incidental a causa de error de dispensación. Es posible que las personas enfermas tengan una enfermedad que predispone a hipoglucemia, o bien pueden experimentar interacción entre el fármaco y la enfermedad que origina hipoglucemia. La hipoglucemia en pacientes hospitalizados se puede adscribir a factores yatrogénicos. Los síntomas de hipoglucemia son mucha hambre, sudación, náusea y vómito, mareo, nerviosismo y agitación, habla titubeante y visión borrosa y confusión mental. Los hallazgos de laboratorio incluyen concentraciones bajas de glucosa plasmática durante el episodio

CUADRO 11-8. CAUSAS DE HIPOGLUCEMIA

El paciente parece saludable

Enfermedad no coexistente	Fármacos
	Insulinoma
	Hiperplasia de los islotes/nesidioblastosis
	Hipoglucemia facticial de insulina o sulfonilurea
	Hipoglucemia cetósica

Enfermedad coexistente compensada	Fármacos
-----------------------------------	----------

El paciente parece enfermo

Fármacos
Enfermedad predisponentes
Paciente hospitalizado

ESTUDIO DE CASO 11-5

Una mujer de 28 años de edad da a luz a un infante de 4.3 kg. El peso y longitud del infante estuvieron arriba del percentil 95. La historia de la madre fue incompleta; afirmó no haber tenido atención médica durante su embarazo. Poco después del nacimiento, el infante se volvió letárgico y flácido. En la enfermería se realizó un análisis de glucosa sanguínea completa y de calcio ionizado con los siguientes resultados:

Glucosa sanguínea completa	25 mg/dl
Calcio ionizado	4.9 mg/dl

Se extrajo glucosa plasmática y se analizó en el laboratorio principal para confirmar los hallazgos de sangre completa.

Glucosa plasmática	33 mg/dl
--------------------	----------

Se inició una disolución de glucosa intravenosa, y se midió cada hora la glucosa sanguínea completa.

Preguntas

1. Dé la explicación posible para el gran peso y tamaño del infante al nacer.
2. Si la madre fuera una persona con diabetes gestacional, ¿por qué su bebé fue hipoglucémico?
3. ¿Por qué hubo discrepancia entre la concentración de sangre completa y la de glucosa plasmática?
4. Si la madre hubiera sido monitoreada durante el embarazo, ¿qué pruebas de laboratorio debieron haber sido realizadas, y qué criterios habrían indicado que tenía diabetes gestacional?

ESTUDIO DE CASO 11-6

Se realizaron pruebas de laboratorio en una mujer caucásica, delgada, de 50 años de edad durante un examen físico anual. Ella no tiene antecedentes de diabetes, y tampoco se conoce que haya tenido concentraciones altas de glucosa durante sus embarazos.

Resultados de laboratorio

Glucosa sanguínea de ayuno (GSA)	90 mg/dl
Colesterol	140 mg/dl
HDL	40 mg/dl
Triglicéridos	90 mg/dl

hipoglucémico y concentraciones altas de insulina en pacientes con tumores pancreáticos de células β (insulinoma). Para investigar un insulinoma, se requiere que el paciente ayune en condiciones controladas. Los varones y las mujeres tienen diferentes patrones metabólicos en ayunos prolongados. El varón saludable mantendrá una concentración de glucosa plasmática de 50 a 60 mg/dl (3.1 a 3.3 mmol/L) durante varios días. Las mujeres saludables producirán cetonas con más facilidad y permitirán que la glucosa plasmática disminuya a 40 mg/dl (2.2 mmol/L) o menos. Los criterios de diagnóstico para un insulinoma incluyen un cambio en la concentración de glucosa mayor o igual que 25 mg/dl (1.4 mmol/L) coincidente con una concentración de insulina $\geq 6 \mu\text{U/ml}$ (36 pmol/L), concentraciones de péptido C $\geq 0.2 \text{ nmol/L}$; concentraciones de proinsulina $\geq 5 \text{ pmol/L}$, y/o concentraciones de β -hidroxibutirato $\leq 2.7 \text{ mmol/L}$.⁶

Defectos genéticos en el metabolismo de carbohidratos

Las enfermedades de almacenamiento de glucógeno son resultado de la deficiencia de una enzima específica que causa una alternancia del metabolismo del glucógeno. La forma congénita más común de enfermedad por almacenamiento de glucógeno es la deficiencia tipo 1 de glucosa-6-fosfatasa, que se llama también enfermedad de von Gierke, una enfermedad recesiva autosómica. Esta enfermedad se caracteriza por hipoglucemia grave que coincide con acidosis metabólica, cetonemia y concentraciones altas de lactato y alanina. La hipoglucemia ocurre porque el glucógeno no se puede convertir de nuevo a glucosa por medio de la gluconeogénesis hepática. En el hígado se halla una acumulación de glucógeno, que causa hepatomegalia. Por lo general, los pacientes tienen hipoglucemia, hiperlipidemia, uricemia y retardo del crecimiento graves. Una biopsia hepática mostrará una tinción de glucógeno positiva. Aunque la acumulación de glucógeno es irreversible, se puede tener bajo control la enfermedad si se evita el desarrollo de hipoglucemia. El trasplante de hígado corrige la condición hipoglucémica. La deficiencia de enzimas como sintasa de

Preguntas

1. ¿Cuál es el diagnóstico probable de esta paciente?
2. Describa el seguimiento adecuado para esta paciente.
3. ¿Cuál es la prueba de detección preferida para diabetes en mujeres adultas no embarazadas?
4. ¿Cuáles son los factores de riesgo que indicarían la posibilidad de que esta paciente desarrollara diabetes?

glucógeno, fructosa-1,6-bisfosfatasa, carboxicinas de fosfoenolpiruvato y carboxilasa de piruvato causan hipoglucemia. La deficiencia de enzima desramificante de glucógeno no causa hipoglucemia pero causa hepatomegalia.

La *galactosemia*, una causa de síndrome de retraso del desarrollo en infantes, es una deficiencia congénita de una de las tres enzimas que intervienen en el metabolismo de la galactosa, y da como resultado un incremento de las concentraciones de galactosa en el plasma. La deficiencia de enzima más común es la transferasa de uridilo galactosa-1-fosfato. La galactosemia ocurre como resultado de la inhibición de glucogenólisis y va acompañada de diarrea y vómito. La galactosa se debe eliminar de la dieta para evitar el desarrollo de complicaciones irreversibles. Si se deja sin tratamiento, el paciente desarrollará retraso mental y cataratas. El trastorno se puede identificar midiendo la actividad de la galactosa-1-fosfato uridiltransferasa en los eritrocitos. Los hallazgos de laboratorio incluyen hipoglucemia, hiperbilirrubinemia y acumulación de galactosa en la sangre, tejido y orina después de la ingestión de leche. Otra deficiencia de enzima, fructosa-1-fosfato aldolasa, causa náusea e hiperglucemia después de la ingestión de fructosa.

Los errores innatos específicos del metabolismo de aminoácidos y la oxidación de ácidos grasos de cadena larga son también causa de hipoglucemia. Asimismo, hay hipoglucemias alimentarias e idiopáticas. La hipoglucemia alimentaria al parecer es causada por un incremento en la liberación de insulina en respuesta a absorción rápida de nutrientes después de una comida o la secreción rápida de factores gástricos que liberan insulina. La hipoglucemia posprandial idiopática es un diagnóstico controversial que es posible que se emplee demasiado.⁷

FUNCIÓN DEL LABORATORIO EN EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL Y EL TRATAMIENTO DE PACIENTES CON ALTERACIONES METABÓLICAS DE LA GLUCOSA

La demostración de hiperglucemia o hipoglucemia en condiciones específicas se emplea para diagnosticar diabetes y condiciones hipoglucémicas. Se han desarrollado

ESTUDIO DE CASO 11-7

Durante tres meses consecutivos una paciente fue sometida a exámenes de glucosa en ayuno y hemoglobina glucosilada. Los resultados son los siguientes:

	PRIMER TRIMESTRE	SEGUNDO TRIMESTRE	TERCER TRIMESTRE
Glucosa en ayuno (GSA)	280 mg/dl	85 mg/dl	91 mg/dl
Hgb glucosilada	7.8%	15.3%	8.5%

Hgb = hemoglobina.

Preguntas

1. ¿En qué trimestre estuvo mejor controlada la glucosa del paciente? ¿En cuál trimestre el control fue mínimo?
2. ¿Concuerdan la GSA y la Hgb glucosilada? ¿Por qué sí o por qué no?
3. ¿Qué métodos se emplean para medir la hemoglobina glucosilada?
4. ¿Qué condiciones potenciales podrían causar resultados erróneos?

otras pruebas de laboratorio para identificar insulinomas y monitorear el control glucémico y el desarrollo de complicaciones renales.

Métodos de medición de glucosa

La glucosa se puede medir del suero, plasma o sangre completa. En la actualidad, la mayor parte de las mediciones de glucosa se realizan en suero o plasma. La concentración de glucosa en sangre completa es alrededor de 15% más baja que la concentración de glucosa en suero o plasma. El suero o el plasma se deben refrigerar y separar de las células en el plazo de una hora para evitar la pérdida sustancial de glucosa por fraccionamiento celular, en particular si es alta la cuenta de leucocitos. Se emplean iones de fluoruro de sodio como anticoagulante y conservador de sangre completa, en particular si se retrasa el análisis. El fluoruro inhibe las enzimas glucolíticas. La glucosa sanguínea de ayuno (GSA) se debe obtener después de un ayuno de casi 10 horas (no >16 h). El líquido cefalorraquídeo y la orina también se pueden analizar. La medición de glucosa en la orina no se emplea en el diagnóstico de la diabetes; sin embargo, algunos pacientes usan esta medición para propósitos de monitoreo.

La capacidad de la glucosa para funcionar como un agente reductor ha sido útil en la detección y cuantificación de carbohidratos en líquidos corporales. La glucosa y otros carbohidratos son capaces de convertir los iones cúpricos en disolución alcalina a iones cuprosos. La disolución pierde su color azul intenso y se forma un precipitado rojo de óxido cuproso. Los reactivos de Benedict y Fehling, que contienen una disolución alcalina de iones cúpricos estabilizados por citrato o tartrato, respectivamente, han sido utilizados para detectar agentes reductores en la orina y otros líquidos corporales. Otra característica química que se aprovecha para cuantificar carbohidratos es la capacidad de estas moléculas para formar bases de Schiff con aminas aromáticas. La O-toluidina en una disolución ácida caliente producirá un compuesto coloreado con una absorbancia máxima a 630 nm. La galactosa, una

aldohexosa, y la manosa, una aldopentosa, reaccionarán también con O-toluidina y producirán un compuesto coloreado que puede interferir con la reacción. La reacción de base de Schiff con O-toluidina es sólo de interés histórico y ha sido reemplazada por métodos enzimáticos más específicos, que se analizan en la siguiente sección.

En los métodos más comunes de análisis de glucosa se emplean las enzimas oxidasa de glucosa o hexocinasa (cuadro 11-9). La oxidasa de glucosa es la enzima más específica que reacciona sólo con β -D-glucosa. La oxidasa de glucosa convierte a la β -D-glucosa en ácido glucónico. La mutarrotasa se puede añadir a la reacción para facilitar la conversión α -D-glucosa en β -D-glucosa. Se consume oxígeno y se produce peróxido de hidrógeno. La reacción se puede monitorear polarográficamente ya sea midiendo la tasa de desaparición de oxígeno con un electrodo de oxígeno o consumiendo peróxido de hidrógeno en una reacción secundaria. La peroxidasa de rábano se emplea para catalizar la segunda reacción, y el peróxido de hidrógeno se emplea para oxidar un compuesto colorante. Dos cromógenos de uso común son la hidrazona de 3-metil-2-benzotiazolinona y la N,N-dimetilanilina. El cambio de absorbancia se puede monitorear espectrofotométricamente y es proporcional a la cantidad de glucosa presente en la muestra. Esta reacción acoplada se conoce como *reacción de Trinder*. Sin embargo, la reacción de acoplamiento de peroxidasa empleada en el método de oxidasa de glucosa está sujeta a interferencia positiva y negativa. Las concentraciones altas de ácido úrico, bilirrubina y ácido ascórbico pueden causar valores reducidos falsos como resultado de que la peroxidasa oxida a estas sustancias, lo que evita la oxidación y detección de cromógeno. Las sustancias oxidantes fuertes, como el blanqueador, causan valores altos falsos. Se puede usar un electrodo de consumo de oxígeno para efectuar una medición directa de oxígeno mediante la técnica polarográfica, que evita esta interferencia. Se mide el agotamiento de oxígeno y es proporcional a la cantidad de glucosa presente. Los analizadores polarográficos de glucosa miden la tasa de consumo de oxígeno porque la glucosa se oxida en condiciones de

CUADRO 11-9. MÉTODOS DE MEDICIÓN DE GLUCOSA

Oxidato de glucosa	$\text{Glucosa} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{oxidasa de glucosa}} \text{ácido glucónico} + \text{H}_2\text{O}_2$
	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{cromógeno reducido} \xrightarrow{\text{peroxidasa}} \text{cromógeno oxidado} + \text{H}_2\text{O}$
Hexocinasa	$\text{Glucosa} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{hexocinasa}} \text{glucosa 6-PO}_4 + \text{ADP}$
	$\text{Glucosa 6-PO}_4 + \text{NADP} \xrightarrow{\text{G-6-PD}} \text{NADPH} + \text{H}^+ + \text{6-fosfogluconato}$
Clinitest	$\text{Sustancia reductora} + \text{Cu}^{+2} \longrightarrow \text{Cu}^{+1}\text{O}$

primer orden con el reactivo oxidasa de glucosa. El H_2O_2 formado se debe eliminar en una reacción lateral para evitar la reacción inversa. El molibdato se puede usar para catalizar la oxidación del yoduro a yodo con H_2O_2 , o se puede usar la catalasa para catalizar la oxidación de etanol con H_2O_2 para formar acetaldehído y H_2O .

Se considera que el método de hexocinasa es más exacto que los métodos de oxidasa de glucosa porque la reacción de acoplamiento con deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato es muy específica; por tanto, tiene menos interferencia que el procedimiento de oxidasa de glucosa. La hexocinasa en presencia de ATP convierte a la glucosa en glucosa 6-fosfato. La glucosa 6-fosfato y el cofactor NADP^+ se convierten a 6-fosfogluconato y NADPH mediante la deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato. El NADPH tiene un máximo de absorbancia fuerte a 340 nm; la tasa de aparición del NADPH se puede monitorear por medio de un espectrofotómetro y es proporcional a la cantidad de glucosa presente en la muestra. Aceptado en general como método de referencia, este método no es afectado por el ácido ascórbico o el ácido úrico. La hemólisis total y la concentración extremadamente alta de bilirrubina puede causar una disminución falsa en los resultados. El método de la hexocinasa se puede llevar a cabo en suero o plasma recolectado con heparina, ácido etilendiaminotetracético (EDTA), fluoruro, oxalato o citrato. El método se puede usar también para orina, líquido cefalorraquídeo y líquidos serosos.

Los métodos no específicos de medición de glucosa aún se usan en la sección de análisis de orina del laboratorio sobre todo para detectar sustancias reductoras distintas a la glucosa. El método siguiente es una modificación de Benedict, llamada también reacción *Clinitest*.

Automonitoreo de glucosa sanguínea (AMGS)

La ADA ha recomendado que individuos con diabetes deben automonitorear sus concentraciones de glucosa sanguínea en un esfuerzo por mantener las concentraciones lo más normal posible. Para personas con diabetes tipo 1, la recomendación es 3 a 4 veces/día; para personas con diabetes tipo 2, se desconoce la frecuencia óptima. Es importante enseñar a los pacientes cómo usar disoluciones de control y calibradores para asegurar la exactitud de sus resultados.⁹ La prueba de glucosa en orina se debe reemplazar por el AMGS; sin embargo, la prueba de cetona en orina se conserva para la diabetes tipo 1 y gestacional.

Tolerancia a la glucosa y pruebas posprandiales de dos horas

Las normas para el desempeño e interpretación de la *prueba posprandial de 2 h* las estableció el Comité de Expertos. Una variación de esta prueba es usar una carga estandarizada de glucosa. Se administra una disolución que contiene 75 g de glucosa, y 2 h después se extrae una muestra

ESTUDIO DE CASO 11-8

Una paciente saludable de 25 años de edad se queja de mareo y sacudidas una hora después de ingerir una gran comida con alto contenido de carbohidratos. El resultado de una prueba aleatoria de glucosa efectuada vía una punción de digital fue 60 mg/dl.

Preguntas

1. Identifique las características de la hipoglucemia en este estudio de caso.
2. ¿Qué prueba(s) se debe efectuar a continuación para determinar el problema de esta joven?
3. ¿En qué categoría de hipoglucemia se incluiría a esta persona?
4. ¿Qué criterios se emplearían para diagnosticar un posible insulinoma?

para medición de glucosa plasmática. Bajo estos criterios, el paciente bebe una carga de glucosa estandarizada (75 g) y dos horas después se toma una medición de glucosa. Si la concentración es ≥ 200 mg/dl y se confirma en un día posterior ya sea mediante una concentración aleatoria incrementada o de glucosa de ayuno, el diagnóstico para el paciente es de diabetes (véase la explicación anterior).

La *prueba oral de tolerancia a la glucosa (POTG)* no se recomienda para uso rutinario bajo las normas de la ADA. Este procedimiento es inconveniente para pacientes, y los médicos no lo usan para diagnosticar diabetes. Sin embargo, si se usa la POTG, la OMS recomienda los criterios listados en el cuadro 11-7. Es importante que se prepare de manera adecuada al paciente antes de efectuar la prueba. El paciente debe estar en ayuno durante por lo menos 10 horas y no más de 16, y la prueba se debe realizar en la mañana debido al efecto diurno hormonal sobre la glucosa. Justo antes de la tolerancia y mientras la prueba está en progreso, los pacientes deben evitar hacer ejercicio, comer, beber (excepto que el paciente pueda tomar agua) y fumar. Los factores que afectan los resultados de tolerancia incluyen medicaciones como dosis grandes de salicilatos, diuréticos, anticonvulsivos, anticonceptivos orales y corticosteroides. Asimismo, los problemas gastrointestinales como problemas de malabsorción, cirugía gastrointestinal y vómito y disfunciones endocrinas pueden afectar los resultados de la POTG. Las normas recomiendan que sólo se midan la muestra de ayuno y la de dos horas, excepto cuando se trata de una embarazada. La dosis de adulto de la disolución de glucosa (glucola) es 75 g; los niños reciben 1.75 g/kg de glucosa hasta una dosis máxima de 75 g.

Hemoglobina glucosilada

El objetivo del tratamiento del paciente diabético es mantener la concentración de glucosa sanguínea con un número mínimo de fluctuaciones. Un laboratorio puede medir las concentraciones de glucosa sérica y plasmática; además, el paciente puede automonitorear las concentraciones de glucosa sanguínea completa. La regulación de glucosa sanguínea de largo plazo se puede seguir mediante la medición de hemoglobinas glucosiladas.

Hemoglobina glucosilada es el término empleado para describir la formación de un compuesto de hemoglobina que se conjunta cuando la glucosa (un azúcar reductor) reacciona con el grupo amino de la hemoglobina (una proteína). La molécula de glucosa se une de manera no enzimática a la molécula de hemoglobina en una estructura de cetamina para formar una cetamina. La tasa de formación es directamente proporcional a las concentraciones de glucosa plasmática. Debido a que los eritrocitos promedio viven casi 120 días, la concentración de hemoglobina glucosilada en cualquier momento refleja la concentración de glucosa sanguínea promedio en los 2 a 3 meses previos. Por tanto, la medición de hemoglobina glucosilada provee al especialista clínico una representación de tiempo promedio de la concentración de glucosa sanguínea del paciente en los tres meses pasados. La hemo-

globina (HbA_{1c}), la hemoglobina glucosilada detectada con más frecuencia, es una molécula de glucosa unida a una o ambas valinas N terminales de las cadenas de β -polipéptido de la hemoglobina de adulto normal.¹⁰ La HbA_{1c} es un método confiable para monitorear el control de la diabetes de largo plazo en vez de la glucosa plasmática aleatoria. Los valores normales van de 4.5 a 8.0. Con un modelo de regresión lineal, Rohlfing y col., determinaron que por cada cambio de 1% en el valor de HbA_{1c} , hay un cambio de 35 mg/dl (2 mmol/L) en la glucosa plasmática promedio (cuadro 11-10).¹¹ Recuerde que dos factores determinan las concentraciones de hemoglobina glucosilada: la concentración de glucosa promedio y el lapso de vida de los eritrocitos. Si se reduce el lapso de vida de los eritrocitos debido a otro estado morboso como las hemoglobinopatías, la hemoglobina tendrá menos tiempo para glucosilarse y, por tanto, será menor la concentración de hemoglobina glucosilada.

El requisito de muestra para medición de HbA_{1c} es una muestra de sangre completa con EDTA. Antes del análisis se debe preparar un hemolisato. Los métodos de medición se agrupan en dos categorías principales: a) con base en las diferencias de carga entre la hemoglobina glucosilada y la monoglucosilada y b) características estructurales de glucogrupos en la hemoglobina (cromatografía de afinidad e inmunoensayo). No hay consenso sobre el método de referencia y ningún estándar simple disponible que se usará en los ensayos. Como resultado de esto, los valores de HbA_{1c} varían con el método y el laboratorio que los realiza (cuadro 11-11).

La cromatografía de afinidad es el método de medición preferido. En este método, la hemoglobina glucosilada se une al grupo boronato de la resina y se eluye de modo selectivo de la cama de resina con una disolución amortiguadora. Este método no depende de la temperatura y no es afectado por hemoglobina F, S o C. Otro método de medición emplea cromatografía de intercambio catiónico en el que las hemoglobinas con carga negativa se unen a

CUADRO 11-10. CORRELACIÓN ESTIMADA ENTRE CONCENTRACIONES PROMEDIO DE GLUCOSA PLASMÁTICA Y DE A_{1c} ¹⁰

GLUCOSA PLASMÁTICA MEDIA	A_{1c} (%)
65 mg/dl (3.5 mmol/L)	4
100 mg/dl (5.5 mmol/L)	5
135 mg/dl (7.5 mmol/L)	6
170 mg/dl (9.5 mmol/L)	7
205 mg/dl (11.5 mmol/L)	8
240 mg/dl (13.5 mmol/L)	9
275 mg/dl (15.5 mmol/L)	10
310 mg/dl (17.5 mmol/L)	11
345 mg/dl (19.5 mmol/L)	12

CUADRO 11-11. MÉTODOS DE MEDICIÓN DE HEMOGLOBINA GLUCOSILADA

Métodos basados en diferencias estructurales		
Inmunoensayos	Anticuerpos policlonales o monoclonales hacia el grupo N terminal glucosilado de la cadena β de Hgb	
Cromatografía de afinidad	Separa con base en la estructura química usando borato para enlazar proteínas glucosiladas	No depende de la temperatura No es afectada por otras hemoglobinas
Métodos basados en diferencias de carga		
Cromatografía de intercambio iónico	Cama de resina con carga positiva	Muy dependiente de la temperatura Afectada por hemoglobinopatías
Electroforesis	La separación se basa en diferencias de carga	Interfieren valores de Hgb F >7%
Enfoque isoeléctrico	Tipo de electroforesis con punto isoeléctrico para separar	Interfiere con pre-Hgb A _{1c}
Cromatografía líquida de alta presión (CLAP)	Una forma de cromatografía de intercambio iónico	Separa todas las formas de gluco Hgb: A _{1a} , A _{1b} , A _{1c}

Hgb = hemoglobina.

la cama de resina cargada positivamente. La hemoglobina glucosilada se eluye de modo selectivo de la cama de resina con una disolución amortiguadora de pH específico en la que las glucohemoglobinas son las que tienen más carga negativa y eluyen primero de la columna. Sin embargo, este método depende mucho de la temperatura y es afectado por hemoglobinopatías. La presencia de hemoglobina F produce concentraciones incrementadas falsas, y la de hemoglobinas S y C produce concentraciones reducidas falsas. La cromatografía líquida de alta presión y los métodos de electroforesis se emplean también para separar varias formas de hemoglobina. Con la cromatografía líquida de alta presión, se pueden separar todas las formas de hemoglobina glucosilada, A_{1a}, A_{1b}, A_{1c}.

Cetonas

A través del metabolismo de ácidos grasos el hígado produce cuerpos cetónicos para proveer una fuente de energía de lípidos almacenados a veces de baja disponibilidad de carbohidratos. Los tres cuerpos cetónicos son acetona (2%), ácido acetoacético (20%) y ácido 3-β-hidroxibutírico (78%). Una concentración baja de cuerpos cetónicos está presente en el cuerpo todo el tiempo. Sin embargo, en casos de falta o uso reducido de carbohidratos como en la diabetes mellitus, inanición o ayuno, dietas con alto contenido de grasas, vómito prolongado y enfermedad de

almacenamiento de glucógeno, las concentraciones sanguíneas se incrementan para satisfacer las necesidades energéticas. El término *ketonemia* se refiere a la acumulación de cetonas en la sangre, y el término *cetonuria* a la acumulación de cetonas en la orina (fig. 11-9). La medición de cetonas se recomienda para pacientes con diabetes tipo 1 durante enfermedad aguda, estrés, embarazo, concentraciones de glucosa sanguínea arriba de 300 mg/dl, o cuando el paciente tiene signos de cetoacidosis.

El requisito de muestra es suero u orina recientes; la muestra se debe cerrar herméticamente y analizar de inmediato. Ningún método empleado para la determinación de cetonas reacciona con los tres cuerpos cetónicos. En la prueba histórica (de Gerhard), el cloruro férrico se hacía reaccionar con cloruro férrico para producir un color rojo. El procedimiento tenía muchas sustancias interferentes, incluso salicilatos. En un método más común, el nitroprusiato de sodio (NaFe[CN]₅NO) reacciona con ácido actoacético en un pH alcalino para formar un color púrpura. Si el reactivo contiene glicerina, entonces se detecta acetona. Este método se emplea con la prueba de tira reactiva para orina y tabletas Acetest. Un método enzimático más reciente adaptado a algunos instrumentos automatizados emplea la enzima deshidrogenasa de β-hidroxibutirato para detectar ya sea ácido β-hidroxibutírico o ácido acetoacético, dependiendo del pH de la disolución. Un pH de 7.0 hace que la reacción proceda hacia la derecha (la

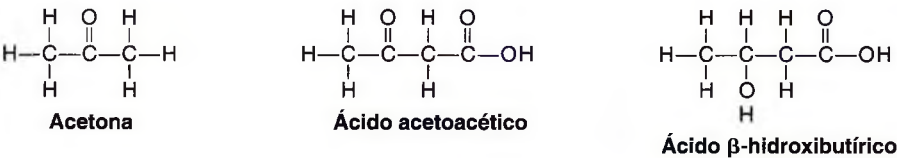


FIGURA 11-9. Los tres cuerpos cetónicos.

CUADRO 11-12. MÉTODOS DE MEDICIÓN DE CETONAS

Nitroprusiato	Ácido acetoacético + nitroprusiato $\xrightarrow{\text{pH alcalino}}$ color púrpura
Enzimático	$\text{NADH} + \text{H}^+ + \text{ácido acetoacético} \xleftarrow{\beta\text{-HBD}} \text{NAD} + \text{ácido } \beta\text{-hidroxibutírico}$

absorbancia disminuye); un pH de 8.5 a 9.5 causa que la reacción proceda a la izquierda (se incrementa la absorbancia, cuadro 11-12).

Microalbuminuria

La diabetes mellitus causa cambios progresivos a los riñones y en última instancia produce nefropatía renal diabética. Esta complicación avanza durante años y es posible retrasarla mediante control glucémico constante. Un primer indicio de la presencia de nefropatía es un incremento de albúmina urinaria. Las mediciones de microalbúmina son útiles para ayudar en el diagnóstico en una etapa inicial y antes del desarrollo de proteinuria. Las concentraciones de albúmina están entre 20 y 300 mg/día.¹² Aunque están disponibles tres métodos para detección de *microalbuminuria*, se recomienda el uso de una recolección de punto aleatoria para la medición de la relación albúmina a creatinina. Las otras dos alternativas, una recolección de 24 h o una programada de 4 h durante la noche, se requiere pocas veces. Se determina que un paciente tiene microalbuminuria cuando dos de tres muestras obtenidas en un periodo de 6 meses son anormales.¹³

Prueba de autoanticuerpo insulínico de los islotes

La presencia de autoanticuerpos para las células de los islotes β del páncreas es característica de la diabetes tipo 1. Sin embargo, la prueba de autoanticuerpos de los islotes no se recomienda en la actualidad para diagnóstico de diabetes. En el futuro, con esta prueba se podría identificar a

pacientes prediabéticos en riesgo. Las mediciones de insulina no se requieren para diagnóstico de diabetes mellitus. Sin embargo, en ciertos estados hipoglucémicos, es importante conocer la concentración de insulina en relación con la concentración de glucosa plasmática.

RESUMEN

Los carbohidratos tienen la fórmula general $\text{C}_x(\text{H}_2\text{O})_n$. La glucosa es una aldohexosa de seis carbonos. Hay 32 isómeros posibles de aldohexosas diferentes con la fórmula química. La glucosa y otros azúcares pueden existir en la forma de cadena abierta o anillo. La forma de cadena abierta permite al carbonilo reducir los reactivos de Benedict y Fehling. La β -D-glucosa es una fuente de energía primaria para los humanos. La energía en la forma de ATP se puede obtener de la glucosa por la vía anaeróbica. La energía adicional se obtiene entonces del producto piruvato cuando pasa por el ciclo de ATC. El sistema nervioso depende sólo de la glucosa para energía en circunstancias normales. Por tanto, es importante mantener la concentración de glucosa dentro de un intervalo normal.

La insulina, producida en las células β del páncreas, capta la glucosa en las células y reduce la glucosa plasmática posprandialmente. La insulina también promueve la glucogenólisis y la síntesis de triglicéridos. El glucagon, producido también en las células β del páncreas, se opone a la acción de la insulina. Tanto el glucagon como la adrenalina incrementan la glucosa plasmática al activar la gluconeogénesis y la glucogenólisis en el hígado. La gluconeogénesis es la formación de glucosa a partir de lactato, aminoácidos, piruvato y glicerol.

La diabetes mellitus se puede clasificar como tipo 1 o tipo 2. El desarrollo de la diabetes tipo 1 al parecer se relaciona en parte con el genotipo de antígeno de leucocito humano (HLA) de un individuo. El tipo 1 también puede tener un componente ambiental que se cree activa una reacción inmune, que conduce a una respuesta autoinmune y causa destrucción de células β . La hiperglucemia no tratada en la diabetes por lo general no es mayor que 500 mg/dl (28 mmol/L) cuando la función renal está presente. La cetoacidosis es más común en el tipo 1; se incrementa la osmolalidad, aumenta la concentración de potasio en el plasma y se reduce un poco el sodio plasmático. La concentración de bicarbonato disminuye en respuesta a la acidosis.

Se piensa que la diabetes tipo 2 también tiene un factor genético. Los individuos con diabetes tipo 2 no tienen destrucción de células β y pueden tener concentraciones

ESTUDIO DE CASO 11-9

Una enfermera que atiende a pacientes con diabetes efectúa una prueba de glucosa por punción digital en monitor de glucosa Accu-Check y obtiene un valor de 200 mg/dl. Una muestra de plasma, recolectada al mismo tiempo por un flebotomista y analizada en el laboratorio produce un valor de glucosa de 225 mg/dl.

Preguntas

1. ¿Estos dos resultados son significativamente distintos?
2. Explique.

de insulina reducidas, normales o incrementadas, pero son resistentes a insulina en el tejido. Hay una tendencia mayor en el tipo 2 hacia coma no cetósico. El tipo 2 se caracteriza por una concentración de glucosa mayor que 600 mg/dl (33 mmol/L) y una ausencia de cetonas. El NUS y la osmolalidad se incrementan y se reduce la producción de orina. La DMG se puede relacionar con el tipo 2. Las tres pruebas definitivas para la diabetes son a) síntomas de diabetes más una concentración de glucosa plasmática aleatoria ≥ 200 mg/dl, b) glucosa plasmática de ayuno ≥ 126 mg/dl o c) una POTG con una concentración de poscarga de 2 h (carga de glucosa de 75 g) ≥ 200 mg/dl. Cualquiera de los tres criterios se debe confirmar en un

día posterior mediante cualquiera de los tres métodos. El monitoreo a largo plazo del paciente con diabetes incluye el automonitoreo de glucosa sanguínea, hemoglobina glucosilada periódica y concentraciones de microalbúmina anuales.

La hipoglucemia se clasifica en la actualidad con base en los síntomas clínicos, con categorías divididas entre pacientes que parecen saludables y los que parecen enfermos. La hipoglucemia neonatal, congénita y cetósica ocurre en los niños. Las formas congénitas de hipoglucemia incluyen la enfermedad de von Gierke. La galactosemia es otra variedad de hipoglucemia congénita relativamente común.

PREGUNTAS DE REPASO

- ¿Cuál de las siguientes hormonas promueve la gluconeogénesis?
 - Hormona del crecimiento.
 - Hidrocortisona.
 - Insulina.
 - Tiroxina.
- La oxidasa de glucosa oxida la glucosa a ácido glucónico y:
 - H_2O_2 .
 - CO_2 .
 - HCO_3^- .
 - H_2O .
- De la glucosa y ATP, la hexocinasa cataliza la formación de:
 - Acetil-CoA.
 - Fructosa 6-fosfato.
 - Glucosa 6-fosfato.
 - Lactosa.
- ¿Cuál es la muestra preferida para el análisis de glucosa?
 - Plasma y EDTA.
 - Plasma y oxalato de fluoruro.
 - Plasma heparinizado.
 - Suero.
- El factor hiperglucémico producido por el páncreas es:
 - Hormona foliculoestimulante (FSH).
 - Glucagon.
 - Insulina.
 - Hormona luteinizante (LH).
- ¿En qué principio se basan los métodos polarográficos de ensayo de glucosa?
 - Oxidación no enzimática de glucosa.
 - Tasa de agotamiento de oxígeno medida.
 - Quimiluminiscencia causada por formación de ATP.
 - Cambio de potencial eléctrico cuando se oxida la glucosa.
- Seleccione la enzima que es más específica para la β -D-glucosa.
 - Oxidasa de glucosa.
 - Deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato.
 - Hexocinasa.
 - Fosfohexisomerasa.
- Seleccione la enzima de acoplamiento empleada en el método de hexocinasa para la glucosa.
 - Deshidrogenasa de glucosa.
 - Glucosa-6-fosfatasa.
 - Deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato.
 - Peroxidasa.
- Las siguientes son características de la enfermedad de von Gierke EXCEPTO:
 - Hipoglucemia.
 - Hipolipidemia.
 - Lactato plasmático incrementado.
 - Respuesta subnormal a adrenalina.
- La prueba de detección preferida para diabetes en mujeres adultas no embarazadas es la medición de:
 - Glucosa plasmática de ayuno.
 - Glucosa plasmática aleatoria.
 - Glucohemoglobina.
 - Glucosa plasmática de 1 h después de carga de 50 g de carbohidrato.
- Según las normas de la ADA de 2003, los tiempos de medición para concentraciones de glucosa plasmática durante una POTG en pacientes no embarazadas son
 - Ayuno y 2 horas.
 - Ayuno y 60 minutos.
 - 30, 60, 90 y 120 minutos.
 - Ayuno, 30, 60, 90 y 120 minutos.

12. Monitorear las concentraciones de cuerpos cetónicos en la orina vía reactivos de nitroprusiato provee una medida semicuantitativa de:
 - a) Acetoacetato.
 - b) 3- β -hidroxibutirato.
 - c) Acetona.
 - d) Los tres cuerpos cetónicos.
13. Un factor, distinto a los valores promedio de glucosa plasmática, que determina la concentración de hemoglobina glucosilada es:
 - a) Concentración de cuerpos cetónicos en el suero.
 - b) Lapso de vida de los eritrocitos.
 - c) Ingestión de ácido ascórbico.
 - d) Concentraciones de triglicéridos incrementadas.
14. El monitoreo de las concentraciones de cuerpos cetónicos en la orina:
 - a) Es considerado esencial sobre una base diaria para los pacientes diabéticos.
 - b) Es un método confiable para evaluar el control glucémico a largo plazo.
 - c) Se recomienda para pacientes con diabetes tipo 1 en días mórbidos.
 - d) No lo recomienda la ADA.

REFERENCIAS

1. National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose tolerance. *Diabetes* 1979;28:1039–1057.
2. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003;26(Suppl 1):S7.
3. Malchoff CD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Conn Med* 1991;55(11):625.
4. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003;26(Suppl 1):S10.
5. Service FJ. Classification of hypoglycemic disorders. *Endocrinol Metab Clin* 1999;28(3):501–517.
6. Service FJ. Medical progress: hypoglycemic disorders. *N Engl J Med* 1995;332(17):1144–1152.
7. Cryer PE. Glucose homeostasis and hypoglycemia. In: Wilson JD, Foster DW, eds. *Williams Textbook of Endocrinology*. Philadelphia: WB Saunders, 1992.
8. American Diabetes Association. Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care* 2003;26(Suppl 1):S106.
9. Higgs PJ, Bunn HF. Kinetic analysis of the nonenzymatic glycosylation of hemoglobin. *J Biol Chem* 1981;256:5204–5208.
10. Eckfeldt JH, Bruns DE. Another step towards standardization of methods for measuring hemoglobin A_{1c}. *Clin Chem* 1997;43(10):1811–1813.
11. Rohlfing CL, Wiedmeyer HM, Little RR, et al. Defining the relationship between plasma glucose and HbA_{1c}. *Diabetes Care* 2002;25(2):275–278.
12. Stehouwer CDA, Donker AJM. Clinical usefulness of measurement of urinary albumin excretion in diabetes mellitus. *Neth J Med* 1993;42:175.
13. American Diabetes Association. Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003;26(Suppl 1):S42–43.

Lípidos y lipoproteínas

Alan T. Remaley, Judith R. McNamara
y G. Russell Warnick

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- QUÍMICA DE LÍPIDOS
 - Ácidos grasos
 - Triglicéridos
 - Fosfolípidos
 - Colesterol
- ESTRUCTURA GENERAL DE LIPOPROTEÍNAS
 - Quilomicrones
 - Lipoproteínas de muy baja densidad
 - Lipoproteínas de baja densidad
 - Lipoproteína (a)
 - Proteínas de alta densidad
- FISIOLOGÍA Y METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS
 - Absorción de lípidos
 - Vía exógena
 - Vía endógena
 - Vía inversa de transporte de colesterol
- DISTRIBUCIONES DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS EN LA POBLACIÓN
- PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD
 - Arteriosclerosis
 - Hiperlipoproteinemia
 - Hipercolesterolemia
 - Hipertrigliceridemia
 - Hiperlipoproteinemia combinada
 - Incremento de Lp(a)
- Hipolipoproteinemia
- Hipoalfalipoproteinemia
- ANÁLISIS DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS
 - Medición de lípidos
 - Medición de colesterol
 - Medición de triglicérido
 - Métodos de lipoproteína
 - Métodos de HDL
 - Métodos para LDL
 - Analizadores compactos
 - Métodos de apolipoproteína
 - Medición de fosfolípidos
 - Medición de ácidos grasos
- ESTANDARIZACIÓN DE ENSAYOS DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS
 - Precisión
 - Exactitud
 - Interacciones de matriz
 - Red de laboratorios para el método de referencia de colesterol del CDC
 - Objetivos de desempeño analítico
 - Control de calidad
 - Recolección de la muestra
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al terminar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Explicar la fisiología y metabolismo de lípidos y lipoproteínas.
- Definir lipoproteína, exógeno, endógeno, quilomicrones, ácidos grasos, fosfolípidos, triglicéridos, colesterol, VLDL, LDL, HDL y Lp(a).
- Describir las pruebas clínicas empleadas para evaluar lípidos y lipoproteínas, incluso principios y procedimientos.
- Evaluar el estado de lípidos o lipoproteínas del paciente, considerando los datos clínicos.
- Identificar los intervalos de referencia para los principales lípidos analizados.
- Explicar la interacción en el cuerpo entre lípidos y lipoproteínas y las distintas hormonas.
- Relacionar la importancia clínica de valores de lípidos y lipoproteínas en la medición de cardiopatía coronaria.
- Describir la incidencia y tipos de anomalías de lípidos y lipoproteínas.

TÉRMINOS CLAVE

Ácidos grasos
Arteriosclerosis
Cálculo de Friedewald
Colesterol

Dislipidemias
Endógeno
Exógeno
Fosfolípidos

HDL
LDL
Lipoproteína
Lp(a)

Quilomicrones
Triglicéridos
VLDL

Las *lipoproteínas* constituyen la “industria del petróleo” del cuerpo. Como los grandes buques tanque que recorren los océanos del mundo transportando petróleo para necesidades de combustible, los grandes quilomicrones llevan triglicéridos dietéticos por el sistema circulatorio a las células, y por fin llegan al hígado a depositar los quilomicrones restantes. Las *lipoproteínas de muy baja densidad* (VLDL) son como camiones tanque, que llevan triglicéridos ensamblados en el hígado hacia las células para necesidades de energía o para almacenamiento como grasa. Las *lipoproteínas de baja densidad* (LDL), ricas en colesterol, son los mismos buques tanque casi vacíos que entregan colesterol a las células periféricas después que han sido descargados. Las *lipoproteínas de baja densidad* (LDL) son el equipo de limpieza que recoge el colesterol extra para llevarlo de regreso al hígado. El colesterol, que contribuye en exceso a la cardiopatía, es empleado por el cuerpo para funciones útiles como facilitar el transporte de triglicéridos para atender las necesidades de combustible del cuerpo y mantener las membranas de las células, y como precursor para síntesis de hormonas.

Los lípidos y lipoproteínas, que son primordiales para el metabolismo del cuerpo, se han vuelto cada vez más importantes en la práctica clínica, sobre todo debido a su relación con la cardiopatía coronaria (CC). En muchos estudios epidemiológicos nacionales e internacionales se ha demostrado que, sobre todo en países ricos con alto consumo de grasa, hay una clara relación entre las concentraciones de lípidos en la sangre y el desarrollo de arteriosclerosis. Décadas de investigación básica han contribuido al conocimiento acerca de la naturaleza de las lipoproteínas y sus constituyentes lipídicos y proteínicos, así como su función en la patogénesis del proceso aterosclerótico.

La medición exacta de los distintos parámetros de lípidos y lipoproteínas es crítica en el diagnóstico y tratamiento de pacientes con *dislipidemia*. Los esfuerzos internacionales para reducir el impacto de la CC en la salud pública han centrado la atención en mejorar la confiabilidad y conveniencia de los ensayos de lípidos y lipoproteínas. Paneles de expertos han elaborado normas para la detección y tratamiento de colesterol alto, así como objetivos de desempeño de laboratorios y recomendaciones detalladas para medición confiable de analitos de lípidos y lipoproteínas. Este capítulo comienza con un repaso de la química de lípidos y metabolismo de lipoproteínas, seguido del diagnóstico y tratamiento de la dislipidemia. Por último, la medición de laboratorio clínico de lípidos y lipoproteínas se analizará en el contexto de las normas del *National Cholesterol Education Program* (NCEP).

QUÍMICA DE LÍPIDOS

Los lípidos, a los que suele conocerse como grasas, tienen una función dual. Primero, debido a que están compuestos sobre todo de enlaces carbono-hidrógeno (C-H), son una rica fuente de energía y una forma eficiente para que el cuerpo almacene exceso de calorías. Como resultado de sus propiedades físicas únicas, los lípidos son también una parte integral de las membranas celulares y, por tanto, desempeñan también una función estructural en las células. Los lípidos transportados por las lipoproteínas; a saber, ácidos grasos, fosfolípidos, colesterol y ésteres de colesterol, son los lípidos principales hallados en las células y el tema principal de esta sección.

Ácidos grasos¹

Los *ácidos grasos*, como se ve en la estructura mostrada en la figura 12-1, son simples cadenas lineales de enlaces carbono-hidrógeno (C-H) que terminan con un grupo carboxilo (–COOH). En el plasma, sólo una cantidad relativamente pequeña de ácidos grasos existe en la forma no esterificada libre, de la cual la mayor parte está enlazada a albúmina. En cambio, la mayor parte de los ácidos grasos plasmáticos se hallan como un constituyente de triglicéridos o fosfolípidos (fig. 12-1). Los ácidos grasos están enlazados de forma covalente a la estructura de glicerol de triglicéridos y fosfolípidos mediante un enlace éster que se forma entre el grupo carboxilo en el ácido graso y el grupo hidroxilo (–OH) en el glicerol (fig. 12-1). Los ácidos grasos tienen longitud variable y se pueden clasificar como ácidos grasos de cadena corta (4 a 6 átomos de carbono), media (8 a 12 átomos de carbono) o larga (>12 átomos de carbono). La mayor parte de los ácidos grasos de la dieta son de cadena larga y contienen un número par de átomos de carbono. No todos los átomos de carbono en los ácidos grasos están saturados por completo o enlazados con átomos de hidrógeno; algunos de ellos pueden en cambio formar enlaces dobles carbono-carbono (C=C). Dependiendo del número de enlaces dobles C=C, los ácidos grasos se pueden clasificar como saturados (sin enlaces dobles), monoinsaturados (un enlace doble) o poliinsaturados (dos o más enlaces dobles). Por lo general, los enlaces dobles C=C de ácidos grasos insaturados están dispuestos en la forma *cis*, con ambos átomos de hidrógeno en el mismo lado del enlace doble C=C, que causa una curvatura en su estructura (fig. 12-1). Estas curvas incrementan el espacio que requieren los ácidos grasos insaturados cuando se empaquetan en una capa lipídica y, como resultado, estos ácidos

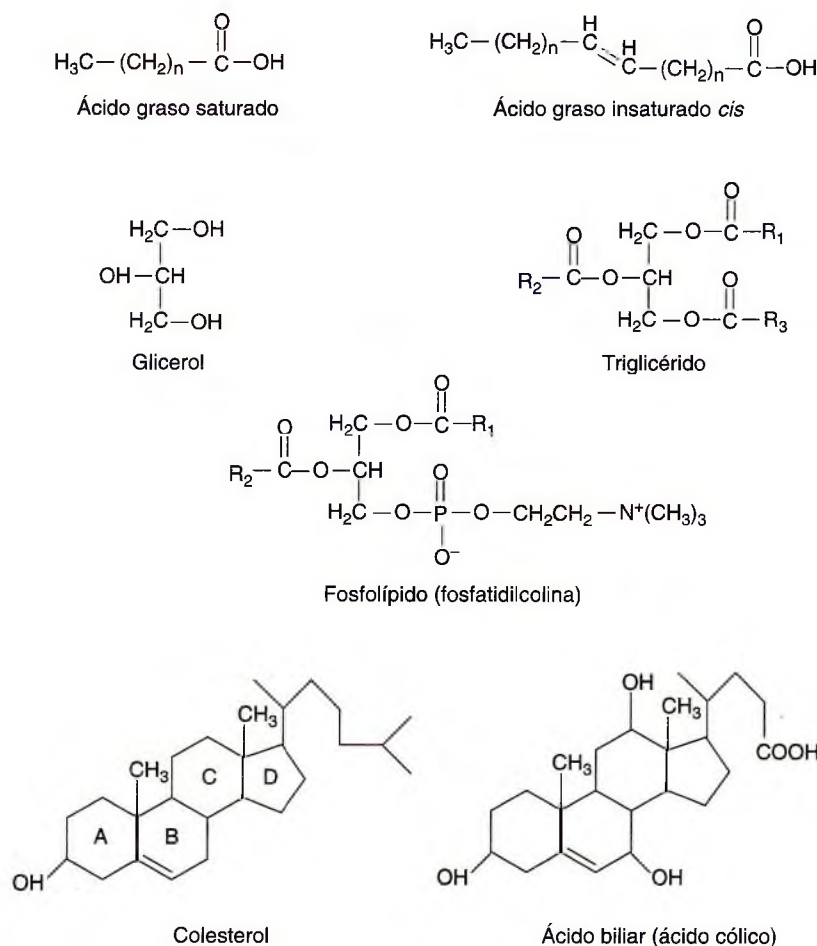


FIGURA 12-1. Estructuras químicas de lípidos. Los ácidos grasos se abrevian como (R) para triglicéridos y fosfolípidos.

grasos son más fluidos porque no se autodisocian tan fácil. Los enlaces dobles $\text{C}=\text{C}$ de los ácidos grasos también pueden ocurrir en la configuración *trans*, con ambos átomos de hidrógeno en el lado opuesto del enlace doble $\text{C}=\text{C}$. Debido a la orientación espacial de sus enlaces dobles, los ácidos grasos *trans* no se curvan y tienen propiedades físicas similares a las de los ácidos grasos saturados. Los ácidos grasos *trans* no se encuentran por lo común en la naturaleza; sin embargo, están presentes en la dieta debido a que en la hidrogenación química empleada en el proceso de convertir los aceites vegetales poliinsaturados en margarina sólida se introducen enlaces dobles *trans*.

Triglicéridos²

Como se puede inferir del nombre, los *triglicéridos* contienen tres moléculas de ácidos grasos unidas a una molécula de glicerol por enlaces de éster (fig. 12-1). Debido al gran número de formas posibles de ácidos grasos, cada ácido graso en la molécula de triglicérido puede ser potencialmente distinto en estructura, lo que origina muchas formas estructurales posibles de triglicéridos; los que contienen ácidos grasos saturados, sin curvas en su estructura (fig. 12-1), están más agrupados y tienden a ser sólidos a temperatura ambiente. En contraste, los triglicéridos

que contienen ácidos grasos insaturados *cis*, con curvas en su estructura (fig. 12-1), por lo general forman aceites a temperatura ambiente. Casi todos los triglicéridos de origen vegetal, como el maíz, semillas de girasol y de cártamo, son ricos en ácidos grasos poliinsaturados y son aceites, mientras que los triglicéridos de fuentes animales contienen principalmente ácidos grasos saturados y, por lo general, son sólidos a temperatura ambiente. Como puede verse al inspeccionar la estructura del triglicérido (fig. 12-1), no hay grupos cargados o grupos polares hidrofílicos, lo que lo hace muy hidrófobo y casi insoluble en agua.

Fosfolípidos³⁻⁵

Los *fosfolípidos* son similares en estructura a los triglicéridos, excepto que sólo tienen dos ácidos grasos esterificados (fig. 12-1). La tercera posición en la estructura del glicerol contiene un grupo principal fosfolípido. Hay varios tipos de grupos principales fosfolípidos, como colina, inositol, serina y etanolamina, que son de naturaleza hidrofílica. Los fosfolípidos se nombran con base en el tipo de grupo principal fosfolípido presente. La fosfatidilcolina (fig. 12-1), por ejemplo, tiene un grupo principal colina y es el fosfolípido más común hallado en lipoproteínas y en membranas celulares. Los dos ácidos grasos en fosfolípi-

dos tienen por lo regular 14 a 24 átomos de carbono, con un ácido graso saturado y el otro insaturado.

Debido a que los fosfolípidos contienen cadenas hidrófobas de ácido graso C-H y un grupo principal hidrofílico, son por definición moléculas lipídicas anfipáticas y, como tales, se hallan en la superficie de capas de lípidos. El grupo principal hidrofílico, polar, está orientado hacia fuera al ambiente acuoso, mientras que las cadenas de ácido graso apuntan hacia dentro lejos del agua en una orientación perpendicular con respecto a la superficie lipídica.

Colesterol⁶⁻⁸

El *colesterol* es un alcohol esteroideo no saturado que contiene 4 anillos (A, B, C y D), y tiene una sola cadena lateral C-H similar a un ácido graso en sus propiedades físicas (fig. 12-1). La única parte hidrofílica del colesterol es el grupo hidroxilo en anillo A. Por tanto, el colesterol es también un lípido anfipático y se halla en la superficie de capas lipídicas junto con fosfolípidos. El colesterol está orientado en capas de lípido para que los cuatro anillos y el extremo de cadena lateral estén enterrados en la membrana en una orientación paralela a las cadenas de acilo de ácidos grasos en las moléculas de fosfolípido adyacentes. El grupo hidroxilo polar en el anillo A del colesterol está orientado hacia fuera, lejos de la capa lipídica, lo que le permite interactuar con el agua mediante puentes de hidrógeno no covalentes.

El colesterol puede existir también en una forma esterificada llamada *éster de colesterilo*, con el grupo hidroxilo conjugado por un enlace de éster con un ácido graso, en la misma forma que en los triglicéridos. En contraste con el colesterol libre, no hay grupos polares en los ésteres de colesterilo, lo que los hace muy hidrófobos. Como resultado de su naturaleza hidrófoba, los ésteres de colesterilo no se encuentran en la superficie de capas lipídicas sino en el centro de gotas de lípido, junto con los triglicéridos.

El colesterol es sintetizado casi de manera exclusiva por los animales, pero las plantas contienen otros esteroles similares en estructura al colesterol; también es único en que a diferencia de otros lípidos, no es catabolizado de forma fácil por la mayor parte de las células y, por tanto, no sirve como una fuente de combustible. Sin embargo, el colesterol puede convertirse en el hígado a ácidos biliares primarios, como ácido cólico (fig. 12-1) y ácido quenodesoxicólico, que promueven la absorción de grasa en el intestino al actuar como detergentes. Ciertos tejidos, como la glándula suprarrenal, los testículos y los ovarios, pueden convertir una pequeña cantidad de colesterol en hormonas esteroideas, como glucocorticoides, mineralocorticoides y estrógenos. Por último, una pequeña cantidad de colesterol, después de ser convertida primero en 7-deshidrocolesterol, se puede transformar en vitamina D₃ cuando la piel recibe radiación solar.

ESTRUCTURA GENERAL DE LIPOPROTEÍNAS⁹⁻¹²

La estructura prototípica de una partícula de lipoproteína se muestra en la figura 12-2. Por lo general, las lipoproteínas son de forma esférica y su tamaño varía de 10 a 1 200

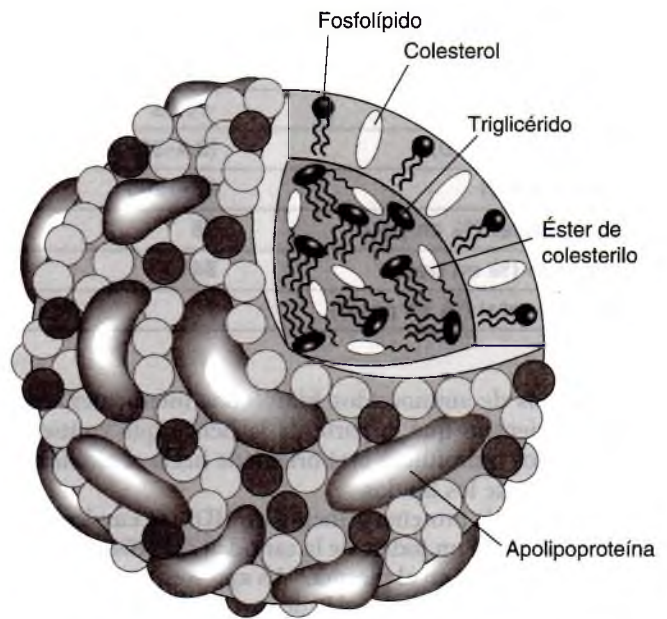


FIGURA 12-2. Modelo de estructura de la lipoproteína.

nm (cuadro 12-1). Como lo indica su nombre, las lipoproteínas están compuestas de lípidos y proteínas, llamadas *apolipoproteínas*.¹³ El colesterol anfipático y las moléculas de fosfolípido se hallan sobre todo en la superficie de lipoproteínas como una monocapa simple, mientras que el triglicérido hidrófobo y las moléculas de éster de colesterilo se hallan en la región central o núcleo (fig. 12-2). Debido a que la función principal de las lipoproteínas es la entrega de combustible a las células periféricas, el núcleo de la partícula de lipoproteína representa en esencia la carga que es transportada por las lipoproteínas. El tamaño de la partícula de lipoproteína se correlaciona con su contenido de lípido. Las partículas de lipoproteína más grandes tienen en correspondencia regiones nucleares más grandes y, por tanto, contienen relativamente más triglicérido y éster de colesterilo. Las partículas de lipoproteína más grandes también contienen más lípido en relación con la proteína y, por tanto, son de menor densidad. Las distintas partículas de lipoproteína se separaban en un principio por ultracentrifugación en fracciones de distinta densidad (quilomicrones [quilos]; lipoproteínas de muy baja densidad [VLDL]; lipoproteínas de baja densidad [LDL], y lipoproteínas de alta densidad [HDL]), que aún forman la base para la mayor parte del sistema de clasificación de lipoproteínas empleado (cuadro 12-1).

Las apolipoproteínas se localizan sobre todo en la superficie de partículas de lipoproteína (cuadro 12-2). Ayudan a mantener la integridad estructural de las lipoproteínas y también sirven como ligandos para los receptores de células y como activadores e inhibidores de varias enzimas que modifican las partículas de lipoproteína (cuadro 12-2). Las apolipoproteínas contienen un adorno estructural llamado hélice anfipática,¹⁴ que explica la capacidad de estas proteínas para enlazar lípidos. Las hélices anfipáticas son segmentos de proteína dispuestos en espiras para que

CUADRO 12-1. CARACTERÍSTICAS DE LAS PRINCIPALES LIPOPROTEÍNAS HUMANAS

CARACTERÍSTICAS	QUILOMICRONES	VLDL	LDL	HDL
Densidad (g/ml)	<0.93	0.93–1.006	1.019–1.063	1.063–1.21
Peso molecular (kD)	$(0.4\text{--}30) \times 10^9$	$(10\text{--}80) \times 10^6$	2.75×10^6	$(1.75\text{--}3.6) \times 10^5$
Diámetro (nm))	80–1200	30–80	18–30	5–12
Lípidos totales (% en peso)	98	89–96	77	50
Triglicérido (% en peso)	84	44–60	11	3
Colesterol total (% en peso))	7	16–22	62	19

los residuos de aminoácidos hidrófobos interactúen con lípidos, mientras que la parte de la hélice que contiene aminoácidos hidrofílicos está orientada hacia el ambiente acuoso lejos de los lípidos.

La apo A-I, la proteína principal en HDL, se emplea con frecuencia como un índice de la cantidad del HDL antiaterogénico presente en el plasma.¹⁵ La apo B es una proteína grande con un peso molecular de casi 500 kD y es la proteína principal en LDL, VLDL y quilomicrones.¹⁶ La apo B existe en dos formas, apo B-100 y apo B-48. La apo B-100 se halla en LDL y VLDL, y es un ligando para el receptor de LDL¹⁷ y, por tanto, es importante en la captación de LDL por las células. La apo B-48, se encuentra sólo en los quilomicrones, el primer 48% o primera mitad de la molécula de apo B y se produce por edición postranscripcional del mRNA de apo B-100. La apo B-100 también se encuentra unida de forma covalente a la apo (a)¹⁸, una proteína parecida a plasminógeno que se encuentra en una partícula proaterogénica llamada lipoproteína (a) [Lp(a)]. La apo E, otra apolipoproteína importante hallada en muchos tipos de lipoproteínas (LDL, VLDL y HDL), también sirve como ligando para el receptor de LDL y el receptor remanente

de quilomacrón.¹⁹ Hay tres isoformas principales de apo E: apo E2, E3 y E4. Las isoformas apo E afectan el metabolismo de las lipoproteínas porque difieren en su capacidad para interactuar con el receptor de LDL.^{20,21} Por ejemplo, los pacientes que son homocigóticos para la isoforma apo E2 tienen mayor riesgo de desarrollar hiperlipoproteíemia tipo III. No se comprende del todo la relación con el metabolismo de lípidos, pero se ha demostrado que los individuos con la isoforma apo E4 tienen mayor riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer.²²

Quilomicrones¹⁹⁻²⁴

Los *quilomicrones*, que contienen apo B-48, son las partículas de lipoproteína más grandes y menos densas, con diámetros tan grandes como 1 200 nm (cuadro 12-1). Como resultado de su gran tamaño, reflejan la luz y explican la turbidez del plasma posprandial. Debido a que son tan ligeras, también flotan con facilidad sobre el plasma almacenado y forman una capa cremosa, que se caracteriza por la presencia de quilomicrones. Estos últimos son producidos por el intestino, donde son empacados con lípidos

CUADRO 12-2. CARACTERÍSTICAS DE LAS PRINCIPALES APOLIPOPROTEÍNAS HUMANAS

APOLIPOPROTEÍNA	PESO MOLECULAR (KD)	CONCENTRACIÓN EN PLASMA (mg/dl)	UBICACIÓN DE LIPOPROTEÍNAS PRINCIPALES	FUNCIÓN
Apo A-I	28,000	100–200	HDL	Estructural, activador LCAT, aceptor de lípidos ABCA1
Apo A-II	17,400	20–50	HDL	Estructural
Apo A-IV	44,000	10–20	Quilomicrones, VLDL, HDL	Estructural
Apo B-100	5.4×10^5	70–125	LDL, VLDL	Estructural, ligando LDL receptor de
Apo B-48	2.6×10^5	<5	Quilomicrones	Estructural, ligando aceptor de remanentes
Apo C-I	6,630	5–8	Quilomicrones, VLDL, HDL	Estructural
Apo C-II	8,900	3–7	Quilomicrones, VLDL, HDL	Estructural, cofactor de LPL
Apo C-III	9,400	10–12	Quilomicrones, VLDL, HDL	Estructural, inhibidor de LPL
Apo E	34,400	3–15	VLDL, HDL	Estructural, ligando receptor de LDL
Apo(a)	$(3\text{--}7) \times 10^5$	<30	Lp(a)	Estructural, inhibidor de plasminógeno

dietéticos absorbidos. Una vez que entran a la circulación, las lipasas hidrolizan rápido a los triglicéridos y ésteres de colesterilo en los quilomicrones y, en pocas horas, se transforman en partículas de quilomicron remanentes, que son captadas por receptores remanentes en el hígado.¹⁹ Así, la función principal de los quilomicrones es la entrega de lípidos dietéticos a las células hepáticas y periféricas.

Lipoproteínas de muy baja densidad^{25,26}

El hígado produce VLDL, y contiene apo B-100, apo E y apo Cs; como los quilomicrones, las lipoproteínas de muy baja densidad también son ricas en triglicéridos. Son las portadoras principales de triglicéridos *endógenos* (derivados hepáticos) y transfieren triglicéridos del hígado al tejido periférico. Al igual que los quilomicrones reflejan la luz con facilidad y explican la mayor turbidez observada en muestras de plasma hiperlipidémico de ayuno, aunque no forman una capa superior cremosa como los quilomicrones porque son más densas (cuadro 12-1). La ingestión en exceso de carbohidratos, ácidos grasos saturados y ácidos grasos *trans* en la dieta incrementa la síntesis hepática de triglicéridos que, a su vez, aumenta la producción de VLDL.

Lipoproteínas de baja densidad^{27,28}

La LDL contiene apo B-100 y apo E y es más rica en colesterol que otras lipoproteínas que contienen apo-B (cuadro 12-1). Se forman sobre todo como consecuencia de la lipólisis de VLDL. La LDL es captada con facilidad por las células vía el receptor de LDL y esto, en parte explica la razón de que las concentraciones altas de LDL promuevan la aterosclerosis.²⁹ Además, debido a que las LDL son mucho más pequeñas que las VLDL y los quilomicrones, se pueden infiltrar en el espacio extracelular de la pared de los vasos, donde los macrófagos las toman y oxidan mediante varios receptores depuradores.³⁰ Los macrófagos que captan demasiado lípido se llenan con gotas de lípido intracelular y se convierten en células de espuma,³⁰ que es el tipo de células predominante de las rayas de grasa, un precursor inicial de las placas ateroscleróticas.

Las partículas LDL pueden existir en varios tamaños y composiciones y han sido separadas en hasta ocho subclases mediante ultracentrifugación por densidad o electroforesis en gel por gradiente.^{31,32} Las subclases de LDL difieren en gran medida en su contenido de lípidos principales; las partículas más pequeñas son más densas y tienen relativamente más triglicérido que los ésteres de colesterilo. En fechas recientes, ha habido gran interés en cuantificar las subfracciones de LDL porque se ha demostrado que las partículas de LDL pequeñas y densas son más proaterogénicas y pueden ser un mejor marcador para riesgo de cardiopatía coronaria.^{31,32}

Lipoproteína (a)^{18,33,34}

Las Lp(a) son partículas parecidas a las LDL, cada una con una molécula de apo (a) enlazada a apo B-100 mediante un enlace de disulfuro. Las partículas de Lp(a) son heterogéneas en tamaño y densidad como resultado de un núme-

ro diferente de secuencias peptídicas, llamadas *kringles*, en la porción apo (a) de la molécula. La concentración de Lp(a) se relaciona de manera inversa con el tamaño de la isoforma. Las concentraciones plasmáticas de Lp(a) varían mucho entre individuos en una población, pero permanecen relativamente constantes dentro de un individuo.

Se considera que las concentraciones altas de Lp(a) confieren mayor riesgo para cardiopatía coronaria prematura y accidente cerebrovascular. Debido a que los dominios de las *kringles* de Lp(a) tienen mucho parecido con el plasminógeno, una proteína que promueve la lisis de coágulos, se ha propuesto que la Lp(a) puede competir con el plasminógeno por sitios de enlace y, por tanto, promueve la coagulación, un contribuyente importante para el infarto de miocardio y el accidente cerebrovascular.^{29,30}

Proteínas de alta densidad^{35,36}

La HDL, la partícula de lipoproteína más pequeña y densa, es sintetizada en el hígado y el intestino (cuadro 12-1). Las HDL pueden existir como partículas con forma de disco o como partículas de forma esférica.¹⁵ La HDL discoidal contiene por lo general dos moléculas de apo A-I, que forman un anillo alrededor de una bicapa lipídica central de fosfolípido y colesterol. Se cree que la HDL discoidal representa HDL incipiente o recién secretada y es la forma más activa en la remoción de colesterol en exceso de las células periféricas. La capacidad de la HDL para eliminar colesterol de las células es uno de los mecanismos principales que han sido propuestos para la propiedad antiaterogénica de la HDL. Cuando la HDL discoidal ha adquirido lípido adicional, los ésteres de colesterilo y los triglicéridos forman una región básica entre la bicapa lipídica central, que transforma a la HDL discoidal en HDL esférica, la forma predominante en el plasma. Con base en las diferencias de densidad, hay dos tipos principales de HDL esférica: HDL₂ y HDL₃. La HDL₂ tiene mayor tamaño y es más rica en lípido que la HDL₃ y puede ser más eficiente para entregar lípidos al hígado.³⁷

FISIOLOGÍA Y METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS

Las cuatro vías principales que intervienen en el metabolismo de las lipoproteínas se muestran en la figura 12-3. La vía de absorción de lípidos, la exógena y la endógena, que dependen de las partículas de lipoproteína que contienen apo B, se pueden considerar como medios para transportar lípidos dietéticos y de origen hepático a las células periféricas. En términos del metabolismo de energía, estas tres vías son decisivas en el transporte de ácidos grasos a las células periféricas, que son generadas durante la lipólisis de triglicéridos y, en menor grado, ésteres de colesterilo en las lipoproteínas. En relación con la patogénesis de la aterosclerosis, el resultado neto de estas tres vías es también la entrega neta o transporte directo de colesterol a las células periféricas, lo cual puede originar aterosclerosis cuando las células en la pared de los vasos acumulan demasiado colesterol.^{29,30} Las células periféricas son proclives a acumular colesterol porque también lo sintetizan

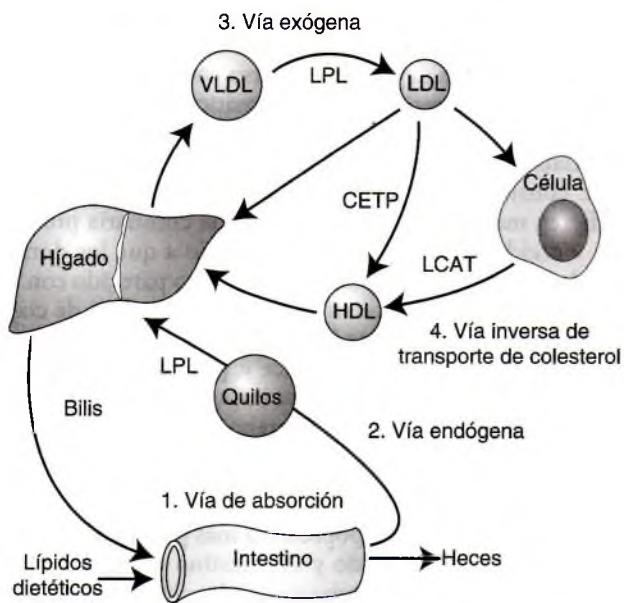


FIGURA 12-3. Diagrama de vías principales del metabolismo de lipoproteínas.

y, a diferencia de las células hepáticas, no tienen las vías enzimáticas para catabolizar más al colesterol. Además, el colesterol es relativamente insoluble en agua y no se puede difundir con facilidad lejos de su sitio de depósito o síntesis.

Una forma principal en que las células periféricas mantienen su equilibrio de colesterol es la vía inversa de transporte de colesterol (fig. 12-3), que es mediada por HDL. En esta vía, el exceso de colesterol de las células periféricas es llevado de nuevo al hígado, donde se puede excretar en la bilis como colesterol libre o se puede excretar después de ser convertido primero en ácidos biliares. Por tanto, el hígado interviene en las vías de transporte de colesterol directa e inversa y, en muchas maneras, actúa como una disolución amortiguadora para ayudar al cuerpo a mantener su equilibrio de colesterol global. Hay varios defectos genéticos en los genes que codifican las proteínas en las vías de transporte de colesterol directa e inversa, lo cual da como resultado una predisposición genética para la aterosclerosis.^{38,39} La mayor parte de los individuos con coronariopatía, sin embargo, no tienen un defecto claro, único, sino en cambio tienen múltiples variaciones genéticas o polimorfismos que es muy probable que interactúen con varios factores de estilo de vida,⁴⁰ como frecuencia de ejercicio, dieta y hábito de fumar, para causar una predisposición a la enfermedad.

Absorción de lípidos^{41,42}

Una persona promedio ingiere, absorbe y transporta cerca de 60 a 130 g de grasa al día, sobre todo en la forma de triglicéridos. Debido a que las grasas son insolubles en agua, se requieren mecanismos especiales para facilitar su absorción en el intestino. Durante el proceso de la diges-

ción, la lipasa pancreática, mediante la rotura de ácidos grasos, primero convierte los lípidos dietéticos en compuestos más polares con propiedades anfipáticas. Así, los triglicéridos se transforman en monoglicéridos y triglicéridos; los ésteres de colesterol se transforman en lisofosfolípidos. Estos lípidos anfipáticos en la luz intestinal forman grandes agregados con ácidos biliares llamados *micelas*. La absorción de lípidos ocurre cuando las micelas entran en contacto con las membranas microvellosas de las células de la mucosa intestinal. La absorción de algunos de estos lípidos puede ocurrir mediante un proceso de transferencia pasivo; sin embargo, la evidencia reciente hace pensar que, en algunos casos, esto se podría facilitar también mediante transportadores específicos.^{41,42} Los ácidos grasos libres más pequeños, con diez o menos átomos de carbono, pueden pasar con facilidad de modo directo hacia la circulación portal, y son llevados por la albúmina hacia el hígado. Los ácidos grasos de cadena larga, monoglicéridos y diglicéridos, absorbidos son reesterificados en las células intestinales para formar triglicéridos y ésteres de colesterol. Los triglicéridos recién formados y los ésteres de colesterol son empacados después en quilomicrones, junto con la apo B-48.

La absorción de triglicérido es eficiente; el intestino capta más de 90% de los triglicéridos dietéticos. En contraste, sólo casi la mitad de los 500 mg de colesterol en la dieta típica es absorbida todos los días. El intestino absorbe incluso una fracción más pequeña de esteroides vegetales. En fechas recientes se ha descrito un sistema de transporte específico, en el que participan los transportadores ABCG5 y ABCG8, que evita la absorción en exceso de colesterol dietético y esteroides vegetales.⁴³ Los individuos con transportadores ABCG5 o ABCG8 defectuosos tienen una enfermedad llamada *sitosterolemia* y tienen una predisposición para aterosclerosis como resultado de la mayor absorción de colesterol y esteroles vegetal.⁴³

Vía exógena^{19,23,24}

Los quilomicrones recién sintetizados en el intestino (fig. 12-3) son secretados al principio en los conductos linfáticos y en algún momento entran a la circulación por vía del conducto torácico; después que entran a la circulación, los quilomicrones interactúan con los proteoglicanos, como el sulfato de heparano, en la superficie de los capilares en varios tejidos, como el músculo esquelético, el corazón y el tejido adiposo. Los proteoglicanos en los capilares también promueven el enlace de la lipasa de lipoproteína (LPL),⁴⁴ que hidroliza triglicéridos en los quilomicrones. Los ácidos grasos libres y el glicerol generados mediante la hidrólisis de los triglicéridos por la LPL, pueden ser captados por las células y ser usados como fuente de energía. Los ácidos grasos en exceso, en particular en las células grasas (adipocitos), son reesterificados en los triglicéridos para almacenamiento de largo plazo en gotas lipídicas intracelulares. La lipasa sensible a hormona dentro de las células adiposas puede liberar ácidos grasos libres de los triglicéridos en la grasa almacenada cuando las fuentes de energía de carbohidratos son insuficientes para las necesidades energéticas del cuerpo. Las hormonas adrenalina y

cortisol desempeñan una función importante en la movilización e hidrólisis de triglicéridos de adipocitos, mientras que la insulina evita la lipólisis por adipocitos y promueve el almacenamiento de grasa y el uso de glucosa.

Durante la lipólisis de quilomicrones, hay transferencia de lípido y apolipoproteínas sobre HDL, y los quilomicrones son convertidos en pocas horas después de la comida en partículas remanentes de quilomacrón. El hígado capta con rapidez los remanentes de los quilomicrones por la interacción de la apo E con receptores de remanentes específicos en la superficie de las células hepáticas. Una vez en el hígado, las enzimas lisosomales descomponen las partículas remanentes para liberar ácidos grasos libres, colesterol libre y aminoácidos. Parte del colesterol se convierte en ácidos biliares. Los ácidos biliares y el colesterol libre son excretados de forma directa en la bilis, pero no todo el colesterol excretado y la sal biliar salen del cuerpo. Como se describió antes, casi la mitad del colesterol biliar excretado es reabsorbido por el intestino, y el resto aparece en las heces como esteroides neutros fecales. En el caso de los ácidos biliares, casi la mitad son reabsorbidos y reutilizados por el hígado para producción de bilis.

Vía endógena^{25,28}

La mayor parte de los triglicéridos en el hígado que son empacados en VLDL son obtenidos de la dieta después de la recirculación desde el tejido adiposo. Sólo una pequeña fracción se sintetiza *de novo* en el hígado a partir de los carbohidratos dietéticos. Las partículas de VLDL, una vez secretadas en la circulación, experimentan un proceso lipolítico similar al de los quilomicrones (fig. 12-3). Principalmente por la acción de la LPL, la VLDL pierde lípidos básicos, lo que causa la disociación y transferencia de apolipoproteínas y fosfolípidos a otras partículas de lipoproteína. Durante este proceso, la VLDL es convertida en remanentes VLDL, que se pueden transformar más por lipólisis en LDL. Casi la mitad de las VLDL son convertidas por completo en algún momento a LDL, y el resto son captadas como remanentes VLDL por receptores de remanentes hepáticos.

Como resultado de la captación eficiente por los receptores de LDL,¹⁷ las LDL son las lipoproteínas principales encargadas de entregar colesterol exógeno a las células periféricas. Una vez enlazadas a los receptores de LDL, son endocitosadas por las células y transportadas al lisosoma, donde son degradadas. Los triglicéridos en la LDL son convertidos por la lipasa ácida en ácidos grasos libres y glicerol, y son metabolizados más por la célula para energía y son reesterificados y almacenados en los lípidos para uso posterior. El colesterol libre obtenido de LDL degradada se puede usar para biosíntesis de membrana, y el exceso de colesterol se convierte mediante la acil-CoA:acil-colesterol aciltransferasa (ACAT) en ésteres de colesterilo y se almacena en gotas de lípido.⁴⁵ La regulación de la biosíntesis de colesterol celular es, en parte, coordinada por la disponibilidad de colesterol entregado por el receptor de LDL.¹⁷ Muchas enzimas en la vía biosintética del colesterol (p. ej., HMG-CoA reductasa, el blanco principal para los fármacos tipo estatina que disminuyen el colesterol) son

desreguladas (junto con el receptor de LDL) cuando hay exceso de colesterol celular por un mecanismo complejo en el que interviene la regulación de genes y la de genes postranscripcionales.⁴⁶

Las anomalías en la función del receptor de LDL dan como resultado el incremento de LDL en la circulación y originan hipercolesterolemia y aterosclerosis prematura.^{17,47} Los pacientes que son heterocigóticos para una enfermedad llamada hipercolesterolemia familiar (incidencia, alrededor de 1 en 500) tienen sólo la mitad de los receptores de LDL normales, lo que da como resultado la captación hepática reducida de LDL por el hígado, y una mayor biosíntesis de colesterol hepático. La LDL que se acumula en estos individuos con frecuencia da lugar al desarrollo de cardiopatía coronaria a la mitad de la vida adulta en heterocigotos e incluso antes para homocigotos.^{17,47}

Vía inversa de transporte de colesterol⁴⁸⁻⁵¹

Como se describió antes, una de las funciones principales del HDL es mantener el equilibrio de colesterol en las células periféricas mediante la vía inversa de transporte de colesterol (fig. 12-3). Se cree que el HDL elimina el exceso de colesterol de las células por dos vías diferentes, la vía de difusión acuosa⁵¹ y la de transportador ABCA1.⁴⁹ En la vía de difusión acuosa, HDL actúa como un pozo para la pequeña cantidad de colesterol que se puede difundir lejos de las células. Aunque el colesterol es relativamente insoluble en agua, debido a que es un lípido anfipático, es soluble en plasma en cantidades micromolares y se puede disociar en forma espontánea desde la superficie de las membranas celulares y entrar al líquido extracelular. Parte del colesterol libre se unirá entonces con el HDL en el espacio extracelular y, una vez enlazado, queda atrapado en las lipoproteínas después de que es convertido en éster de colesterilo por la lecitín-colesterol aciltransferasa (LCAT),⁵² que reside en el HDL. El HDL puede entonces entregar de manera directa colesterol al hígado por el receptor SR-BI⁵³ y, posiblemente, otros receptores.^{9,36} Alrededor de la mitad del colesterol en el HDL es regresado al hígado por el receptor de LDL, después de ser transferido primero del HDL al LDL por la proteína de transferencia de éster de colesterilo (CETP),⁵⁴ que conecta las vías de transporte de colesterol directa e inversa (fig. 12-3). El colesterol que llega al hígado es excretado entonces de manera directa en la bilis o primero se convierte en ácido biliar antes de la excreción.

La otra vía en la que el HDL media la eliminación de colesterol de las células, tiene que ver con el transportador ABCA1. Éste es un miembro de la familia de transportadores de casete de enlace a ATP que bombea varios ligandos por la membrana plasmática. Los defectos en el gen para el transportador ABCA1 conducen a la enfermedad de Tangier,⁴⁹ un trastorno relacionado con el HDL y una predisposición a la cardiopatía coronaria prematura. No se conoce el mecanismo exacto del transportador ABCA1, pero se cree que el transportador modifica la membrana plasmática al transportar un lípido, que después permite que la apo A-I que se ha disociado de HDL se enlace con la

ESTUDIO DE CASO 12-1

Un varón de 52 años de edad acudió a su médico para un reconocimiento. El paciente había sido un gerente de distrito para una compañía aseguradora automotriz durante los últimos 10 años y tenía 11 kg de sobrepeso. Debido a cuestiones de negocios había perdido sus dos últimas citas con el médico. La tira reactiva de análisis de orina no fue notable. Su presión arterial fue alta. Se obtuvieron los resultados de química sanguínea listados en el cuadro 12-1.1 de estudio de caso.

Preguntas

1. Considerando las pruebas anormales, ¿qué información adicional le gustaría tener?
2. Si este paciente tuviera triglicéridos de 100 mg/dl (1.1 mmol/L) y un colesterol HDL de 23 mg/dl (0.6 mmol/L), ¿cuál sería su valor de colesterol LDL calculado?
3. Sin embargo, si sus triglicéridos fueran 476 mg/dl (5.4 mmol/L), con un colesterol HDL de 23 mg/dl (0.6 mmol/L), ¿cuál sería su valor de colesterol LDL calculado?

CUADRO 12-1.1 DE ESTUDIO DE CASO.
RESULTADOS DE LABORATORIOS

ANÁLITO	VALOR DEL PACIENTE	INTERVALO DE REFERENCIA
Na ⁺	151	135–143 mEq/l
K ⁺	4.5	3.0–5.0 mEq/l
Cl ⁻	106	98–103 mEq/l
Contenido de CO ₂	13	22–27 mmol/l
Proteína total	5.7	6.5–8.0 g/dl
Albumina	1.6	3.5–5.0 g/dl
Calcio	7.9	9.0–10.5 mg/dl
Colesterol	210	140–200 mg/dl
Ácido úrico	6.2	3.5–7.9 mg/dl
Creatinina	2.5	0.5–1.2 mg/dl
NUS	95	7–25 mg/dl
Glucosa	88	75–105 mg/dl
Bilirrubina total	1.2	0.2–1.0 mg/dl
Fosfatasa alcalina	27	7–59 IU/L
Deshidrogenasa de lactato	202	90–190 IU/L
Trasaminasa de aspartato	39	8–40 IU/L
Amilasa	52	76–375 IU/L

membrana celular. En un mecanismo de extracción parecido al del detergente, la apo A-I elimina entonces el exceso de colesterol y fosfolípido de la membrana plasmática de las células para formar una partícula de HDL de forma discoidal. Así, el HDL recién formado es competente para aceptar colesterol adicional por la vía de difusión acuosa y en algún momento se convierte en HDL esférico por la acción de la LCAT (fig. 12-3).

DISTRIBUCIONES DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS EN LA POBLACIÓN

Las concentraciones de lipoproteína sérica difieren entre varones y mujeres adultos, principalmente como resultado de diferencias en los niveles de hormonas del sexo, donde las mujeres tienen concentraciones mayores de colesterol LDL y menores de colesterol total y triglicérido que los varones.⁵⁶ La diferencia en colesterol total, sin embargo, desaparece después de la menopausia a medida que disminuye el estrógeno.^{57,58} Los varones y las mujeres muestran una tendencia hacia mayores concentraciones de colesterol total, colesterol LDL y concentraciones de triglicérido

con la edad.^{56,59,60} Las concentraciones de colesterol de HDL por lo general permanecen estables después del inicio de la pubertad y no disminuyen en las mujeres con el inicio de la menopausia.⁶¹ Los intervalos de referencia en el adulto se muestran en el cuadro 12-3.

Las concentraciones circulantes de colesterol total, colesterol de LDL y triglicéridos en niños jóvenes son por lo regular mucho menores que las observadas en adultos.^{62,63} Además, las concentraciones no difieren de modo importante entre niños y niñas. Las concentraciones de

CUADRO 12-3. INTERVALOS DE REFERENCIA PARA LÍPIDOS EN ADULTOS

ANÁLITO	INTERVALO DE REFERENCIA
Colesterol total	140–200 mg/dl
Colesterol HDL	40–75 mg/dl
Colesterol LDL	50–130 mg/dl
Triglicérido	60–150 mg/dl

colesterol HDL para niños y niñas son comparables con las de mujeres adultas. Sin embargo, en el inicio de la pubertad, las concentraciones de HDL en niños caen a las concentraciones de varones adultos, una disminución de alrededor de 20%, mientras que las de las niñas no cambian. Es la menor concentración de colesterol de HDL en los varones, combinada con sus mayores concentraciones de colesterol de LDL y triglicéridos lo que explica mucha de la relación observada con el mayor riesgo de cardiopatía prematura.

La incidencia de cardiopatía se relaciona de manera firme con la concentración de colesterol sérico,^{64,65} y se han llevado a cabo comparaciones que muestran que los individuos en sociedades que de manera tradicional comen menos grasa animal y más granos, frutas y verduras, como muchas poblaciones asiáticas, tienen concentraciones menores de colesterol LDL y tasas más bajas de cardiopatía que las sociedades que ingieren más grasa, en particular grasa animal, en su dieta y son más sedentarias.^{66,67} Estas diferencias se pueden atribuir a factores genéticos y de estilo de vida. La importancia de los factores dietéticos se mostró con claridad en un estudio en el que se compararon los patrones dietéticos y las tasas de cardiopatía en varones japoneses que viven en Japón, Hawaii y California.⁶⁸ En este estudio, a medida que se volvió más occidental la ingestión dietética, con mayor consumo de grasa y colesterol, las concentraciones de colesterol LDL se incrementaron de forma significativa, al igual que las tasas de cardiopatía, de modo que los japoneses que vivían en California tuvieron tasas mucho mayores de cardiopatía que los japoneses que vivían en Japón; los de Hawaii fueron intermedios. Dentro de las sociedades en las que la dieta tiende a ser más homogénea, las concentraciones de colesterol LDL se vuelven un poco menos discriminatorias como factor de riesgo, y las concentraciones de HDL se vuelven más importantes como resultado de la capacidad del HDL para eliminar el exceso de colesterol de la circulación.⁶⁹

El *National Cholesterol Education Program* (NCEP) se formó para alertar a la población estadounidense acerca de los factores de riesgo relacionados con la cardiopatía. El NCEP ha empleado grupos de expertos, entre otros los grupos de tratamiento de adultos, el de tratamiento de niños y adolescentes y el de estandarización de laboratorios, para producir recomendaciones dentro del alcance de las actividades de cada grupo.^{62,70-73}

En 1988, el grupo de tratamiento de adultos del NCEP (*Adult Treatment Panel*, ATP) elaboró una lista de factores de riesgo para cardiopatía. Estas normas fueron actualizadas por el ATP III en 2002.⁷³ La lista actual de factores de riesgo se muestra en el cuadro 12-4. El ATP III también ha recomendado que los adultos (≥ 20 años) obtengan un perfil de lipoproteína de ayuno (colesterol total, LDL y HDL y triglicéridos), una vez cada cinco años, y ha elaborado normas para el diagnóstico y tratamiento de seguimiento de individuos con concentraciones anormales (cuadro 12-5). El grupo de tratamiento de niños y adolescentes también ha elaborado criterios similares para la población pediátrica.⁶²

El grupo de estandarización de laboratorios del NCEP y su sucesor, el grupo de trabajo de medición de lipopro-

CUADRO 12-4. FACTORES DE RIESGO DE CARDIOPATÍA DETERMINADOS POR LOS GRUPOS DE TRATAMIENTO DE ADULTOS NCEP

Factores de riesgo positivos

- Edad: ≥ 45 años para varones; ≥ 55 años o menopausia prematura para mujeres
- Antecedentes familiares de CC prematura
- Hábito de fumar actual
- Hipertensión (TA $\geq 140/90$ mmHg o tomar medicamentos antihipertensivos)
- Concentración de colesterol LDL ≥ 160 mg/dl (≥ 4.1 mmol/L), con factor de riesgo ≥ 1
- Concentración de colesterol LDL ≥ 130 mg/dl (3.4 mmol/L), con factores de riesgo ≥ 2
- Concentración de colesterol LDL ≥ 100 mg/dl (2.6 mmol/L), con CC o riesgo equivalente.
- Concentración de colesterol HDL > 40 mg/dl (< 1.0 mmol/L)
- Diabetes mellitus = equivalente de riesgo de CC
- Síndrome metabólico (factores de riesgo metabólico múltiples)

Factores de riesgo negativos

- Concentración de colesterol HDL ≥ 60 mg/dl (≥ 1.6 mmol/L)
- Colesterol LDL < 100 mg/dl (< 2.6 mmol/L)

teína,^{70,72} estableció normas de laboratorio para precisión y exactitud aceptables al medir colesterol total, triglicéridos y colesterol de lipoproteínas (colesterol HDL y LDL) (cuadro 12-6).

Es evidente que la mejor forma de reducir la prevalencia de cardiopatía es a través de la prevención. Aprender y practicar buenos patrones de dieta y ejercicio en los primeros años de la vida, mantener estos patrones toda la vida,⁵⁶ evitar fumar y controlar la presión arterial son medios importantes para reducir la incidencia de CC y accidente cerebrovascular.⁷⁴⁻⁷⁶ Las mediciones del perfil de lipoproteínas proporcionan una manera de identificar a los individuos que pueden tener concentraciones que los ponen en riesgo, de modo que puedan recibir tratamiento para reducir el nivel de riesgo. El tratamiento de otras enfermedades que pueden afectar a las lipoproteínas, como la diabetes mellitus, hipotiroidismo y enfermedad renal, también es importante.

Una dieta prudente, baja en grasa y colesterol, con una ingestión calórica ajustada para satisfacer y mantener el peso corporal ideal, junto con ejercicio regular, puede reducir el riesgo de cardiopatía, accidente cerebrovascular, diabetes y cáncer.⁷⁷⁻⁸⁰ Se ha demostrado que la ingestión dietética de grasa y colesterol tiene un efecto sinérgico, de modo que el colesterol dietético es absorbido de manera más eficiente en presencia de grasa.⁸¹ Además, la grasa saturada es más aterogénica que la grasa insaturada.^{56,82,83} La *American Heart Association* ha recomendado normas dietéticas para la ingestión de grasa y colesterol para la mayor parte de los adultos estadounidenses (cuadro 12-7).

CUADRO 12-5. NORMAS DE TRATAMIENTO ESTABLECIDAS POR LOS GRUPOS DE TRATAMIENTO DE ADULTOS NCEP (LA PRUEBA INICIAL DEBE CONSISTIR EN AYUNO ≥ 12 HORAS)

CATEGORÍA DE RIESGO Y ACCIÓN	
CT, <200 mg/dl (5.2 mmol/L); TG, <150 mg/dl (<1.7 mmol/L); CLDL, <130 mg/dl (<3.4 mmol/L); CHDL, ≥ 40 mg/dl (≥ 1.0 mmol/L)	<p>Repetir dentro de cinco años</p> <p>Proveer información de reducción de riesgo</p>
CT, 200 a 239 mg/dl (5.2 a 6.2 mmol/L); TG, 150 a 199 mg/dl (1.7 a 2.2 mmol/L); CLDL, 130 a 159 mg/dl (3.4 a 4.1 mmol/L); CHDL, ≥ 40 mg/dl (1.0 mmol/L), y 0 a 1 factores de riesgo	<p>Proveer dieta con CTEV e información de actividad física y evaluar de nuevo en 1 año</p> <p>Proveer información de reducción de riesgo</p>
CT, ≥ 200 mg/dl (5.2 a 6.2 mmol/L); TG, ≥ 200 mg/dl (≥ 2.2 mmol/L); CLDL, 130 a 159 mg/dl (3.4 a 4.1 mmol/L); CHDL, <40 mg/dl (1.0 mmol/L), y factores de riesgo ≥ 2	<p>Hacer la evaluación clínica, incluso los antecedentes familiares</p> <p>Iniciar tratamiento con dieta (véase a continuación)</p>
CT, ≥ 240 mg/dl (6.2 mmol/L)	<p>Realizar análisis de lipoproteínas (véase abajo)</p>

DECISIONES DE TRATAMIENTO		
CATEGORÍA DE RIESGO	CONCENTRACIÓN DE ACCIÓN	OBJETIVO
Terapia dietética		
Sin CC; factores de riesgo 0-1	≥ 160 mg/dl (4.1 mmol/L)	<160 mg/dl (4.1 mmol/L)
Sin CC; ≥ 2 factores de riesgo (riesgo de 10 años, $\geq 20\%$)	≥ 130 mg/dl (3.4 mmol/L)	<130 mg/dl (3.4 mmol/L)
CC; equivalente de riesgo de CC (riesgo de 10 años, $>20\%$)	>100 mg/dl (2.6 mmol/L)	<100 mg/dl (2.6 mmol/L)
Tratamiento con fármacos		
Sin CC; factores de riesgo 0 a 1	≥ 190 mg/dl (4.9 mmol/L)	<160 mg/dl (4.1 mmol/L)
Sin CC; factores de riesgo ≤ 2 (riesgo de 10 años, $\leq 10\%$)	≥ 160 mg/dl (4.1 mmol/L)	<130 mg/dl (3.4 mmol/L)
Sin CC; factores de riesgo ≤ 2 (riesgo de 10 años, 10 a 20%)	≥ 130 mg/dl (4.1 mmol/L)	<100 mg/dl (3.4 mmol/L)
CC; equivalente de riesgo de CC	≥ 130 mg/dl (3.4 mmol/L)	<100 mg/dl (2.6 mmol/L)

CUADRO 12-7. COMPOSICIÓN DE LA DIETA CON CAMBIOS TERAPÉUTICOS EN EL ESTILO DE VIDA (CTEV) RECOMENDADOS POR EL GRUPO III DE TRATAMIENTO DE ADULTOS NCEP (EN COMPARACIÓN CON LA DIETA ESTADOUNIDENSE PROMEDIO)

NUTRIMENTO DIETÉTICO	DIETA CTEV	DIETA DEL ESTADOUNIDENSE PROMEDIO
Grasa total (% de calorías totales)	25–35%	36%
Saturada	$<7\%$	15%
Monoinsaturada	$\leq 20\%$	15%
Poliinsaturada	$\leq 10\%$	6%
Colesterol		>400 mg/día
Carbohidratos	50–60%	
Fibra	20–30 g/día	
Proteína	$\sim 15\%$	

CUADRO 12-6. OBJETIVOS DE DESEMPEÑO ANALÍTICO NCEP

	PRECISIÓN	SESGO	ERROR TOTAL
Colesterol total	CV 3%	$\pm 3\%$	$\pm 8.9\%$
Colesterol HDL			
≥ 42 mg/dl	CV 4%	$\pm 5\%$	$\pm 12.8\%$
<42 mg/dl	DE		
	<1.7 mg/dl		
Colesterol LDL	CV 4%	$\pm 4\%$	$\pm 11.8\%$
Triglicéridos	CV 5%	$\pm 5\%$	$\pm 14.8\%$

ESTUDIO DE CASO 12-2

Un varón de 30 años de edad con dolor de tórax fue llevado al departamento de urgencias después de un juego de softbol. Se colocó al paciente en la unidad de atención coronaria cuando su ECG mostró ondas erráticas en la región ST. En los antecedentes familiares se encontró que su padre murió de ataque cardíaco a la edad de 45 años. El paciente había sido siempre atlético cuando cursó la preparatoria y la universidad, así que no se había preocupado de llevar una rutina física. Se ejecutaron las pruebas de laboratorio listadas en el cuadro 12-2.1 de estudio de caso.

Preguntas

1. Considerando los síntomas y los antecedentes familiares, ¿qué pruebas adicionales se deben recomendar?
2. Si su seguimiento de colesterol total permanece en el mismo intervalo después que es dado de alta del hospital, y sus concentraciones de triglicéridos y colesterol HDL están dentro del intervalo normal, ¿qué curso de tratamiento se debe recomendar?

CUADRO 12-2.1 DE ESTUDIO DE CASO.
RESULTADOS DE LABORATORIOS

ANÁLITO	VALOR DEL PACIENTE	INTERVALO DE REFERENCIA
Sodio	139	135–143 mEq/L
Potasio	4.1	3.0–5.0 mEq/L
Cloruro	101	98–103 mEq/L
Contenido de CO ₂	29	22–27 mmol/L
Proteína total	6.9	6.5–8.0 g/dl
Albúmina	3.2	3.5–5.0 g/dl
Calcio	9.3	9.0–10.5 mg/dl
Colesterol	278	140–200 mg/dl
Ácido úrico	5.9	3.5–7.9 mg/dl
Creatinina	1.1	0.5–1.2 mg/dl
NUS	20	7–25 mg/dl
Glucosa	97	75–105 mg/dl
Bilirrubina total	0.8	0.2–1.0 mg/dl
Fosfatasa alcalina	20	7–59 IU/L
Deshidrogenasa de lactato	175	90–190 IU/L
Trasaminasa de aspartato	35	8–40 IU/L
Amilasa	98	76–375 IU/L

PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y
TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD

Las enfermedades relacionadas con las concentraciones anormales de lípidos se denominan *dislipidemias*. Pueden ser causadas de forma directa por anomalías genéticas o por desequilibrios ambientales o de estilo de vida, o pueden ser una consecuencia de otras enfermedades.⁸⁴⁻⁸⁶ Por lo general, las dislipidemias se definen por las características clínicas de los pacientes y los resultados de las pruebas de sangre, y no necesariamente se definen por el defecto específico relacionado con la anomalía. Muchas dislipidemias, sin importar la causa, se relacionan con CC o arteriosclerosis.

Arteriosclerosis

En Estados Unidos y muchos otros países desarrollados, la *arteriosclerosis* es la única causa principal de muerte y discapacidad. La tasa de mortalidad ha disminuido en Estados Unidos en los años pasados, en parte como resultado de avances en el diagnóstico y tratamiento, pero también como resultado de cambios en el estilo de vida de la población estadounidense, que resulta de la mayor conciencia de la relación entre el colesterol y la cardiopatía. Esta mayor conciencia ha dado como resultado una disminución global en la concentración de colesterol sérico promedio y

una menor prevalencia de cardiopatía; sin embargo, aún exceden las otras causas de muerte combinadas. Tanto mujeres como varones desarrollan arteriosclerosis; sin embargo, en promedio, las mujeres las desarrollan 10 años después que los varones.

La relación entre la cardiopatía y las anomalías de lípidos proviene de la sedimentación de lípidos, sobre todo en la forma de colesterol esterificado, en las paredes de las arterias. Esta sedimentación de lípidos comienza con las capas delgadas llamadas *rayas de grasa*. En estudios en los que se examinan los vasos sanguíneos en la necropsia, se han visto rayas de grasa en casi todas las personas mayores de 15 años de edad, sin importar la causa de la muerte.^{87,88} Las rayas de grasa se pueden convertir con el tiempo en placas que bloquean en parte (ocluyen) el flujo sanguíneo. Cuando se forma la placa en las arterias de los brazos o piernas, se llama enfermedad vascular periférica (EVP); cuando se forma en el corazón, se conoce como enfermedad coronaria (EC), y cuando se forma en los vasos del cerebro, se llama enfermedad cerebrovascular (ECV). La EC se relaciona con angina e infarto de miocardio, y la ECV se relaciona con accidente cerebrovascular. Muchas anomalías genéticas y adquiridas también pueden originar depósitos de lípidos en el hígado y el riñón, lo que da como resultado una función deteriorada de estos órganos vitales. Los depósitos de lípido en la

piel forman nódulos llamados *xantomas*, que son una pista para anomalías genéticas.

La formación de placa conlleva lesión celular, seguida de infiltración y proliferación celular para reparar el sitio. Cuando la sangre viaja por los vasos sanguíneos, ocurren pequeñas lesiones que sirven de señal para que macrófagos y plaquetas sanen la lesión. La LDL lleva colesterol al sitio para que se puedan formar nuevas membranas celulares y los macrófagos puedan reparar el área. La LDL que ha sido modificada por procesos oxidativos y alteraciones químicas puede ser captada por los macrófagos, y se producen células espumosas. Estas se acumulan debajo de la capa endotelial de la pared arterial. Las lesiones futuras dan lugar a más depósitos y, por último, se forma la placa. La lesión continua y la reparación causan más estrechamiento de la abertura de los vasos, o luz, lo que provoca que la sangre circule bajo presión cada vez mayor.

Los depósitos en las paredes de los vasos se relacionan con frecuencia con concentraciones séricas incrementadas de colesterol LDL o concentraciones reducidas de colesterol HDL.^{65,93-95} Disminuir la concentración de colesterol LDL es un paso importante en evitar y tratar la CC.⁹⁵⁻¹⁰⁰ Se estima que para cada disminución de 1% en la concentración de colesterol LDL hay una disminución de 2% en el riesgo de una persona de desarrollar arteriosclerosis.¹⁰¹ Para pacientes con cardiopatía establecida, los estudios han mostrado que el tratamiento firme para reducir las concentraciones de colesterol LDL debajo de 100 mg/dl (2.6 mmol/L) es efectivo en la estabilización y a veces regresión de las placas.¹⁰²⁻¹⁰⁵ Se considera que la estabilización de la placa es al menos tan importante como la regresión en términos de rotura potencial.^{103,104,106}

En algunos individuos, las concentraciones altas de colesterol sanguíneo o triglicéridos son causadas por anomalías genéticas en las que se sintetiza demasiado o se elimina muy poco.^{86,107-112} Sin embargo, en la mayoría de las personas las concentraciones altas de colesterol o triglicéridos, o ambas, son resultado del alto consumo de alimentos ricos en grasa y colesterol, el hábito de fumar y la falta de ejercicio, o por otros trastornos o estados morbosos que afectan el metabolismo de lípidos, como la diabetes, hipertensión, hipotiroidismo, obesidad, otros desequilibrios hormonales, enfermedades del hígado y riñón y alcoholismo. Las concentraciones bajas de colesterol HDL se relacionan también con el mayor riesgo de cardiopatía.^{65,110,111} pero pocas terapias incrementan de modo significativo las concentraciones de colesterol HDL. Las terapias con estatina y fibrato son bien toleradas y producen incrementos pequeños (5 a 10%) en las concentraciones de colesterol HDL, al mismo tiempo que reducen el colesterol LDL y las concentraciones de triglicéridos, las cuales son benéficas para la reducción de riesgo de CC.¹¹³⁻¹¹⁷ El uso de gemfibrozilo en *Veterans' Affairs HDL Intervention Trial* para elevar las concentraciones de colesterol HDL en pacientes con CC con concentraciones bajas en la línea base, mostraron beneficio directo, significativo, a partir del aumento de 7% en las concentraciones de colesterol HDL en la prueba.¹¹⁴

Los análisis de laboratorio pueden ayudar al diagnóstico de arteriosclerosis. Las determinaciones exactas de

concentraciones de colesterol total, HDL y LDL pueden indicar la necesidad para terapia con dieta o con dieta y fármacos. Como se muestra en el cuadro 12-5, los individuos con una dieta baja en grasa que continúan con concentraciones de colesterol LDL ≥ 190 mg/dl (≥ 4.9 mmol/L) en la medición repetida se beneficiarán de la intervención con fármacos. Si tienen dos o más factores de riesgo de EC y continúan con concentraciones de colesterol LDL ≥ 160 mg/dl (≥ 4.1 mmol/L), también se beneficiarán de la terapia con fármacos. Y si ya se les ha diagnosticado cardiopatía, el tratamiento con fármacos se considera cuando la concentración de colesterol LDL es ≥ 130 mg/dl (≥ 3.4 mmol/L). Para determinar el tratamiento se debe usar el promedio de por lo menos dos mediciones, tomadas con separación de 1 a 8 semanas.⁷³

Los tratamientos con fármacos secuestradores de ácidos biliares, como la colestiramina, tienen como finalidad secuestrar colesterol en el intestino de modo que no sea absorbido y, hasta hace poco, eran considerados como los únicos fármacos seguros para uso en niños.¹⁰¹ Sin embargo, los secuestradores de ácidos biliares tienen efectos adversos incómodos, como distensión abdominal y estreñimiento, y son mal tolerados. La clase más reciente de fármacos incluye los inhibidores lovastatina, simvastatina, pravastatina, fluvastatina, atorvastatina y rosuvastatina de HMG-CoA reductasa. Estos fármacos, conocidos como estatinas, bloquean la síntesis de colesterol intracelular al inhibir la enzima HMG-CoA reductasa. Las cuestiones de seguridad principales son los efectos hepatotóxicos de la miositis; sin embargo, el monitoreo de pacientes en las pruebas clínicas ha mostrado que menos de 2% de los pacientes tienen incrementos sostenidos de enzimas hepáticas. Estos fármacos son eficaces para reducir el colesterol LDL 20 a 40% y, por lo general, son bien tolerados.^{97-100,102,115-117} Estudios recientes de terapia con estatinas en niños con hipercolesterolemia familiar indican que esta terapia también es efectiva, bien tolerada, y al parecer también es segura para ellos.¹¹⁸⁻¹²⁰ La niacina es un fármaco potente para reducir el colesterol LDL y elevar las concentraciones de colesterol HDL; sin embargo, causa rubor y diarrea en muchos pacientes, y puede ser hepatotóxico y agravar la intolerancia a la glucosa y la hiperuricemia.¹²¹ Otros fármacos son el probucol, que evita la oxidación de lípidos y la captación de macrófagos,¹²² y derivados de ácido fibríco, como clofibrato, gemfibrozilo, fenofibrato y etiofibrato, que reducen las concentraciones de triglicérido y colesterol VLDL e incrementan el colesterol HDL.^{113,121}

Hiperlipoproteinemia

Las lipoproteínas son vehículos de transporte complejos para mover colesterol, ésteres de colesterol y triglicéridos en la sangre. Los estados morbosos relacionados con los lípidos séricos anormales suelen deberse a disfunciones en la síntesis, transporte o catabolismo de lipoproteínas.^{110,121} Las dislipidemias se pueden subdividir en dos categorías principales: *hiperlipoproteinemias*, que son enfermedades relacionadas con concentraciones altas de lipoproteínas e *hipolipoproteinemias*, que se relacionan con concentra-

ciones bajas de lipoproteína. Las hiperlipoproteinemias se pueden subdividir en hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e hiperlipidemia combinada con incrementos de colesterol y triglicéridos.

Hipercolesterolemia

La *hipercolesterolemia* es la anormalidad lipídica que guarda una estrecha relación con la cardiopatía.⁶⁵ Una forma de la enfermedad, que se relaciona con anormalidades genéticas que predisponen a los individuos afectados a concentraciones altas de colesterol, se llama hipercolesterolemia familiar (HF). Por fortuna los homocigotos para HF son raros (1:1 000 000 en la población), pero pueden tener concentraciones de colesterol total tan altas como 800 a 1 000 mg/dl (20 a 26 mmol/L). Estos pacientes con frecuencia tienen su primer ataque cardíaco cuando aún están en la adolescencia.¹²³ Los heterocigotos para esta enfermedad son mucho más frecuentes porque la enfermedad es causada por un trastorno codominante autosómico. Los heterocigotos tienden a tener concentraciones de colesterol total en el intervalo de 300 a 600 mg/dl (8 a 15 mmol/L) y, si no reciben tratamiento, muestran síntomas de cardiopatía en el intervalo de edad de 20 a 50 años. Casi 5% de los pacientes menores de 50 años con EC son heterocigotos para HF. Otros síntomas relacionados con la HF incluyen xantomas tendinosos y tuberosos, que son depósitos de colesterol bajo la piel, y el arco, que son depósitos de colesterol en la córnea.¹¹⁰

En homocigotos y heterocigotos, el incremento de colesterol se relaciona sobre todo con un incremento en el colesterol LDL. Estos individuos sintetizan colesterol intracelular normalmente, pero carecen, o tienen una deficiencia, de receptores de LDL activos. En consecuencia, el colesterol derivado por absorción e incorporado en LDL se acumula en la circulación porque no hay receptores para enlazar la LDL y transferir el colesterol a las células. Sin embargo, las células que requieren colesterol para uso en la membrana celular y producción de hormonas, sintetizan colesterol intracelularmente a una tasa incrementada para compensar la falta de colesterol del mecanismo mediado por receptores.

En los heterocigotos para HF y otras formas de hipercolesterolemia en las que hay actividad insuficiente de receptores de LDL, la reducción en la tasa de síntesis interna de colesterol, a través de la inhibición de la actividad de HMG-CoA reductasa mediante el uso de inhibidores de HMG-CoA reductasa (estatinas), estimula la producción de receptores adicionales, y se incrementa la interiorización celular de colesterol de LDL que, a su vez, disminuye las concentraciones séricas. No obstante, los homocigotos, no se pueden beneficiar en forma significativa de este tipo de terapia porque no tienen receptores funcionales que estimular. Los homocigotos dependen sobre todo de una técnica llamada *féresis de LDL*, un método similar al tratamiento de diálisis empleada en personas con insuficiencia renal, en el que se extrae sangre del paciente en forma periódica, se procesa para eliminar LDL y se regresa al paciente.^{123,124}

La mayor parte de los individuos con concentraciones altas de colesterol LDL no tienen HF, pero aún es alto el riesgo de sufrir CC prematura^{56,65,69,73,101} y se deben mantener con una dieta baja en grasa y colesterol, con ingestión calórica ajustada para conseguir o mantener un peso corporal ideal.^{56,1125-127} Se debe incorporar la actividad física regular, con tratamiento farmacológico adicional cuando sea necesario (cuadro 12-5).

Hipertrigliceridemia

El grupo de tratamiento de adultos del NCEP ha establecido las concentraciones límite altas de triglicéridos como 150 a 200 mg/dl (1.7 a 2.3 mmol/L), altas como 200 a 500 mg/dl (2.3 a 5.6 mmol/L) y muy altas como >500 mg/dl (5.6 mmol/L).⁷³ La *hipertrigliceridemia* puede derivar de anormalidades genéticas, conocida como *hipertrigliceridemia familiar*, o de causas secundarias, como anormalidades hormonales relacionadas con el páncreas, glándulas suprarrenales e hipófisis, o de diabetes mellitus o nefrosis. La diabetes mellitus origina mayor desviación de glucosa en la vía de la pentosa, lo que causa mayor síntesis de ácidos grasos. La nefrosis reduce la eliminación de constituyentes de alto peso molecular como triglicéridos, que causan mayores concentraciones séricas. La hipertrigliceridemia es por lo general un resultado de un desequilibrio entre la síntesis y aclaramiento de VLDL en la circulación.¹²⁸⁻¹²³ En la mayor parte de los estudios, la hipertrigliceridemia no ha sido implicada por estadísticas como un factor de riesgo independiente para CC, pero muchos pacientes con CC tienen concentraciones moderadamente altas de triglicéridos junto con concentraciones reducidas de colesterol HDL.^{132,133} Es difícil separar el riesgo relacionado con concentraciones altas de triglicéridos del de una concentración baja de colesterol HDL porque los dos están relacionados y las concentraciones séricas también lo están, por lo general, de manera inversa.

Los triglicéridos están afectados por varias hormonas, como la insulina pancreática y el glucagon, la hormona de crecimiento pituitaria, la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) y la tirotropina y la adrenalina y noradrenalina de la médula suprarrenal del sistema nervioso. La adrenalina y la noradrenalina afectan las concentraciones de triglicéridos séricos al activar la producción de lipasa sensible a hormona, que se localiza en el tejido adiposo.¹³⁴ Otros procesos del cuerpo que provocan la actividad de la lipasa sensible a hormonas son el crecimiento celular (hormona del crecimiento), la estimulación suprarrenal (ACTH), estimulación de la tiroides (tirotropina) y el ayuno (glucagon). Cada proceso, por su acción en la lipasa sensible a hormona, da como resultado un incremento en la valores de triglicéridos séricos.

Aunque la hipertrigliceridemia grave (>500 mg/dl [5.6 mmol/L]) no se relaciona con riesgo alto para CC, es una anormalidad con posibilidad de poner en riesgo la vida porque puede causar *pancreatitis* (inflamación del páncreas) aguda y recurrente.^{121,134,135} Por tanto, es imperativo diagnosticar a estos pacientes y tratarlos con medicación para disminuir triglicéridos y vigilarlos de cerca. Por lo

general, la hipertrigliceridemia grave es causada por una deficiencia de LPL o por una deficiencia de apolipoproteína C-II, que es un cofactor necesario para actividad de LPL.¹³⁶ Normalmente, la LPL hidroliza los triglicéridos llevados en quilomicrones y VLDL para proveer células con ácidos grasos libres para energía desde fuentes de triglicéridos exógenos y endógenos. Una deficiencia en la actividad de LPL o apo C-II evita que los triglicéridos sean eliminados, y los triglicéridos séricos permanecen en concentraciones muy altas, aun cuando el paciente ha ayunado durante 12 a 14 horas.

El tratamiento de la hipertrigliceridemia consiste en modificaciones dietéticas, aceite de pescado, fármacos que disminuyen los triglicéridos (sobre todo, derivados de ácido fibrótico) en casos de hipertrigliceridemia grave o cuando un valor de colesterol HDL bajo indica riesgo de CC y a veces aceites con composiciones específicas de ácidos grasos.^{137,138} Es posible que sólo ciertas subespecies de quilomicrones y VLDL sean aterogénicas. Los remanentes de quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) representan subespecies que han sido hidrolizadas en parte por lipasas, y se considera que son en particular aterogénicas.¹³⁹⁻¹⁴³ La nueva metodología para aislar remanentes de quilomicrones y VLDL posibilita estudiar en la actualidad la aterogenicidad potencial de estas partículas.¹⁴⁴⁻¹⁴⁶

Hiperlipoproteinemia combinada

La *hiperlipoproteinemia combinada* se define por lo general como la presencia de concentraciones altas de colesterol sérico total y triglicéridos. Se considera que los individuos que presentan este síndrome tienen mayor riesgo de CC. En la forma derivada genéticamente, llamada *hiperlipoproteinemia combinada familiar* (HCF), algunos individuos de la familia afectada pueden tener sólo colesterol alto; otros, sólo concentración alta de triglicéridos, e incluso otros, concentraciones altas de ambos.

Otra forma genética rara de hiperlipoproteinemia combinada se llama *disbetalipoproteinemia familiar*, o hiperlipoproteinemia tipo III. El nombre hiperlipoproteinemia tipo III es un vestigio de un sistema de clasificación que desarrollaron Fredrickson y cols.¹⁴⁷ que por lo demás en general ya no se usa. La enfermedad resulta de una acumulación de VLDL rica en colesterol y remanentes de quilomicrones como resultado del catabolismo defectuoso de estas partículas. La enfermedad se relaciona también con la presencia de una forma relativamente rara de apo E, llamada apo E2/2. Los individuos con hiperlipoproteinemia tipo III con frecuencia tendrán valores de colesterol total de 200 a 300 mg/dl (5 a 8 mmol/L) y triglicéridos de 300 a 600 mg/dl (3 a 7 mmol/L). Para distinguirlos de los individuos con otras hiperlipoproteinemias combinadas, es necesario aislar primero la fracción de VLDL de su suero por centrifugación. Una relación obtenida de la concentración de colesterol de VLDL a triglicéridos séricos totales será >0.30 en presencia de hiperlipoproteinemia tipo III. Si la fracción de VLDL está sujeta a electroforesis de agarosa, las partículas migrarán en una región β amplia, en

vez de en la región pre- β normal. El diagnóstico definitivo requiere una determinación de isoformas apo E mediante enfoque isoelectrónico o tipificación de DNA, lo que da como resultado homocigosidad de apo E2/2 o, rara vez, deficiencia de apo E. Sin embargo, el tratamiento no depende por completo del diagnóstico porque estos pacientes se pueden tratar con terapia estándar de dieta, niacina, genfibrozilo e inhibidores de HMG-CoA reductasa, como dictan los resultados clínicos de lipoproteína. Como resultado de la composición rica en colesterol de estas partículas, el uso de la ecuación de Friedewald¹⁴⁸ para calcular las concentraciones de colesterol LDL dará como resultado una subestimación de colesterol VLDL y, por tanto, una sobrestimación de colesterol LDL, en comparación con la betacuantificación.^{149,150}

Incremento de Lp(a)

Se considera en la actualidad que los incrementos en la concentración sérica de Lp(a) confieren un mayor riesgo de CC y ECV.¹⁵¹⁻¹⁵⁵ Se han observado concentraciones altas de Lp(a) en pacientes con CC que en sujetos de control normales, aunque en los estudios prospectivos no se ha determinado de manera concluyente la relación positiva.^{156,157} La Lp(a) es una variante de la LDL con una apolipoproteína extra, llamada apo (a); el tamaño y las concentraciones séricas de Lp(a) están determinadas genéticamente.¹⁵⁸ Debido a que la apo (a) tiene un alto grado de homología con el factor de coagulación, plasminógeno,¹⁵⁹ la hipótesis aterogénica general tiene que ver con la competencia entre plasminógeno y apo (a) por sitios de enlace de fibrina.¹⁶⁰⁻¹⁶² Bajo esta hipótesis, la competencia exitosa por apo (a) bloqueará al plasminógeno, y se forman coágulos a lo largo de la pared arterial que no se disolverán. La mayor parte de los fármacos que disminuyen a la LDL no tienen efecto en la concentración de Lp(a), aun cuando se reduzca el colesterol en forma significativa. Los dos fármacos que han mostrado algún efecto son la niacina y el estrógeno de reemplazo en mujeres posmenopáusicas. Sin embargo, hasta que se confirme mediante estudios prospectivos la aterogenicidad de la Lp(a), no se recomienda el tratamiento con niacina excepto junto con otras condiciones dislipídicas en las que está indicada la niacina.

Hipolipoproteinemia

Las *hipolipoproteinemias* son anormalidades marcadas por concentraciones reducidas de lipoproteína. Hay dos categorías principales: *hipoalfalipoproteinemia* y *hipobetalipoproteinemia*. La hipobetalipoproteinemia se relaciona con concentraciones bajas aisladas de colesterol LDL (es decir, sin otros trastornos lipoproteínicos adicionales), pero debido a que por lo general no está relacionada con CC, no se analiza más.

Hipoalfalipoproteinemia

La *hipoalfalipoproteinemia* indica una reducción aislada de HDL circulante, definido en la actualidad por el NCEP

ESTUDIO DE CASO 12-3

A un varón de raza blanca de 43 años de edad se le diagnosticó hiperlipidemia a la edad de 13 años cuando su padre murió de infarto de miocardio a la edad de 34 años. El abuelo del paciente murió a la edad de 34 años, también de infarto de miocardio. En la actualidad, el hombre está activo y asintomático con respecto a CC. Toma 40 mg de lovastatina (Mevacor), 2 veces/día (dosis máxima). Antes había tomado niacina, pero no la toleraba debido a que le provocaba rubor y trastornos gastrointestinales, tampoco podía tolerar la resina colestiramina (Questran). Su examen físico es notable por engrosamiento y xantomas del tendón de Aquiles y un ruido carotídeo derecho.

Preguntas

1. ¿Cuál es su diagnóstico?
2. ¿Requiere un estudio diagnóstico adicional?
3. ¿Qué otras pruebas de laboratorio se deben hacer?
4. ¿Necesita tratamiento farmacológico adicional? En caso afirmativo, ¿cuál?

CUADRO 12-3.1 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

Triglicéridos	91 mg/dl
Colesterol total	269 mg/dl
Colesterol HDL	47 mg/dl
Colesterol LDL	204 mg/dl
Aminotransferasa de aspartato (AST)	34 U/L
Aminotransferasa de alanina (ALT)	36 U/L
Fosfatasa alcalina (ACP)	53 U/L
Electrólitos y glucosa en ayuno normal	normal

ESTUDIO DE CASO 12-4

Una mujer de 60 años de edad acude a consulta con su médico porque tiene problemas urinarios. Como antecedentes clínicos tiene hipertensión y episodios de edema. El médico ordenó varias pruebas de laboratorio en sangre extraída en su consultorio. Los resultados se muestran en el cuadro 12-4.1 de estudio de caso.

Preguntas

1. ¿Cuáles son los resultados anormales en este caso?
2. ¿Por qué se considera que los triglicéridos son anormales?
3. ¿Cuál es la enfermedad principal que exhiben los datos de laboratorio para este paciente?

CUADRO 12-4.1 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

ANALITO	VALORES DEL PACIENTE	INTERVALO DE REFERENCIA
Na ⁺	149	135–143 mEq/L
K ⁺	4.5	3.0–5.0 mEq/L
Cl ⁻	120	98–103 mEq/L
Contenido de CO ₂	12	22–27 mmol/L
Proteína total	5.7	6.5–8.0 g/dl
Albumina	2.3	3.5–5.0 g/dl
Calcio	7.6	9.0–10.5 mg/dl
Colesterol	201	140–200 mg/dl
Ácido úrico	15.4	3.5–7.9 mg/dl
Creatinina	4.5	0.5–1.2 mg/dl
NUS	87	7–25 mg/dl
Glucosa	88	75–105 mg/dl
Bilirrubina total	1.3	0.2–1.0 mg/dl
Triglicéridos	327	65–157 mg/dl
Deshidrogenasa de lactato	200	90–190 IU/L
Trasaminasa de aspartato	45	8–40 IU/L
Amilasa	380	76–375 IU/L

como una concentración de colesterol HDL <40 mg/dl (1.0 mmol/L),⁷³ sin la presencia de hipertrigliceridemia. El término *alfa* denota la región en que migra la HDL en electroforesis de agarosa. Hay varios defectos, con frecuencia determinados genéticamente, que se relacionan con hipoalfalipoproteinemia.¹⁶³⁻¹⁶⁸ Casi todos estos defectos se relacionan con un mayor riesgo de CC prematura. Una forma extrema de hipoalfalipoproteinemia, *enfermedad de Tangier*, se relaciona con concentraciones de colesterol HDL tan bajas como 1 a 2 mg/dl (0.03 a 0.05 mmol/L) en homocigotos, acompañadas por concentraciones de colesterol total de 50 a 80 mg/dl (1.3 a 2.1 mmol/L).

El tratamiento de individuos con disminuciones aisladas de colesterol HDL está limitado. La niacina es un poco eficaz pero tiene efectos adversos, como hepatotoxicidad, que a veces imposibilita su uso, aunque preparaciones de liberación programada más recientes pueden corregir esos efectos; el reemplazo de estrógeno en mujeres posmenopáusicas también es efectivo.^{110,121,169,170}

La hipoalfalipoproteinemia transitoria, aguda, puede verse en casos de estrés fisiológico grave, como infecciones agudas (sobre todo virales), otras enfermedades agudas y procedimientos quirúrgicos.¹⁷¹ El colesterol LDL, así como las concentraciones de colesterol total, se pueden reducir en forma significativa en estas condiciones, pero volver al nivel normal cuando procede la recuperación. Por esta razón, las concentraciones de lipoproteína extraídas durante la hospitalización o con un estado morbooso conocido se deben volver a evaluar en el estado saludable fuera del hospital antes de considerar la intervención.

ANÁLISIS DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS

Medición de lípidos

Los lípidos y las lipoproteínas son indicadores importantes de riesgo de CC, que es una razón importante para su medición en la investigación y en la práctica clínica. En el caso de los laboratorios individuales o fabricantes de diagnóstico, resulta impráctico establecer sus propios puntos de corte con los lípidos como suele hacerse para otros analitos. En cambio, el NCEP ha desarrollado puntos de corte de decisión para caracterizar el riesgo de CC con base en la consideración de distribuciones poblacionales de grandes estudios epidemiológicos, estudios de intervención que demostraron la eficacia de regímenes de tratamiento y efectividad de costos.⁷³ Para mejorar la confiabilidad de las mediciones analíticas, se pusieron en práctica programas de estandarización para los laboratorios de investigación que realizan estudios poblacionales y de intervención, que ayudaron a hacer comparables los resultados entre laboratorios y con el tiempo.¹⁷² En fechas más recientes, los programas de estandarización se han ampliado a los fabricantes de diagnóstico y laboratorios clínicos rutinarios para facilitar la clasificación confiable de pacientes por medio de los puntos de corte de decisión nacionales. Así, la exactitud y estandarización de resultados es especialmente importante con los analitos de lípidos y lipoproteínas.

Medición de colesterol

El estudio diagnóstico de lípidos suele comenzar con la medición de colesterol sérico total. Las lipoproteínas se cuantifican también en general con base en su contenido de colesterol. En los primeros métodos analíticos se empleaban ácidos fuertes (p. ej., ácido sulfúrico o acético) a veces junto con otros compuestos químicos (como anhídrido acético o cloruro férrico) para producir un color mensurable con colesterol.¹⁷³ Debido a que las reacciones de ácido fuerte son relativamente inespecíficas, la extracción parcial o completa mediante disolventes orgánicos se empleaba a veces para mejorar la especificidad. En el método de referencia actual para colesterol se emplea extracción con hexano después de la hidrólisis con KOH alcohólica seguida de la reacción con reactivo de color de Liebermann-Burchard, que comprende los ácidos sulfúrico y acético y anhídrido acético.^{174,175} Este método manual de varios pasos es complicado pero da buena concordancia con el método estándar desarrollado y aplicado en el U.S. National Institute for Standards and Technology, el denominado método definitivo, por medio de espectrometría de masas con dilución isotópica.¹⁷⁶

En años recientes, los reactivos enzimáticos han reemplazado en general a los ácidos fuertes empleados en las reacciones químicas. Las enzimas, seleccionadas para especificidad con el analito de interés, proveen cuantificación bastante exacta sin la necesidad de extracción u otro tratamiento previo. Los reactivos enzimáticos son suaves comparados con los reactivos ácidos anteriores y son más adecuados para la generación moderna de instrumentos robóticos automatizados controlados por microprocesador. Las lipoproteínas, HDL y a veces LDL, se cuantifican en general con base en su contenido de colesterol por medio de los mismos reactivos enzimáticos. Así, las mediciones de colesterol total, LDL y HDL, junto con triglicéridos, se pueden completar de manera rutinaria en paneles en analizadores automatizados discretos o por lotes.

Aunque han sido descritas varias secuencias de reacción enzimáticas, una secuencia (fig. 12-4) es la más común para medir colesterol.¹⁷⁷⁻¹⁷⁹ La enzima hidrolasa de éster de colestero se emplea para romper el residuo de ácido graso de ésteres de colestero, que comprenden cerca de dos tercios de colesterol circulante, y los ésteres de colestero se convierten en colesterol no esterificado o libre. El colesterol libre se hace reaccionar mediante la segunda enzima, oxidasa de colesterol, y se produce peróxido de hidrógeno, que es el sustrato para una segunda reacción de color enzimática con peroxidasa de rábano para acoplar dos compuestos químicos incoloros en un compuesto coloreado. La intensidad del color resultante, proporcional a la cantidad de colesterol, se puede medir mediante un espectrofotómetro, por lo general a una longitud de onda alrededor de 500 nm. Las enzimas y reactivos han mejorado de modo que se pueda esperar que los reactivos comerciales calibrados de manera apropiada den resultados confiables. Esta secuencia de reacción se emplea por lo general en suero sin un paso de extracción pero puede estar sujeta a interferencia. Por ejemplo, la vitamina C y

1. Éster de colesteroilo + H₂O $\xrightarrow{\text{Esterasa de colesteroilo}}$ Colesterol + Ácido graso
2. Colesterol + O₂ $\xrightarrow{\text{Oxidasa de colesterol}}$ Colestenona + H₂O₂
3. H₂O₂ + Colorante $\xrightarrow{\text{Peroxidasa}}$ Color

FIGURA 12-4. Secuencia de ensayo enzimático, colesterol.

la bilirrubina son agentes reductores que pueden interferir con la reacción de color catalizada por peroxidasa.¹⁸⁰

Medición de triglicérido

La medición de triglicéridos séricos junto con el colesterol es útil para detectar ciertos trastornos genéticos y otros tipos de trastornos metabólicos, así como para caracterizar el riesgo de desarrollar enfermedad coronaria. El valor de triglicérido se emplea también por lo común en la estimación de colesterol LDL mediante la ecuación de Friedewald. Varias secuencias de reacción enzimáticas están disponibles para medición de triglicéridos. En todas se emplean lipasas para separar los ácidos grasos del glicerol.¹⁸¹ El glicerol liberado participa en cualquiera de las distintas secuencias enzimáticas. En una de las primeras reacciones más comunes, que finaliza en un producto medido en la región ultravioleta (UV), se emplean cinasas de glicerol y de piruvato, y termina en la conversión de NADH a NAD⁺ con una disminución correspondiente de absorbancia.¹⁸² Esta reacción es susceptible a interferencia y reacciones secundarias. El punto final UV es también menos conveniente para los analizadores modernos, así que esta y otras secuencias UV han sido reemplazadas de forma gradual por una segunda secuencia (fig. 12-5) en la que intervienen cinasa de glicerol y oxidasa de glicerol-fosfato, acoplada con la misma reacción de color de peroxidasa descrita para el colesterol.¹⁸³

Las secuencias enzimáticas de reacción de triglicéridos también reaccionan con glicerol libre endógeno, que está universalmente presente en el suero y constituye una fuente importante de interferencia.^{184,185} En casi todas las muestras, el glicerol libre endógeno contribuye con una sobrestimación de triglicéridos de 10 a 20 mg/dl. Cerca de 20% de las muestras tendrán alto contenido de glicerol, con concentraciones incrementadas en ciertas condiciones como diabetes y hepatopatía o por medicaciones basadas en glicerol. La mayor parte de los laboratorios de investigación incorporan una corrección para glicerol

libre endógeno, pero esta práctica es poco común en los laboratorios clínicos. La corrección más común, designada “blanco de cubeta doble”, se lleva a cabo con una segunda medición paralela por medio de un reactivo de triglicérido sin la enzima lipasa para cuantificar sólo el blanco de glicerol libre. La medición del blanco de glicerol se resta de la medición de glicerol total obtenida con el reactivo completo para determinar un resultado de triglicérido corregido por blanco.¹⁸⁶ Otro método, designado “blanco de cubeta simple”, comienza con el reactivo sin lipasa. Después de una incubación breve, se toma una lectura del blanco para medir sólo glicerol libre endógeno. La enzima lipasa se agrega entonces como un segundo reactivo separado y, después de incubación adicional, se toma una lectura final que, posterior a realizar la corrección respecto al blanco mediante el instrumento, da un valor neto o de triglicérido con supresión de glicerol.¹⁸⁷ Están disponibles reactivos comerciales con supresión de glicerol, pero su alto costo no se justifica tan fácil mediante los requisitos de exactitud en la práctica clínica rutinaria. Una alternativa conveniente puesta en práctica, que no incrementa el costo, designada puesta a cero de calibración, se puede hacer al ajustar los puntos de ajuste del calibrador a valores netos o corregidos por blanco para compensar el contenido promedio de glicerol libre de las muestras. Este método empleado por ciertas compañías que elaboran reactivos para diagnóstico, suele ser muy exacto porque las concentraciones de glicerol libre son en general relativamente bajas y bastante coherentes en la mayor parte de las muestras. Casi todas las muestras tendrán una corrección por blanco razonablemente buena y sólo algunas muestras estarán subcorregidas pero aún mejor que sin el ajuste de calibración.

El método de referencia de triglicérido conlleva hidrólisis alcalina, extracción con disolvente y reacción de color con ácido cromotrópico,¹⁸⁸ un ensayo que es tedioso, está mal caracterizado y sólo se aplica en el laboratorio de estandarización de lípidos en los Centros para Control y Prevención de la Enfermedad de Estados Unidos (CDC).

1. Triglicérido + H₂O $\xrightarrow{\text{Lipasa bacteriana}}$ Ácido graso + Glicerol
2. Glicerol + ATP $\xrightarrow{\text{Glicerocinasa}}$ Glicerofosfato + ADP
3. Glicerofosfato + O₂ $\xrightarrow{\text{Oxidasa de glicerofosfato}}$ Dihidroxiacetona + H₂O₂
4. H₂O₂ + Colorante $\xrightarrow{\text{Peroxidasa}}$ Color

FIGURA 12-5. Secuencia de ensayo enzimática, triglicéridos.

Se ha desarrollado un método de comparación designado más adecuado con extracción por disolvente seguido de un ensayo enzimático óptimo, el cual en fechas recientes han adoptado algunos laboratorios de estandarización.

Sin embargo, se debe notar que la exactitud en las mediciones de triglicéridos para propósitos clínicos podría ser considerada menos importante que para el colesterol porque la variación fisiológica es grande, con coeficiente de variación (CV) en el intervalo de 25 a 30%, lo que hace que la contribución de la variación analítica sea relativamente insignificante.

Métodos de lipoproteína

Se han empleado varios métodos para la separación y cuantificación de lipoproteínas séricas, que aprovechan las propiedades físicas como densidad, tamaño, carga y contenido de apolipoproteínas. El intervalo de densidad observado entre las clases de lipoproteínas es una función del contenido relativo de lípidos y permite el fraccionamiento por ultracentrifugación. Las separaciones electroforéticas aprovechan las diferencias de carga y tamaño. Los métodos de precipitación químicos, que son más comunes en laboratorios clínicos, dependen del tamaño de partícula, carga y diferencias en el contenido de apolipoproteína. Se pueden usar anticuerpos específicos para enlazar y separar clases de lipoproteínas. Los métodos cromatográficos aprovechan las diferencias de tamaño en métodos de cribado molecular o la composición en métodos de afinidad con, por ejemplo, sefarsa de heparina.

En el laboratorio de investigación se han empleado muchos métodos de ultracentrifugación, pero ésta es poco común en el laboratorio clínico.¹⁸⁹ El método más común, llamado *ultracentrifugación preparativa*, emplea ajustes de densidad sucesivos de suero para fraccionar las clases de lipoproteína mayores y menores.¹⁹⁰ Los métodos de gradiente de densidad, ya sea técnicas de no equilibrio en las que las separaciones se basan en la tasa de flotación, o técnicas de equilibrio en las que las lipoproteínas se separan con base en su densidad, permiten el fraccionamiento de varias de las subclases en una sola corrida.¹⁹¹⁻¹⁹⁵ En los métodos disponibles se emplean diferentes tipos de rotores de ultracentrifugadora: cubeta rotatoria, ángulo fijo, vertical, zonal. Los métodos más recientes tienden hacia las separaciones de menor escala en rotores pequeños con ultracentrifugadoras de mesa.^{196,197} La ultracentrifugación, aunque tediosa, cara y técnicamente demandante, aún es un medio útil para la separación de lipoproteínas para fines cuantitativos y aislamientos preparativos. La ultracentrifugación se emplea también en los métodos de referencia para cuantificación de lipoproteínas, que es apropiada porque las lipoproteínas se definen de manera clásica en términos de densidad hidratada.

Los métodos electroforéticos permiten la separación y cuantificación de las principales clases de lipoproteínas y proveen una representación visual útil para detectar patrones inusuales o variantes.^{198,199} El gel de agarosa ha sido el medio más común para la separación de lipoproteínas intactas, y provee una base clara y uso conveniente.²⁰⁰⁻²⁰³

Los métodos electroforéticos, en general, han sido considerados útiles para análisis cualitativo pero menos que deseables para cuantificación de lipoproteínas debido a la escasa precisión y sesgos sistemáticos grandes en comparación con otros métodos.²⁰⁴ Las evaluaciones de sistemas electroforéticos automatizados comerciales más recientes, sin embargo, demuestran que la electroforesis puede ser precisa y exacta.²⁰⁵

La electroforesis en geles de poliacrilamida se emplea para la separación de clases de lipoproteína,²⁰⁶ subclases y las apolipoproteínas.^{207,208} De particular interés son los métodos que fraccionan subclases de LDL para caracterizar las fracciones más aterogénicas, pesadas, sin lípidos y más pequeñas contra las subclases más grandes y ligeras.²⁰⁹

La precipitación química, por lo regular con polianiones, como la heparina y cationes divalentes, como el manganoso, se puede usar para separar las lipoproteínas, pero son más comunes para HDL.²¹⁰⁻²¹² La apo B en VLDL y LDL es rica en aminoácidos con carga positiva, que de preferencia forma complejos con polianiones. La adición de cationes divalentes neutraliza los grupos cargados en las lipoproteínas, lo que hace que se agreguen y se vuelvan insolubles y, como resultado, precipitan y dejan a la HDL en disolución. A concentraciones apropiadas de polianión y catión divalente, la separación es bastante específica.

En los métodos inmunoquímicos, usar anticuerpos específicos para epitopos en las apolipoproteínas, ha sido útil en métodos de investigación y de rutina.^{213,214} Los anticuerpos han sido inmovilizados en soportes sólidos, como una matriz de columna o cuentas de látex. Por ejemplo, las lipoproteínas que contienen apo B, como un grupo se pueden enlazar mediante anticuerpos a la apo B. La selectividad dentro de las lipoproteínas que contienen apo B, como en la eliminación de VLDL mientras se retiene LDL, se puede obtener al incluir anticuerpos para apolipoproteínas menores. La HDL se puede enlazar de manera selectiva con anticuerpos a la apo A-I, la proteína principal de HDL. Como ejemplo, los anticuerpos monoclonales inmovilizados han sido usados para separar una fracción de lipoproteínas remanentes designada PPR (partículas parecidas a las remanentes).¹⁴⁴⁻¹⁴⁶

Métodos de HDL

La medición de colesterol HDL ha asumido cada vez más importancia en las normas de tratamiento NCEP ATP III, liberadas en 2001. En las primeras normas, el colesterol HDL se medía como factor de riesgo pero de otro modo no se consideraba en las decisiones de tratamiento. Siguiendo las recomendaciones de un grupo de consenso patrocinado por los Institutos Nacionales de Salud,⁹⁶ las normas de 1993 NCEP ATP II incluían la medición de colesterol HDL con colesterol total en el primer estudio diagnóstico médico, que se reforzaron mediante las normas ATP III de 2001.⁷³ Debido al riesgo relacionado con el colesterol HDL se expresa sobre un intervalo de concentración relativamente pequeño, la exactitud en la medición adquiere importancia especial.

ESTUDIO DE CASO 12-5

Un dermatólogo envía a su paciente, una mujer de 49 años de edad, a una evaluación de lípidos después de manifestar exantema papular en tronco y brazos. El exantema consistió en lesiones múltiples rojas, protuberantes con centros amarillos. La paciente no tenía antecedentes de tal exantema ni de trastornos lipídicos o de CC. La paciente pasa por la menopausia y se está tratando con reemplazo de estrógenos estándar; por lo demás es saludable.

**CUADRO 12-5.1 DE ESTUDIO DE CASO.
RESULTADOS DE LABORATORIO**

SUERO	MUY LIPÉMICO
Triglicéridos	6200 mg/dl
Colesterol total	458 mg/dl
Glucosa en ayuno	160 mg/dl
Pruebas de función hepática y electrolitos	normal

Para propósitos de diagnóstico rutinario, la HDL ha sido separada casi de forma exclusiva por precipitación química y, durante muchos años, la medición de colesterol HDL ha requerido un procedimiento de dos pasos con pretratamiento manual. Un reactivo de precipitación añadido al suero o plasma agrega proteínas no HDL, que se sedimentan por centrifugación. Los primeros métodos empleaban fuerzas de centrifugación de alrededor de $1\,500 \times$ gravedad, que requerían tiempos de centrifugación prolongados de 10 a 30 min. Los nuevos métodos pasaron a centrifugación con fuerzas de $10\,000$ a $15\,000 \times$ gravedad, y los tiempos de centrifugación se redujeron a 3 min. La HDL se cuantifica entonces como colesterol en el sobrenadante normalmente por uno de los ensayos enzimáticos modificados para el intervalo menor de colesterol HDL.

En el primer método de precipitación común se empleaba heparina en combinación con manganeso para precipitar las lipoproteínas que contenían apo B.²¹⁵⁻²¹⁸ Debido a que el manganeso interfería con los ensayos enzimáticos, se elaboraron otros reactivos.²¹⁹ El fosfotungstato de sodio^{220,221} con magnesio se volvió común en el uso rutinario pero, como resultado de su sensibilidad a condiciones de reacción y mayor variabilidad, fue reemplazado en gran medida por sulfato de dextrano (una heparina sintética) con magnesio.²²² En los primeros métodos con sulfato de dextrano se empleaba material de 500 kD, que se reemplazó por un material de 50 kD, considerado más específico.²¹² El polietilenglicol también precipita lipoproteínas, pero requiere concentraciones de reactivo 100 veces mayores con reactivos altamente viscosos, difíciles de pipetear con precisión.²²³⁻²²⁵ Numerosas versiones comerciales de estos reactivos de precipitación llegaron a estar disponibles pero a menudo daban resultados bastante diferentes en los pri-

Preguntas

1. ¿Qué es el exantema? ¿Cuál es la causa de su exantema?
2. ¿Contribuye su estrógeno oral?
3. ¿Contribuye su glucosa?
4. ¿Qué tratamientos están garantizados y cuál es su riesgo más agudo?

meros años como resultado de la falta de estandarización. Sin embargo, con un proceso de estandarización disponible para los fabricantes de reactivo para certificación de exactitud, las diferencias han tendido a disminuir.

Un problema significativo con métodos de precipitación de HDL es la interferencia de concentraciones altas de triglicérido.²²⁶ Cuando VLDL y quilomicrones ricos en triglicérido están presentes, la baja densidad de las lipoproteínas agregadas puede evitar que sedimenten o incluso causar flotación durante la centrifugación. Esta sedimentación incompleta, indicada por turbiedad o material compuesto por partículas que flotan en el sobrenadante, da como resultado sobrestimación de colesterol HDL. La centrifugación de alta velocidad reducirá la proporción de sobrenadante turbio. La dilución previa de la muestra también promueve el aclaramiento, pero puede conducir a errores en el análisis de colesterol. Los sobrenadantes turbios también se pueden clarificar por ultrafiltración, un método que es confiable pero tedioso e ineficiente. Debido a estas desventajas y a la falta de automatización completa, los métodos de precipitación se fueron quedando rezagados en relación con el laboratorio clínico moderno automatizado.

El resultado ha sido el desarrollo de una nueva clase de métodos directos, denominados a veces *homogéneos*, que agilizan la cuantificación de HDL. Polímeros específicos, detergentes e incluso enzimas modificadas, se emplean para suprimir la reacción enzimática de colesterol en lipoproteínas distintas a HDL.²²⁷ Los reactivos son aptos para automatización completa con la mayor parte de los analizadores de química y son muy adecuados para el laboratorio moderno. En general, se agrega un primer reactivo para “bloquear” lipoproteínas no HDL, seguido de un segundo

reactivo con las enzimas para cuantificar el colesterol accesible (HDL). Los ensayos homogéneos, que al parecer son muy precisos y bastante exactos, fueron adoptados con rapidez y en general reemplazaron a los métodos de pretratamiento en el laboratorio rutinario.²²⁸ Sin embargo, se ha mostrado que los métodos carecen de especificidad para HDL en muestras inusuales (como de pacientes con condiciones hepáticas o renales).²²⁹ Asimismo, los reactivos han estado sujetos a modificaciones frecuentes por parte de los fabricantes en un esfuerzo por mejorar el desempeño, que puede afectar los resultados en estudios de largo plazo. Por estas razones, los métodos no han sido recomendados para uso en laboratorios de investigación.

El método de referencia aceptado para colesterol HDL es un procedimiento de tres pasos desarrollado en el CDC. Este método conlleva centrifugación para eliminar VLDL, precipitación con manganeso de heparina desde el líquido subnadante de 1.006 g/ml para eliminar LDL y análisis de colesterol sobrenadante mediante el ensayo de Abell-Kendall.¹⁷⁵ Debido a que este método es tedioso y caro, el CDC Network Laboratory Group ha validado un método de precipitación directa más simple como un método de comparación designado, por medio de precipitación directa con sulfato de dextrano (50 kD) de suero con análisis de colesterol Abell-Kendall.¹⁷²

Métodos para LDL

El colesterol LDL, bien validado como un factor de riesgo tratable para CC, es la base primaria para decisiones de tratamiento en las normas clínicas del NCEP.⁷³ El método de investigación más común para cuantificación de colesterol LDL y la base para el método de referencia ha sido designado *betacuantificación*, donde beta se refiere al término electrofórico para LDL. La betacuantificación combina ultracentrifugación y precipitación química.^{218,230} La ultracentrifugación de suero en la densidad nativa de 1.006 g/L se emplea para hacer flotar VLDL y quilomicrones para separación. Las fracciones se recuperan pipeteando después de separar las fracciones al cortar en secciones el tubo. La centrifugación ha sido preferida para separación de VLDL porque otros métodos, como la precipitación, no son específicos para VLDL y pueden estar sujetos a interferencia de quilomicrones. En general, la ultracentrifugación es una técnica robusta pero tediosa que puede dar resultados confiables siempre que la técnica sea meticulosa.

En un paso separado, la precipitación química se emplea para separar HDL del suero completo o del subnadante obtenido por ultracentrifugación. El colesterol se cuantifica en el suero, en el subnadante de 1.006 g/ml, y en el sobrenadante de HDL por métodos enzimáticos u otros métodos de ensayo. El colesterol LDL se calcula como la diferencia entre el colesterol medido en el subnadante y en la fracción de HDL. El colesterol VLDL se calcula por lo general como la diferencia entre el suero total y la cantidad en la fracción de subnadante. El requisito para la necesidad de una ultracentrifugadora ha limitado en general la betacuantificación a laboratorios con especialidad en lípidos. La betacuantificación es también

la base para el método de referencia aceptado para LDL. El método es el mismo que el descrito antes para HDL con el colesterol HDL medido restado del de la fracción del fondo para obtener colesterol LDL.

Un método más común que evita la ultracentrifugación, que se emplea tanto en los laboratorios de investigación como los de rutina, es el *cálculo de Friedewald* o *betacuantificación derivada*.¹⁴⁸ El colesterol HDL se cuantifica ya sea después de la precipitación o por medio de uno de los métodos directos, y el colesterol total y los triglicéridos se miden en el suero. El colesterol VLDL se estima como triglicéridos divididos entre 5 (cuando se emplean unidades de mg/dl), una aproximación que funciona bastante bien en la mayor parte de las muestras normolipémicas. La presencia de concentraciones altas de triglicéridos (400 mg/dl es el límite aceptado), quilomicrones y β -VLDL característica de la hiperlipoproteinemia tipo III rara imposibilita esta estimación. El colesterol VLDL estimado y el colesterol HDL medido se restan del colesterol sérico total para estimar o derivar el colesterol LDL.

$LDL = \text{colesterol total} - LDL - \text{trig}/5$. Este método, conocido comúnmente como panel de lípidos y empleado casi de manera universal para estimar el colesterol LDL en la práctica clínica rutinaria, ha sido recomendado por las normas NCEP ATP III. Las investigaciones en los laboratorios de especialidad de lípidos han llevado a pensar que el método es confiable para la clasificación de pacientes, siempre que las mediciones subyacentes se realicen con exactitud y precisión adecuadas.^{231,232} Sin embargo, ha habido interés acerca de la confiabilidad en los laboratorios rutinarios porque el error al calcular el colesterol LDL se combina con el error en las mediciones subyacentes: colesterol total, triglicéridos y colesterol HDL. El grupo de expertos de laboratorio del NCEP revisó los datos de desempeño y concluyó que el nivel de desempeño analítico requerido para derivar colesterol LDL con la exactitud suficiente para satisfacer las necesidades clínicas estaba más allá de la capacidad de la mayor parte de los laboratorios rutinarios. Para cumplir con el objetivo de precisión requerido NCEP de CV de 4% para colesterol LDL (cuadro 12-6), un laboratorio tendría que lograr la mitad de los objetivos NCEP para cada una de las mediciones subyacentes. El grupo del NCEP concluyó que son necesarios mejores métodos para uso diagnóstico rutinario, de preferencia métodos que separan LDL de manera directa para cuantificación de colesterol.⁷¹

En respuesta a la petición del NCEP, se han desarrollado o refinado métodos directos de colesterol LDL para uso general, que son similares a los ensayos homogéneos para colesterol HDL.^{230,233} Además de lograr la automatización completa de la estimulante separación de colesterol LDL, estos ensayos tienen el potencial para agilizar la medición mientras se mejora la precisión. Sin embargo, separar LDL con especificidad adecuada de otras lipoproteínas de esta manera es más estimulante incluso que la de HDL, y las pocas evaluaciones de los métodos directos no han sido prometedoras.²³⁴ Se requerirá más experiencia, en particular con las muestras de composición inusual, para juzgar la conveniencia de las separaciones homogéneas.²³⁵

Analizadores compactos

Los lípidos y lipoproteínas comunes se pueden medir con sistemas de análisis compactos diseñados para uso en las pruebas realizadas en el lugar de la atención al lado de la cama del paciente, en el consultorio médico, en centros de salud e incluso en el hogar.²³⁶ Los primeros sistemas, introducidos en la década de 1980, eran relativamente grandes y medían colesterol y triglicéridos así como otros analitos comunes, casi siempre por separado y en secuencia. Las separaciones de HDL que conllevan pretratamiento fuera de línea se desarrollaron después. Los sistemas posteriores se volvieron más pequeños y complejos, y ofrecían la separación integrada de HDL y análisis de colesterol y triglicéridos al mismo tiempo a partir de sangre obtenida por punción digital. Ahora un sistema puede medir colesterol, triglicéridos, colesterol HDL y glucosa en forma simultánea a partir de una muestra obtenida por punción digital. También están disponibles sistemas sin instrumentos para colesterol total. Estas nuevas tecnologías ofrecen la capacidad de medir lípidos y lipoproteínas con confiabilidad razonable fuera del laboratorio convencional.

Métodos de apolipoproteína

Los lípidos por naturaleza tienden a ser insolubles en el medio acuoso de la circulación; por consiguiente, las lipoproteínas incluyen varios constituyentes proteínicos, designados apolipoproteínas, que además de incrementar la solubilidad desempeñan otras funciones (cuadro 12-2). En la investigación suelen medirse apolipoproteínas, y algunos laboratorios de especialidades capaces de llevar a cabo prácticas cardiovasculares o estudios clínicos las miden de manera rutinaria además de las lipoproteínas. Para propósitos de diagnóstico clínico, tres apolipoproteínas en particular han sido de interés. La apo B, la proteína principal de LDL y VLDL, es un indicador de concentración combinada de LDL y VLDL que se puede medir de manera directa en el suero de inmunoensayo.²³⁷ Algunos investigadores pueden sugerir apo B como una alternativa para la separación y medición del colesterol LDL.²³⁸ La Apo A-I, es la mejor proteína de HDL, puede medir de forma directa en suero en lugar de la separación y análisis de colesterol HDL; sin embargo, debido a que la cuantificación en términos del contenido de colesterol es más común, esta última práctica ha prevalecido. La Lp(a), la variante de LDL, que se ha mostrado es un indicador independiente de riesgo de CC, se determina a veces para tratar a los pacientes. La medición de estas tres apolipoproteínas puede ser útil cuando médicos expertos tratan al paciente, pero no ha sido aceptada o recomendada en alguna de las normas de consenso para uso en la práctica rutinaria. Los resultados de estudios prospectivos han sido inconsistentes en demostrar que son predictores independientes de riesgo de CC.

La Lp(a) tiene movilidad pre- β en la electroforesis de agarosa y puede ser cuantificada por esta técnica. Sin embargo, las apolipoproteínas suelen medirse mediante inmunoensayos de varios tipos, con varios métodos de

equipos comerciales disponibles.²³⁷ Más común en los laboratorios rutinarios son los ensayos nefelométricos para nefelómetros dedicados. En particular para apo B y Lp(a), estos ensayos de dispersión de luz pueden estar sujetos a interferencia de lipoproteínas más grandes ricas en triglicéridos (quilomicrones) y VLDL. También han estado disponibles los métodos de análisis de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), la inmunodifusión radial (IDR) y el radioinmunoensayo, pero estos dos últimos métodos se están volviendo cada vez menos comunes. Los anticuerpos empleados en los inmunoensayos pueden ser monoclonales o policlonales. Los esfuerzos internacionales para desarrollar materiales de referencia y programas de estandarización para los ensayos están en progreso. Debido a que la Lp(a) es heterogénea desde el punto de vista genético, y las concentraciones y riesgo de CC se correlacionan con el tamaño de la isoforma, la evaluación cualitativa de la distribución de isoformas también puede ser importante.¹⁵⁸

Medición de fosfolípidos

La medición cuantitativa de fosfolípidos es rara en la práctica clínica rutinaria. A veces en la investigación se miden fosfolípidos (p. ej., en estudios de influencias dietéticas). Los fosfolípidos lecitina, lisolecitina y esfingomielina que contienen colina, que explican por lo menos 95% de los fosfolípidos totales en el suero, se pueden medir mediante una secuencia de reacción enzimática con fosfolipasa D, oxidasa de colina y peroxidasa de rábano.^{239,240} Los métodos de equipo con esta secuencia enzimática están disponibles de forma comercial. Antes de la disponibilidad de reactivos enzimáticos, el método cuantitativo común tenía que ver con la extracción y digestión ácida con análisis de fósforo total ligado a lípidos.²⁴¹

Ciertos fosfolípidos que contienen colina y, en algunas aplicaciones, sus relaciones, han sido determinados en el laboratorio clínico. Por ejemplo, la madurez pulmonar fetal ha sido evaluada de patrones característicos de fosfolípidos en líquido amniótico. En este caso, los fosfolípidos pueden ser recuperados por extracción con disolventes, aplicados a una placa de gel de sílice para separación al tratar con vapor de yodo. La relación de lecitina a esfingomielina ha sido empleada para predecir la madurez pulmonar fetal.

Medición de ácidos grasos

Aunque los estudios indican que los ácidos grasos tienen potencial para evaluar el riesgo de CC, el análisis se emplea principalmente en laboratorios de investigación para estudios de dieta.⁸² Menos común es su medición en el diagnóstico de condiciones genéticas raras. Por lo general, los ácidos grasos se analizan mediante cromatografía gas-líquido, después de la extracción, hidrólisis alcalina y conversión a ésteres de metilo de diazometano. Un estándar de referencia contiene por lo general laurato, miristato, palmitato, palmitoleato, fitanato, estearato, oleato, linoleato, araquidato y araquidonato.²⁴²

ESTUDIO DE CASO 12-6

En una clínica se tiene a tres pacientes en observación:

- El paciente uno es un varón de 40 años de edad con hipertensión, que también fuma, pero no se le ha diagnosticado CC. Su padre manifestó CC a la edad de 53 años. Él está en ayuno, y los resultados de sus lípidos incluyen una concentración de colesterol total de 210 mg/dl, triglicéridos de 150 mg/dl y un valor de colesterol HDL de 45 mg/dl. Tiene una concentración de glucosa en ayuno de 98 mg/dl.
- El paciente dos es una mujer de 60 años de edad sin antecedentes familiares de CC, que es normotensa y no fuma, con una concentración de colesterol total de 220 mg/dl, triglicéridos de 85 mg/dl y un valor de colesterol de 80 mg/dl. Su concentración de glucosa de ayuno es de 85 mg/dl.
- El paciente tres es un varón de 49 años de edad sin antecedentes personales de CC, y que es hipertenso y no fuma. Su concentración de colesterol total en ayunas es de 260 mg/dl, sus triglicéridos son 505 mg/dl, su colesterol LDL es de 25 mg/dl y su concentración de glucosa es de 134 mg/dl.

Preguntas

Para cada paciente visto en la clínica:

1. ¿Cuál es la concentración de colesterol LDL, calculada con la ecuación de Friedewald?
2. ¿Qué paciente, si hay alguno, debe solicitar una medición de su colesterol LDL, además de ser calculado? ¿Por qué?
3. ¿Cuántos factores de riesgo de CC conocidos tiene cada paciente?
4. Con base en lo que se conoce, ¿son recomendados estos pacientes para terapia de lípidos (dieta o fármacos) y, en caso afirmativo, en qué base?

ESTANDARIZACIÓN DE ENSAYOS DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS

Precisión

La precisión es un requisito para la exactitud; un método puede no tener error sistemático o sesgo global; sin embargo, si es impreciso, será inexacto en mediciones individuales. Con el cambio a analizadores automatizados modernos, la variación analítica se ha vuelto por lo general menos interesante que la biológica y otras fuentes de variación preanalítica. Las concentraciones de colesterol son afectadas por muchos factores que pueden ser clasificados en fuentes biológicas, clínicas y de muestreo.^{243,244}

Los cambios en el estilo de vida que afectan los patrones usuales de dieta, ejercicio, peso y hábito de fumar pueden dar como resultado fluctuaciones en los valores observados de colesterol y triglicéridos, y la distribución de lipoproteínas. De manera similar, la presencia de condiciones clínicas, diversas enfermedades o las medicaciones empleadas en su tratamiento, afectan a las lipoproteínas circulantes. Las condiciones durante la recolección de sangre, como el estado de ayuno, postura, la elección de anticoagulante en el tubo de recolección y las condiciones de almacenamiento, pueden alterar las mediciones. La variación biológica observada característica durante más de un año para colesterol total promedia alrededor de 6.1% CV. En el paciente promedio, las mediciones hechas en el curso de un año caerían 66% de las veces dentro

de $\pm 6.1\%$ de la concentración media de colesterol y 95% de las veces dentro de dos veces este intervalo. Algunos pacientes pueden exhibir sustancialmente más variación biológica. Así, la variación preanalítica por lo general es algo grande en relación con la variación analítica usual, que suele ser menor de 3% CV, y se debe considerar al interpretar los resultados de colesterol. Algunos factores como la postura y la recolección de sangre, se pueden estandarizar para minimizar la variación. Las normas de NCEP recomiendan promediar por lo menos dos mediciones sucesivas para reducir los efectos de las fuentes preanalítica y analítica.⁷³ El uso de punto de corte escalonados también reduce el efecto práctico de la variación.

Exactitud

La exactitud se asegura al demostrar rastreo o acuerdo a través de la calibración para el método de referencia respectivo. Con el colesterol, el sistema de referencia es avanzado y completo, habiendo servido como modelo para la estandarización de otros analitos de laboratorio.^{172,177} El método definitivo en el *National Institute for Standards and Technology* proporciona el último objetivo de exactitud pero es demasiado caro y complicado para uso frecuente.¹⁷⁶ El método de referencia desarrollado y aplicado en el CDC, y calibrado por un estándar de referencia primario aprobado para el método definitivo, proporciona un enlace de referencia práctico, transferible.¹⁷⁵ El método de referencia se ha hecho accesible de manera conveniente a

través de una red de laboratorios estandarizados, la Red de laboratorios para el método de referencia de colesterol. Esta red fue establecida en Estados Unidos y algunos de los países europeos y asiáticos para ampliar la estandarización a fabricantes y laboratorios clínicos.¹⁷² La red proporciona comparaciones de exactitud con muestras de suero nativo nuevo necesarias para la transferencia exacta confiable debido a problemas de interacción analito-matriz en materiales de referencia procesados.²⁴⁵⁻²⁴⁷

Interacciones de matriz

En las primeras etapas de estandarización de colesterol, que estaban dirigidas hacia fabricantes de diagnóstico y laboratorios rutinarios, se empleaban materiales liofilizados. Estos materiales, hechos en grandes cantidades, a menudo con adición artificial de analitos, se analizaban mediante métodos definitivos o de referencia, o ambos, y se distribuían de manera amplia para transferencia de exactitud. Posteriormente, se observaban los sesgos en ensayos enzimáticos en muestras nuevas del paciente. Aunque tales materiales de referencia fabricados son convenientes, estables y recomendables para envío a temperaturas ambiente, el proceso de manufactura, en particular la adición artificial y la liofilización, modificaba las propiedades de medición en ensayos enzimáticos, de modo que los resultados no eran representativos de los de las muestras del paciente. Para lograr la retroalimentación confiable en la exactitud y facilitar la transferencia de la base de exactitud, se determinó que eran necesarios métodos de referencia en las muestras reales del paciente.¹⁷²

Red de laboratorios para el método de referencia de colesterol del CDC

En respuesta, se organizó el programa de red de colesterol del CDC. (Información disponible en: <http://www.cdc.gov/nceh/dls/crmln/crmln.htm>). La red ofrece programas de certificación formales para colesterol total, HDL y LDL, así que los laboratorios y fabricantes pueden documentar el seguimiento para los sistemas de referencia nacionales.¹⁷² A través de este programa, los laboratorios clínicos pueden identificar métodos comerciales certificados. La certificación no asegura todos los aspectos de calidad en un sistema reactivo pero asegura principalmente que la exactitud es fácil de seguir para métodos de referencia dentro de límites aceptados, y que la precisión puede satisfacer los objetivos del NCEP. El proceso de certificación es un poco tedioso y, por tanto, más eficiente a través de los fabricantes, pero los laboratorios individuales que desean confirmar el desempeño de sus sistemas pueden completar un protocolo de certificación reducido para el colesterol.

Objetivos de desempeño analítico

Los grupos de laboratorio NCEP han establecido objetivos de desempeño analítico requeridos con base en las necesidades clínicas para mediciones rutinarias (cuadro 12-6).^{70-72,177} Para análisis de colesterol total, el objetivo

de desempeño para error total es 8.9%. Es decir, el error global debe ser tal que cada medición de colesterol caiga dentro de $\pm 8.9\%$ del valor del método de referencia. En realidad, debido a que los objetivos se basan en certidumbre de 95%, 95 de 100 mediciones deben caer dentro del límite de error total. Se puede valorar una muestra muchas veces y calcular la media para determinar el valor usual o la tendencia central. La dispersión o variación aleatoria en torno a la media se describe mediante la desviación estándar, un intervalo alrededor de la media que incluye, por definición, dos tercios de las observaciones. En el laboratorio, debido a que la dispersión o imprecisión es con frecuencia proporcional a la concentración, la variación aleatoria suele especificarse en términos relativos como CV, el coeficiente de variación de la desviación estándar relativa, calculada como la desviación estándar dividida entre la media. La exactitud global o error sistemático se describe como sesgo, la diferencia entre la media y el valor verdadero. El sesgo es principalmente una función de la calibración del método y puede variar por concentración. De mayor interés en este contexto es el sesgo en los puntos de corte de decisión NCEP. El sesgo y los objetivos de CV presentados en el cuadro 12-6 son representativos del desempeño que satisfará los objetivos NCEP para el error total.

Control de calidad

El desempeño analítico aceptable alcanzable requiere el uso de materiales de control de calidad confiables, que de preferencia deben emular las muestras reales del paciente. En la actualidad, los mejores materiales se preparan a partir de suero del paciente recién recolectado, del cual se toman alícuotas que se depositan en viales bien sellados, se congelan con rapidez y se almacenan a -70°C . Esta clase de fondos comunes de suero congelado nuevo están menos sujetos a interacciones matriciales que los materiales comerciales usuales, más importante es monitorear la exactitud en la separación y análisis de lipoproteínas, y preferible para monitorear colesterol y otras mediciones de lípidos. Se deben analizar por lo menos dos fondos comunes, de preferencia con concentraciones en o cerca de los puntos de decisión para cada analito.

Recolección de la muestra

El suero, recolectado por lo general en tubos al vacío con separador de suero con intensificadores de coagulación, ha sido el líquido de elección para medición de lipoproteínas en el laboratorio clínico rutinario. El plasma con ácido etilendiaminotetracético (EDTA) era la elección tradicional en los laboratorios de investigación de lípidos, especialmente para separaciones de lipoproteínas, porque el anticoagulante incrementa la estabilidad mediante la quelación de iones metálicos. El EDTA tiene desventajas potenciales que desalientan el uso rutinario. Los microcoágulos, que se forman en el plasma durante el almacenamiento, taponan las sondas de muestreo de los analizadores químicos modernos. El EDTA extrae osmóti-

camente agua de los glóbulos rojos, de modo que se diluyen los constituyentes, y el efecto de dilución puede variar dependiendo de factores como el volumen de llenado, el analito que se está midiendo y el grado de mezcla. Debido a que los puntos de corte NCEP se basan en valores de suero, las mediciones de colesterol hechas en plasma de EDTA requieren corrección por el factor de 1.03.

RESUMEN

Las lipoproteínas son partículas complejas que interactúan con muchas otras vías metabólicas del cuerpo. Su homeostasis puede ser afectada por desequilibrios de otras vías como desequilibrios hormonales y diabetes y, de igual

manera, el metabolismo anormal de lipoproteínas puede perturbar el sistema del cuerpo y causar enfermedad, como se observa en la pancreatitis y la enfermedad coronaria. Algunos aspectos del desequilibrio de lipoproteínas se determinan de manera genética (es decir, género, enzima o defectos de receptor), mientras que otros se pueden controlar a través de dieta, reducción del consumo de tabaco, ejercicio y el monitoreo de la presión arterial. Las mediciones precisas y exactas de lípidos y proteínas son esenciales para el diagnóstico apropiado y tratamiento de dislipidemias. Por último, las medidas de salud pública para educar a la población sobre factores de riesgo es importante en la prevención de enfermedades que se desarrollan como consecuencia de dislipidemia, como coronariopatía.

PREGUNTAS DE REPASO

- ¿Cuáles de los siguientes métodos para electroforesis de lipoproteínas depende de la carga y el tamaño molecular?
 - Papel.
 - Gel de poliacrilamida.
 - Acetato de celulosa.
 - Agarosa.
- ¿Cuál de los siguientes enunciados relacionado con los quilomicrones es falso?
 - Esta lipoproteína se produce en la mucosa intestinal.
 - La función principal es llevar lípidos dietéticos (exógenos) al hígado.
 - El lípido principal que transporta esta lipoproteína es colesterol.
 - Permanece en el origen (punto de aplicación) durante la electroforesis de lipoproteínas.
- La lipoproteína que contiene la mayor cantidad de proteína se llama:
 - Quilomicrón.
 - VLDL.
 - HDL.
 - LDL.
- Las lipoproteínas pre- β (VLDL) migran más hacia el ánodo en gel de poliacrilamida que en acetato de celulosa o agarosa.
 - Verdadero.
 - Falso.
- Varios métodos enzimáticos de triglicéridos miden la producción o consumo de:
 - Ácidos grasos.
 - Glicerol.
 - Lutidina de diacetilo.
 - NADH.
- La causa más probable para que el suero o el plasma tengan una apariencia "lechosa" es la presencia de:
 - VLDL.
 - LDL.
 - HDL.
 - Quilomicrones.
- En la determinación colorimétrica de colesterol, con la enzima oxidasa de colesterol, el agente que oxida al compuesto orgánico incoloro 4-aminoantipirina a un complejo rosa es:
 - Colest-4-ene-3-ona.
 - NAD.
 - Peroxidasa de hidrógeno.
 - Fenol.
- ¿Cuál lipoproteína es el portador principal de colesterol al tejido periférico?
 - Quilomicrones.
 - VLDL.
 - LDL.
 - HDL.
- Las concentraciones altas de apolipoproteína A-I se relacionan con el mayor riesgo de coronariopatía.
 - Verdadero.
 - Falso.
- Un paciente es admitido al hospital con dolores de tórax intensos. El médico de atención primaria del paciente solicita al médico del departamento de urgencias que ordene varias pruebas, entre otras un perfil de lípidos con fraccionamiento de colesterol. Considerando los resultados del paciente provistos a continuación, conteste las dos preguntas siguientes.

 Colesterol total = 400 mg/dl; triglicéridos = 300 mg/dl; colesterol HDL = 100 mg/dl; electroforesis LP, pendiente

10. El colesterol LDL para este paciente, considerando los resultados anteriores, sería:
 - a) 160 mg/dl.
 - b) 200 mg/dl.
 - c) 240 mg/dl.
 - d) 300 mg/dl.
11. El colesterol LDL del paciente es:
 - a) Óptimo.
 - b) Deseable.
 - c) Límite.
 - d) Alto.
12. Como parte de una fenotipia de lipoproteínas, es necesario llevar a cabo determinaciones de colesterol total y triglicéridos, así como la electroforesis de lipoproteínas. Los resultados de prueba obtenidos de tales estudios fueron:
 - Triglicérido, 340 mg/dl (intervalo de referencia, <150 mg/dl).
 - Colesterol total, 180 mg/dl (intervalo de referencia, <200 mg/dl).
 - Mayor fraccionamiento de lipoproteína pre- β .
 - Fraccionamiento normal de β -lipoproteína.
 - Ningún quilomicrón presente.
 - Suero con apariencia turbia.

La mejor explicación para estos resultados sería que el paciente exhibe un fenotipo indicativo de:

 - a) Hiperlipoproteinemia tipo I.
 - b) Hiperlipoproteinemia tipo II.
 - c) Hiperlipoproteinemia tipo III.
 - d) Hiperlipoproteinemia tipo IV.
 - e) Hiperlipoproteinemia tipo V.
13. ¿Cuáles de los siguientes resultados son los más consistentes con el alto riesgo de coronariopatía?
 - a) 20 mg/dl de colesterol HDL y 250 mg/dl de colesterol total.
 - b) 35 mg/dl de colesterol HDL y 200 mg/dl de colesterol total.
 - c) 50 mg/dl de colesterol HDL y 190 mg/dl de colesterol total.
 - d) 55 mg/dl de colesterol HDL y 180 mg/dl de colesterol total.
 - e) 60 mg/dl de colesterol HDL y 170 mg/dl de colesterol total.
14. ¿Cuál es el presunto defecto en la mayor parte de los casos de hiperlipoproteinemia familiar tipo IIa?
 - a) Deficiencia de reductasa de hidroximetilglutarilo (HMG)-CoA.
 - b) Deficiencia de esterasa de colesterol.
 - c) Deficiencia de lipasa de lipoproteína.
 - d) Receptores defectuosos para LDL.
 - e) Enzimas de esterificación defectuosas LCAT y ACAT.
15. La hiperquilomicronemia (tipo I) en la infancia ha sido relacionada con qué de lo siguiente:
 1. Una deficiencia de apolipoproteína CII.
 2. Una deficiencia de LCAT.
 3. Una deficiencia de lipasa de lipoproteína.
 4. Una deficiencia de apolipoproteína A1.
 - a) 1 y 3.
 - b) 3 y 4.
 - c) 1, 3 y 4.
 - d) 1, 2 y 4.
 - e) sólo 2.

REFERENCIAS

1. Laposata M. Fatty acids. Biochemistry to clinical significance. *Am J Clin Pathol* 1995;104:172.
2. Kritchevsky D. Effects of triglyceride structure on lipid metabolism. *Nutr Rev* 1988;46:177.
3. Ridgway ND, Byers DM, Cook HW, Storey MK. Integration of phospholipid and sterol metabolism in mammalian cells. *Prog Lipid Res* 1999;38:337.
4. Alb JG Jr, Kearns MA, Bankaitis VA. Phospholipid metabolism and membrane dynamics. *Curr Opin Cell Biol* 1996;8:534.
5. Kent C. Eukaryotic phospholipid biosynthesis. *Annu Rev Biochem* 1995;64:315.
6. Nwokoro NA, Wassif CA, Porter FD. Genetic disorders of cholesterol biosynthesis in mice and humans. *Mol Genet Metab* 2001;74:105.
7. Libby P, Aikawa M, Schonbeck U. Cholesterol and atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta* 2000;1529:299.
8. Barenholz Y. Cholesterol and other membrane active sterols: from membrane evolution to "rafts." *Prog Lipid Res* 2002;41:1.
9. Pauciuolo P. Lipoprotein transport and metabolism: a brief update. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2002;12:90.
10. Mahley RW, Innerarity TL, Rall SC Jr, Weisgraber KH. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *J Lipid Res* 1984;25:1277.
11. Hevonoja T, Pentikainen MO, Hyvonen MT, et al. Structure of low density lipoprotein (LDL) particles: basis for understanding molecular changes in modified LDL. *Biochim Biophys Acta* 2000;1488:189.
12. Jackson RL, Morrisett JD, Gotto AM Jr. Lipoprotein structure and metabolism. *Physiol Rev* 1976;56:259.
13. Li WH, Tanimura M, Luo CC, et al. The apolipoprotein multigene family: biosynthesis, structure, structure-function relationships, and evolution. *J Lipid Res* 1988;29:245.
14. Anantharamaiah GM, Brouillette CG, Engler JA, et al. Role of amphipathic helices in HDL structure/function. *Adv Exp Med Biol* 1991;285:131.
15. Segrest JP, Li L, Anantharamaiah GM, et al. Structure and function of apolipoprotein A-I and high-density lipoprotein. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:105.
16. Burnett JR, Barrett PH. Apolipoprotein B metabolism: tracer kinetics, models, and metabolic studies. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2002;39:89.

17. Javitt NB. Cholesterol homeostasis: role of the LDL receptor. *FASEB J* 1995;9:1378.
18. Marcovina SM, Morrisett JD. Structure and metabolism of lipoprotein (a). *Curr Opin Lipidol* 1995;6:136.
19. Cooper AD. Hepatic uptake of chylomicron remnants. *J Lipid Res* 1997;38:2173.
20. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1988;240:622.
21. Walden CC, Hegele RA. Apolipoprotein E in hyperlipidemia. *Ann Intern Med* 1994;120:1026.
22. Corder EH, Lannfelt L, Bogdanovic N, et al. The role of APOE polymorphisms in late-onset dementias. *Cell Mol Life Sci* 1998; 54:928.
23. Harris WS. Chylomicron metabolism and omega 3 and omega 6 fatty acids. *World Rev Nutr Diet* 1994;76:23.
24. van Greevenbroek MM, de Bruin TW. Chylomicron synthesis by intestinal cells in vitro and in vivo. *Atherosclerosis* 1998; 141(Suppl 1):S9.
25. Gruffat D, Durand D, Graulet B, Bauchart D. Regulation of VLDL synthesis and secretion in the liver. *Reprod Nutr Dev* 1996;36:375.
26. Griffin BA, Packard CJ. Metabolism of VLDL and LDL subclasses. *Curr Opin Lipidol* 1994;5:200.
27. Havel RJ. Genetic underpinnings of LDL size and density: a role for hepatic lipase? *Am J Clin Nutr* 2000;71:1390.
28. Rosendorff C. Effects of LDL cholesterol on vascular function. *J Hum Hypertens* 2002;16(Suppl 1):S26.
29. Ginsberg HN. Lipoprotein metabolism and its relationship to atherosclerosis. *Med Clin North Am* 1994;78:1.
30. Plenz G, Robenek H. Monocytes/macrophages in atherosclerosis. *Eur Cytokine Net* 1998;9:701.
31. McNamara JR, Small DM, Li Z, Schaefer EJ. Differences in LDL subspecies involve alterations in lipid composition and conformational changes in apolipoprotein B. *J Lipid Res* 1996;37:1924.
32. Lamarche B, Lemieux I, Despres JP. The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: epidemiology, pathophysiology and therapeutic aspects. *Diabetes Metab* 1999;25:199.
33. Erbagci AB, Tarakcioglu M, Aksoy M, et al. Diagnostic value of CRP and Lp(a) in coronary heart disease. *Acta Cardiol* 2002;57:197.
34. Karmansky I, Gruener N. Structure and possible biological roles of Lp(a). *Clin Biochem* 1994;27:151.
35. Barrans A, Jaspard B, Barbaras R, et al. Pre-beta HDL: structure and metabolism. *Biochim Biophys Acta* 1996;1300:73.
36. Silver DL, Jiang XC, Arai T, et al. Receptors and lipid transfer proteins in HDL metabolism. *Ann NY Acad Sci* 2000;902:103.
37. Patsch JR, Prasad S, Gotto AM, et al. Postprandial lipemia: A key for the conversion of HDL2 into HDL3 by hepatic lipase. *J Clin Invest* 1984;74:2017.
38. Sing CF, Moll PP. Genetics of atherosclerosis. *Annu Rev Genet* 1990;24:171.
39. Drash AL. Genetic forms of dyslipidemia in children. *Ann NY Acad Sci* 1991;623:222.
40. Frohlich J, Lear SA. Old and new risk factors for atherosclerosis and development of treatment recommendations. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2002;29:838.
41. Phan CT, Tso P. Intestinal lipid absorption and transport. *Front Biosci* 2001;6:D299.
42. Carey MC, Small DM, Bliss CM. Lipid digestion and absorption. *Annu Rev Physiol* 1983;45:651.
43. Lee MH, Lu K, Patel SB. Genetic basis of sitosterolemia. *Curr Opin Lipidol* 2001;12:141.
44. Goldberg IJ, Merkel M. Lipoprotein lipase: physiology, biochemistry, and molecular biology. *Front Biosci* 2001;6:D388.
45. Schmitz G, Becker A, Aslanidis C. ACAT/CEH and ACEH/LAL: two key enzymes in hepatic cellular cholesterol homeostasis and their involvement in genetic disorders. *Z Gastroenterol* 1996; 34(Suppl 3):68.
46. Osborne TF. Cholesterol homeostasis: clipping out a slippery regulator. *Curr Biol* 1997;7:R172.
47. Aalto-Setälä K, Kontula K. Molecular genetics of familial hypercholesterolemia. *Adv Exp Med Biol* 1991;285:33.
48. Sviridov D, Nestel P. Dynamics of reverse cholesterol transport: protection against atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2002;161:245.
49. Attie AD, Kastelein JP, Hayden MR. Pivotal role of ABCA1 in reverse cholesterol transport influencing HDL levels and susceptibility to atherosclerosis. *J Lipid Res* 2001;42:1717.
50. Tall AR, Costet P, Wang N. Regulation and mechanisms of macrophage cholesterol efflux. *J Clin Invest* 2002;110:899.
51. Rothblat GH, de la Llera-Moya M, Atger V, et al. Cell cholesterol efflux: integration of old and new observations provides new insights. *J Lipid Res* 1999;40:781.
52. Dobiasova M, Frohlich JJ. Advances in understanding of the role of lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT) in cholesterol transport. *Clin Chim Acta* 1999;286:257.
53. Arrese MA, Crawford JM. Of plaques and stones: the SR-B1 (scavenger receptor class B, type 1). *Hepatology* 1997;26:1072.
54. Lagrost L. Regulation of cholesteryl ester transfer protein (CETP) activity: review of in vitro and in vivo studies. *Biochim Biophys Acta* 1994;1215:209.
55. Dean M, Hamon Y, Chimini G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J Lipid Res* 2001;42:1007.
56. Schaefer EJ, Lichtenstein AH, Lamon-Fava S, et al. Lipoproteins, nutrition, aging, and atherosclerosis. *Am J Clin Nutr* 1995; 61(Suppl):7265.
57. Hall G, Collins A, Csemiczky G, Landgren BM. Lipoproteins and BMI: A comparison between women during transition to menopause and regularly menstruating healthy women. *Maturitas* 2002;41:177.
58. Campos H, McNamara JR, Wilson PWF, et al. Differences in low-density lipoprotein subfractions and apolipoproteins in premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67:30.
59. Cohn JS, McNamara JR, Cohn SD, et al. Postprandial plasma lipoprotein changes in human subjects of different ages. *J Lipid Res* 1988;29:469.
60. McNamara JR, Campos H, Ordovas JM, et al. Effect of gender, age, and lipid status on low-density lipoprotein subfraction distribution: results of the Framingham Offspring Study. *Arteriosclerosis* 1987;7:483.
61. Gardner CD, Tribble DL, Young DR, et al. Population frequency distributions of HDL, HDL(2), and HDL(3) cholesterol and apolipoproteins A-I and B in healthy men and women and associations with age, gender, hormonal status, and sex hormone use: The Stanford Five City Project. *Prev Med* 2000;31:335.
62. National Cholesterol Education Program (NCEP). Highlights of the report of the Expert Panel on blood cholesterol levels in children and adolescents. *Pediatrics* 1992;89:495.
63. Garcia RE, Moodie DS. Routine cholesterol surveillance in childhood. *Pediatrics* 1989;84:751.
64. Keys A, ed. Coronary heart disease in seven countries. *Circulation* 1970;41(Suppl 1):1.
65. Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PWF, et al. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels: the Framingham Study. *JAMA* 1986;256:2835.
66. Stamler J, Stamler R, Shekelle RB. Regional differences in prevalence, incidence, and mortality from atherosclerotic coronary heart disease. In: deHaas JH, Hemker HC, Snellen HA, eds. *Ischaemic Heart Disease*. Leiden, The Netherlands: Leiden University Press, 1970:84.
67. Thom TJ, Epstein FH, Feldman JJ, et al. Total mortality and mortality from heart disease, cancer, and stroke from 1950 to 1987 in 27 countries. NIH Pub. No. 923088. Washington, D.C.: 1992.

68. Kato H, Tillotson J, Nichaman MZ, et al. Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii, and California. *Am J Epidemiol* 1973;97:372.
69. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, et al. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998;97:1837.
70. Warnick GR, Wood PD, for the National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurement. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of high-density lipoprotein cholesterol: executive summary. *Clin Chem* 1995;41:1427.
71. Bachorik PS, Ross JW, for the National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurement. National Cholesterol Education Program recommendations for measurement of low-density lipoprotein cholesterol: executive summary. *Clin Chem* 1995;41:1414.
72. Stein EA, Myers GL, for the National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurement. National Cholesterol Education Program recommendations for triglyceride measurement: executive summary. *Clin Chem* 1995;41:1421.
73. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143.
74. Rea TD, Heckbert SR, Kaplan RC, et al. Smoking status and risk for recurrent coronary events after myocardial infarction. *Ann Intern Med* 2002;137:494.
75. Holme I, Hjermann I, Helgeland A, et al. The Oslo Study: diet and antismoking advice. Additional results from a 5-year primary preventive trial in middle-aged men. *Prev Med* 1985;14:279.
76. Njolstad I, Arnesen E, Lund-Larsen PG. Smoking, serum lipids, blood pressure, and sex differences in myocardial infarction. A 12-year follow-up of the Finnmark Study. *Circulation* 1996;93:450.
77. Hegsted DM, Ausman LM, Johnson JA, et al. Dietary fat and serum lipids: An evaluation of the experimental data. *Am J Clin Nutr* 1993;57:875.
78. Ornish D, Brown SE, Scherwitz LW, et al. Can lifestyle changes reverse coronary heart disease? The lifestyle heart trial. *Lancet* 1990;336:129.
79. Niebauer J, Hambrecht R, Velich T, et al. Attenuated progression of coronary artery disease after 6 years of multifactorial risk intervention: role of physical exercise. *Circulation* 1997;96:2534.
80. Kromhout D, Menotti A, Bloemberg B, et al. Dietary saturated and trans fatty acids and cholesterol and 25-year mortality from coronary heart disease: The Seven Countries Study. *Prev Med* 1995;24:308.
81. Connor WE, Stone DB, Hodges RE. The interrelated effects of dietary cholesterol and fat upon human serum lipid levels. *J Clin Invest* 1964;43:1691.
82. Lichtenstein AH, Ausman LM, Carrasco W, et al. Hydrogenation impairs the hypolipidemic effect of corn oil in humans: hydrogenation, trans fatty acids, and plasma lipids. *Arterioscler Thromb* 1993;13:154.
83. Nicolosi RJ, Stucchi AF, Kowala MC, et al. Effect of dietary fat saturation and cholesterol on LDL composition and metabolism. In vivo studies of receptor and nonreceptor-mediated catabolism of LDL in cebus monkeys. *Arteriosclerosis* 1990;10:119.
84. Coleman MP, Key TJ, Wang DY, et al. A prospective study of obesity, lipids, apolipoproteins, and ischaemic heart disease in women. *Atherosclerosis* 1992;92:177.
85. Genest JJ Jr, Martin-Munley SS, McNamara JR, et al. Familial lipoprotein disorders in patients with premature coronary artery disease. *Circulation* 1992;85:2025.
86. Genest JJ Jr, Ordovas JM, McNamara JR, et al. DNA polymorphisms of the apolipoprotein B gene in patients with premature coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1990;82:7.
87. Strydom HC. Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary arteries of children and young adults. *Arteriosclerosis* 1989;9(Suppl 1):119.
88. Strydom HC. Macrophages, macrophage foam cells, and eccentric intimal thickening in the coronary arteries of young children. *Atherosclerosis* 1987;64:91.
89. Catapano AL, Maggi FM, Tragni E. Low-density lipoprotein oxidation, antioxidants, and atherosclerosis. *Curr Opin Cardiol* 2000;15:355.
90. Craig WY, Rawstron MW, Rundell CA, et al. Relationship between lipoprotein- and oxidation-related variables and atheroma lipid composition in subjects undergoing coronary artery bypass graft surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1512.
91. Jialal I, Chait A. Differences in the metabolism of oxidatively modified low density lipoprotein and acetylated low density lipoprotein by human endothelial cells: inhibition of cholesterol esterification by oxidatively modified low density lipoprotein. *J Lipid Res* 1989;30:1561.
92. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, et al. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989;320:915.
93. Genest JJ, McNamara JR, Salem DN, et al. Prevalence of risk factors in men with premature coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1991;67:1185.
94. Rackley CE. Cardiovascular basis for cholesterol therapy. *Cardiol Rev* 2000;8:124.
95. Domanski MJ, Borkowf CB, Campeau L, et al. Prognostic factors for atherosclerosis progression in saphenous vein grafts: The post-coronary artery bypass graft (Post-CABG) trial. Post-CABG Trial Investigators. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1877.
96. National Institutes of Health Consensus Conference. Triglyceride, HDL cholesterol and coronary heart disease. *JAMA* 1993;269:505.
97. Randomized trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study. *Lancet* 1994;344:1383.
98. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia: the West of Scotland Coronary Prevention Study. *N Engl J Med* 1995;333:1301.
99. Jukema JW, Bruschke AV, van Boven AJ, et al. Effects of lipid lowering by pravastatin on progression and regression of coronary artery disease in symptomatic men with normal to moderately elevated serum cholesterol levels. The Regression Growth Evaluation Statin Study (REGRESS). *Circulation* 1995;91:2528.
100. Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. *N Engl J Med* 1996;335:1001.
101. Lipid Research Clinics program: the Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial. I. Reduction in incidence of coronary heart disease. *JAMA* 1984;251:351.
102. Blankenhorn DH, Azen SP, Krams DM, et al. Coronary angiographic changes with lovastatin therapy. The monitored atherosclerosis regression study (MARS). *Ann Intern Med* 1993;119:969.
103. Brown BG, Zhao XQ, Sacco DE, et al. Lipid lowering and plaque regression. New insights into prevention of plaque disruption and clinical events in coronary disease. *Circulation* 1993;87:1781.
104. Zhao XQ, Yuan C, Hatsukami TS, et al. Effects of prolonged intensive lipid-lowering therapy on the characteristics of carotid atherosclerotic plaques in vivo by MRI: a case-control study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1623.

105. Matthan NR, Giovanni A, Schaefer EJ, et al. Impact of simvastatin and niacin with and without antioxidants on plasma cholesterol absorption and synthesis markers in coronary artery disease patients with low HDL. *J Lipid Res* 2003;44:800.
106. Yamagishi M, Terashima M, Awano K, et al. Morphology of vulnerable coronary plaque: insights from follow-up of patients examined by intravascular ultrasound before an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:106.
107. Regis-Bailly A, Visvikis S, Steinmetz J, et al. Frequencies of five genetic polymorphisms in coronarographed patients and effects on lipid levels in a supposedly healthy population. *Clin Genet* 1996;50:339.
108. Gylling H, Kontula K, Koivisto UM, et al. Polymorphisms of the genes encoding apoproteins A-I, B, C-III, and E and LDL receptor, and cholesterol and LDL metabolism during increased cholesterol intake. Common alleles of the apoprotein E gene show the greatest regulatory impact. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:38.
109. Welty FK, Lichtenstein AH, Barrett PHR, et al. Decreased production and increased catabolism of apolipoprotein B-100 in apolipoprotein B67/B-100 heterozygotes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:881.
110. Schaefer EJ, McNamara JR. Overview of the diagnosis and treatment of lipid disorders. In: Rifai N, Warnick GR, eds. *Handbook of Lipoprotein Testing*. Washington, D.C.: AACC Press, 1997:25.
111. Clee SM, Zwinderman AH, Engert JC, et al. Common genetic variation in ABCA1 is associated with altered lipoprotein levels and a modified risk for coronary artery disease. *Circulation* 2001;103:1198.
112. Russo GT, Meigs JB, Cupples LA, et al. Association of the Sst-I polymorphism at the APOC3 gene locus with variations in lipid levels, lipoprotein subclass profiles and coronary heart disease risk: the Framingham offspring study. *Atherosclerosis* 2001;158:173.
113. Rubins HB, Robins SJ, Collins D, et al. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med* 1999;341:410.
114. Robins SJ, Collins D, Wittes JT, et al. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial. Relation of gemfibrozil treatment and lipid levels with major coronary events: VA-HIT: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001;285:1585.
115. Downs JR, Clearfield M, Weis S, et al. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels. Results of AFCAPS/TexCAPS. *JAMA* 1998;279:1615.
116. Schaefer EJ, McNamara JR, Taylor T, et al. Effects of atorvastatin on fasting and postprandial lipoprotein subclasses in coronary heart disease patients versus control subjects. *Am J Cardiol* 2002;90:689.
117. Asztalos BF, Horvath KV, McNamara JR, et al. Comparing the effects of five different statins on the HDL subpopulation profiles of coronary heart disease patients. *Atherosclerosis* 2002;164:361.
118. Stein EA, Illingworth DR, Kwiterovich PO Jr, et al. Efficacy and safety of lovastatin in adolescent males with heterozygous familial hypercholesterolemia: a randomized controlled trial. *JAMA* 1999;281:137.
119. de Jongh S, Ose L, Szamosi T, et al. Efficacy and safety of statin therapy in children with familial hypercholesterolemia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial with simvastatin. *Circulation* 2002;106:2231.
120. Kwiterovich PO Jr. Safety and efficacy of treatment of children and adolescents with elevated low density lipoprotein levels with a step two diet or with lovastatin. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2001;11(Suppl 5):30.
121. Batiste MC, Schaefer EJ. Diagnosis and management of lipoprotein abnormalities. *Nutr Clin Care* 2002;5:115.
122. Sawayama Y, Shimizu C, Maeda N, et al. Effects of probucol and pravastatin on common carotid atherosclerosis in patients with asymptomatic hypercholesterolemia. Fukuoaka Atherosclerosis Trial (FAST). *J Am Coll Cardiol* 2002;39:610.
123. Sprecher DL, Schaefer EJ, Kent KM, et al. Cardiovascular features of homozygous familial hypercholesterolemia: analysis of 16 patients. *Am J Cardiol* 1984;54:20.
124. Palcoux JB, Meyer M, Jouanel P, et al. Comparison of different treatment regimens in a case of homozygous familial hypercholesterolemia. *Ther Apher* 2002;6:136.
125. Grundy SM, Denke MA. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. *J Lipid Res* 1990;31:1149.
126. Hunninghake DB, Stein EA, Dujovne CA, et al. The efficacy of intensive dietary therapy alone or combined with lovastatin in outpatients with hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 1993;328:1213.
127. Kris-Etherton P, Daniels SR, Eckel RH, et al. AHA scientific statement: summary of the Scientific Conference on Dietary Fatty Acids and Cardiovascular Health. Conference summary from the Nutrition Committee of the American Heart Association. *J Nutr* 2001;131:1322.
128. Cohn JS, McNamara JR, Krasinski SD, et al. Role of triglyceride-rich lipoproteins from the liver and intestine in the etiology of postprandial peaks in plasma triglyceride concentration. *Metabolism* 1989;38:484.
129. Karpe F, Hellenius ML, Hamsten A. Differences in postprandial concentrations of very-low-density lipoprotein and chylomicron remnants between normotriglyceridemic and hypertriglyceridemic men with and without coronary heart disease. *Metabolism* 1999;48:301.
130. Kovar J, Havel RJ. Sources and properties of triglyceride-rich lipoproteins containing apoB-48 and apoB-100 in postprandial blood plasma of patients with primary combined hyperlipidemia. *J Lipid Res* 2002;43:1026.
131. Couillard C, Bergeron N, Pascot A, et al. Evidence for impaired lipolysis in abdominally obese men: postprandial study of apolipoprotein B-48- and B-100-containing lipoproteins. *Am J Clin Nutr* 2002;76:311.
132. Schaefer EJ, McNamara JR, Genest J Jr, et al. Clinical significance of hypertriglyceridemia. *Semin Thromb Hemost* 1988;14:142.
133. Genest J Jr, Cohn J. Plasma triglyceride-rich lipoprotein and high density lipoprotein disorders associated with atherosclerosis. *J Invest Med* 1998;46:351.
134. Reynisdottir S, Eriksson M, Angelin B, Arner P. Impaired activation of adipocyte lipolysis in familial combined hyperlipidemia. *J Clin Invest* 1995;95:2161.
135. Yadav D, Pitchumoni CS. Issues in hyperlipidemic pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2003;36:54.
136. Jackson RL, McLean LR, Ponce E, et al. Mechanism of action on LPL and hepatic triglyceride lipase. In: Malmendier CL, Alaupovic P, eds. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 210: Lipoproteins and Atherosclerosis. New York: Plenum Press, 1987:73.
137. Pschierer V, Richter WO, Schwandt P. Primary chylomicronemia in patients with severe familial hypertriglyceridemia responds to long-term treatment with (n-3) fatty acids. *J Nutr* 1995;125:1490.
138. Santamarina-Fojo S. The familial chylomicronemia syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998;27:551.
139. Zilversmit DB. Atherogenic nature of triglycerides, postprandial lipemia, and triglyceride-rich remnant lipoproteins. *Clin Chem* 1995;41:153.
140. Packard CJ. Understanding coronary heart disease as a consequence of defective regulation of apolipoprotein B metabolism. *Curr Opin Lipidol* 1999;10:237.

141. Masuoka H, Kamei S, Wagayama H, et al. Association of remnant-like particle cholesterol with coronary artery disease in patients with normal total cholesterol levels. *Am Heart J* 2000;139:305.
142. Björkegren J, Boquist S, Samnegard A, et al. Accumulation of apolipoprotein C-I-rich and cholesterol-rich VLDL remnants during exaggerated postprandial triglyceridemia in normolipidemic patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000;101:227.
143. McNamara JR, Shah PK, Nakajima K, et al. Remnant-like particle (RLP) cholesterol is an independent cardiovascular disease risk factor in women: results from the Framingham Heart Study. *Atherosclerosis* 2001;154:229.
144. Campos E, Nakajima K, Tanaka A, et al. Properties of an apolipoprotein E-enriched fraction of triglyceride-rich lipoproteins isolated from human blood plasma with a monoclonal antibody to apolipoprotein B-100. *J Lipid Res* 1992;33:369.
145. Nakajima K, Saito T, Tamura A, et al. Cholesterol in remnant-like lipoproteins in human serum using monoclonal anti apo B-100 and anti apo A-I immunoaffinity mixed gels. *Clin Chim Acta* 1993;223:53.
146. McNamara JR, Shah PK, Nakajima K, et al. Remnant lipoprotein cholesterol and triglyceride: reference ranges from the Framingham Heart Study. *Clin Chem* 1998;44:1224.
147. Fredrickson DS, Levy RI, Lees RS. Fat transport in lipoproteins: An integrated approach to mechanisms and disorders. *N Engl J Med* 1967;276:34, 94, 148, 215, 273.
148. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499.
149. McNamara JR, Cole TG, Contois JH, et al. Immunoseparation method for measuring low-density lipoprotein cholesterol directly from serum evaluated. *Clin Chem* 1995;41:232.
150. Jialal I, Hirany SV, Devaraj S, et al. Comparison of an immunoseparation method for direct measurement of LDL cholesterol with beta-quantification (ultracentrifugation). *Am J Clin Path* 1995;104:76.
151. Genest J Jr, Jenner JL, McNamara JR, et al. Prevalence of lipoprotein (a) [Lp(a)] excess in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1991;67:1039.
152. Schaefer EJ, Lamont-Fava S, Jenner JL, et al. Lipoprotein(a) levels and risk of coronary heart disease in men. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial. *JAMA* 1994;271:999.
153. Schwartzman RA, Cox ID, Poloniecki J, et al. Elevated plasma lipoprotein(a) is associated with coronary artery disease in patients with chronic stable angina pectoris. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1260.
154. Hopkins PN, Hunt SC, Schreiner PJ, et al. Lipoprotein(a) interactions with lipid and non-lipid risk factors in patients with early onset coronary artery disease: results from the NHLBI Family Heart Study. *Atherosclerosis* 1998;141:333.
155. Dahlen GH, Stenlund H. Lp(a) lipoprotein is a major risk factor for cardiovascular disease: pathogenic mechanisms and clinical significance. *Clin Genet* 1997;52:272.
156. Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ. A prospective study of lipoprotein(a) and the risk of myocardial infarction. *JAMA* 1993;270:2195.
157. Berg K, Dahlen G, Christophersen B, et al. Lp(a) lipoprotein level predicts survival and major coronary events in the Scandinavian Simvastatin Survival Study. *Clin Genet* 1997;52:254.
158. Marcovina SM, Koschinsky ML. Lipoprotein (a): structure, measurement, and clinical significance. In: Rifai N, Warnick GR, Dominczak MH, eds. *Handbook of Lipoprotein Testing*, 2nd ed. Washington, D.C.: AACCC Press, 2000:345.
159. McLean JW, Tomlinson JE, Kuang WJ, et al. cDNA sequence of human apolipoprotein(a) is homologous to plasminogen. *Nature* 1987;330:132.
160. Hajjar KA, Gavish D, Breslow JL, et al. Lipoprotein (a) modulation of endothelial cell surface fibrinolysis and its potential role in atherosclerosis. *Nature* 1989;339:303.
161. Loscalzo J, Weinfield M, Fless GM, et al. Lipoprotein (a), fibrin binding, and plasminogen activation. *Arteriosclerosis* 1990;10:240.
162. Miles LA, Fless GM, Levin EG, et al. A potential basis for the thrombotic risks associated with lipoprotein(a). *Nature* 1989;339:301.
163. Genest JJ Jr, Bard JM, Fruchart JC, et al. Familial hypoalphalipoproteinemia in premature coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 1993;13:1728.
164. Schaefer EJ, Heaton WH, Wetzel MG, et al. Plasma apolipoprotein A-I absence associated with a marked reduction of high density lipoproteins and premature coronary artery disease. *Arteriosclerosis* 1982;2:16.
165. Schaefer EJ, Ordovas JM, Law SW, et al. Familial apolipoprotein A-I and C-III deficiency, variant II. *J Lipid Res* 1985;26:1089.
166. Third JL, Montag J, Flynn M, et al. Primary and familial hypoalphalipoproteinemia. *Metabolism* 1984;33:136.
167. Mott S, Yu L, Marcil M, et al. Decreased cellular cholesterol efflux is a common cause of familial hypoalphalipoproteinemia: role of the ABCA1 gene mutations. *Atherosclerosis* 2000;152:457.
168. Baldassarre D, Amato M, Pustina L, et al. Increased carotid artery intima-media thickness in subjects with primary hypoalphalipoproteinemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:317.
169. Granfone A, Campos H, McNamara JR, et al. Effects of estrogen replacement on plasma lipoproteins and apolipoproteins in postmenopausal dyslipidemic women. *Metabolism* 1992;41:1193.
170. Stampfer MJ, Colditz GA. Estrogen replacement therapy and coronary heart disease: a quantitative assessment of the epidemiologic evidence. *Prev Med* 1991;20:47.
171. Genest JJ, Corbett H, McNamara JR, et al. Effect of hospitalization on high-density lipoprotein cholesterol in patients undergoing elective coronary angiography. *Am J Cardiol* 1988;61:998.
172. Myers GL, Cooper GR, Greenberg N, et al. Standardization of lipid and lipoprotein measurements. In: Rifai N, Warnick GR, Dominczak MH, eds. *Handbook of Lipoprotein Testing*, 2nd ed. Washington, D.C.: AACCC Press, 2000:717.
173. Zak B. Cholesterol methodologies: a review. *Clin Chem* 1977;23:1201.
174. Abell LL, Levy BB, Brody BB, Kendall FC. A simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity. *J Biol Chem* 1952;195:357.
175. Duncan IW, Mather A, Cooper GR. The procedure for the proposed cholesterol reference method. Atlanta, GA: Division of Environmental Health Laboratory Sciences, Center for Environmental Health, Centers for Disease Control, 1982:75.
176. Cohen A, Hertz HS, Mandel J, et al. Total serum cholesterol by isotope dilution/mass spectrometry: a candidate definitive method. *Clin Chem* 1980;26:854.
177. Report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. Recommendations for improving cholesterol measurement. NIH Publication No. 902964. Bethesda, MD: National Institutes of Health, 1990.
178. Allain CC, Poon LS, Chan CS, et al. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem* 1974;20:470.
179. Richmond W. Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia* sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. *Clin Chem* 1973;19:1350.

180. McGowan MW, Artiss JD, Zak B. Spectrophotometric study on minimizing bilirubin interference in an enzyme reagent mediated cholesterol reaction. *Microchem J* 1983;27:564.
181. Klotzsch SG, McNamara JR. Triglyceride measurements: a review of methods and interferences. *Clin Chem* 1990;36:1605.
182. Bucolo G, Yabut J, Chang TY. Mechanized enzymatic determination of triglycerides in serum. *Clin Chem* 1975;21:420.
183. McGowan M, Artiss J, Strandbergh DR, et al. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin Chem* 1983;29:538.
184. Cole TG. Glycerol blanking in triglyceride assays: is it necessary? *Clin Chem* 1990;36:1267.
185. Stinshoff K, Weisshaar D, Staehler F, et al. Relation between concentrations of free glycerol and triglycerides in human sera. *Clin Chem* 1977;23:1029.
186. Warnick GR. Enzymatic methods for quantification of lipoprotein lipids. In: Albers JJ, Segrest JP, eds. *Methods in Enzymology*. Vol. 129. Orlando, FL: Academic Press, 1986:101.
187. Sullivan DR, Kruijswijk Z, West CE, et al. Determination of serum triglycerides by an accurate enzymatic method not affected by free glycerol. *Clin Chem* 1985;31:1227.
188. Lofland HB Jr. A semiautomated procedure for the determination of triglycerides in serum. *Anal Biochem* 1964;9:393.
189. Hatch FT, Lees RS. Practical methods for plasma lipoprotein analysis. In: Pachetti R, ed. *Advances in Lipid Research*. Orlando, FL: Academic Press, 1968;6:1.
190. Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 1955;34:1345.
191. Chapman MJ, Goldstein S, Lagrange D, et al. A density gradient ultracentrifugal procedure for the isolation of the major lipoprotein classes from human serum. *J Lipid Res* 1981;22:339.
192. Kulkarni KR, Garber DW, Schmidt CF, et al. Analysis of cholesterol in all lipoprotein classes by single vertical ultracentrifugation of fingerstick blood and controlled-dispersion flow analysis. *Clin Chem* 1992;38:1898.
193. Patsch JR, Patsch W. Zonal ultracentrifugation. In: Albers JJ, Segrest JP, eds. *Methods of Enzymology*. Orlando, FL: Academic Press, 1986;129:3.
194. Redgrave TG, Roberts DCK, West CE. Separation of plasma lipoproteins by density-gradient ultracentrifugation. *Anal Biochem* 1975;65:42.
195. Rosseneu M, Van Diervliet JP, Bury J, et al. Isolation and characterization of lipoprotein profiles in newborns by density gradient ultracentrifugation. *Pediatr Res* 1983;17(10):788.
196. Brousseau T, Clavey V, Bard JM, et al. Sequential ultracentrifugation micromethod for separation of serum lipoproteins and assays of lipids, apolipoproteins, and lipoprotein particles. *Clin Chem* 1993;39:960.
197. Wu LL, Warnick GR, Wu JT, et al. A rapid micro-scale procedure for determination of the total lipid profile. *Clin Chem* 1989;35(7):1486.
198. Lewis LA, Oppl J. *CRC Handbook of Electrophoresis*. Vols. 1 and 2. Boca Raton, FL: CRC Press, 1980.
199. Schmitz G, Boettcher A, Barlage S. New approaches to the use of lipoprotein electrophoresis in the clinical laboratory. In: Rifai N, Warnick GR, Dominczak MH, eds. *Handbook of Lipoprotein Testing*, 2nd ed. Washington, D.C.: AACC Press, 2000:593.
200. Conlon D, Blankstein LA, Pasakarnis PA, et al. Quantitative determination of high-density lipoprotein cholesterol by agarose gel electrophoresis updated. *Clin Chem* 1979;24:227.
201. Lindgren FT, Silvers A, Jutaglr R, et al. A comparison of simplified methods for lipoprotein quantitation using the analytic ultracentrifuge as a standard. *Lipids* 1977;12:278.
202. Noble RP. Electrophoretic separation of plasma lipoproteins in agarose gel. *J Lipid Res* 1968;9:963.
203. Warnick GR, Nguyen T, Bergelin RO, et al. Lipoprotein quantification: an electrophoretic method compared with the Lipid Research Clinics method. *Clin Chem* 1982;28:2116.
204. Rifai N, Warnick GR, McNamara JR, et al. Measurement of low-density-lipoprotein cholesterol in serum: a status report. *Clin Chem* 1992;38:150.
205. Warnick GR, Leary ET, Goetsch J. Electrophoretic quantification of LDL-cholesterol using the Helena REP [Abstract]. *Clin Chem* 1993;39:1122.
206. Muniz N. Measurement of plasma lipoproteins by electrophoresis on polyacrylamide gel. *Clin Chem* 1977;23:1826.
207. Blanche PJ, Gong EL, Forte TM, et al. Characterization of human high-density lipoproteins by gradient gel electrophoresis. *Biochem Biophys Acta* 1981;665:408.
208. Li Z, McNamara JR, Ordovas JM, et al. Analysis of high-density lipoproteins by a modified gradient gel electrophoresis method. *J Lipid Res* 1994;35:1698.
209. Krauss RM, Lindgren FT, Ray RM. Interrelationships among subgroups of serum lipoproteins in normal human subjects. *Clin Chem Acta* 1980;104:275.
210. Burstein M, Legmann P. Lipoprotein precipitation. In: Clarkson TB, Kritchevsky D, Pollak OJ, eds. *Monographs on Atherosclerosis*. Vol. 2. New York: Karger, 1982:1.
211. Levin SJ. High-density lipoprotein cholesterol: review of methods. The American Society of Clinical Pathologists. Check Sample, Core Chemistry, No. PTS 892(PTS36), 1989;5(2).
212. Warnick GR, Benderson J, Albers JJ, et al. Dextran sulfate-Mg²⁺ precipitation procedure for quantitation of high-density-lipoprotein cholesterol. *Clin Chem* 1982;28:1379.
213. Kerscher L, Schiefer S, Draeger B, et al. Precipitation methods for the determination of LDL-cholesterol. *Clin Biochem* 1985;18:118.
214. Schumaker VN, Robinson MT, Curtiss LK, et al. Anti-apoprotein B monoclonal antibodies detect human low density lipoprotein polymorphism. *J Biol Chem* 1984;259:6423.
215. Burstein M, Samaille J. Sur un dosage rapide du cholesterol lie aux α - et aux β -lipoproteines du serum. *Clin Chim Acta* 1960;5:609.
216. Fredrickson DS, Levy RI, Lindgren FT. A comparison of heritable abnormal lipoprotein patterns as defined by two different techniques. *J Clin Invest* 1968;47:2446.
217. Bachorik PS. Measurement of total cholesterol, HDL-cholesterol, and LDL-cholesterol. *Clin Lab Med* 1989;9:61.
218. *Manual of Laboratory Operations, Lipid Research Clinics Program, Lipid and Lipoprotein Analysis*. Washington, D.C.: U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, revised 1983.
219. Steele BW, Koehler DF, Azar MM, et al. Enzymatic determinations of cholesterol in high-density-lipoprotein fractions prepared by a precipitation technique. *Clin Chem* 1976;22:98.
220. Burstein M, Scholnick HR. Lipoprotein-polyanion-metal interactions. *Adv Lipid Res* 1973;11:68.
221. Lopes-Virella MF, Stone P, Ellis S, et al. Cholesterol determination in high-density lipoproteins separated by three different methods. *Clin Chem* 1977;23:882.
222. Warnick GR, Cheung MC, Albers JJ. Comparison of current methods for high-density lipoprotein cholesterol quantitation. *Clin Chem* 1979;25:596.
223. Allen JK, Hensley WJ, Nichols AV, et al. An enzymic and centrifugal method for estimating high-density lipoprotein cholesterol. *Clin Chem* 1979;25:325.
224. Demacker PNM, Vos-Janssen HE, Hijmans AGM, et al. Measurement of high-density lipoprotein cholesterol in serum: comparison of six isolation methods combined with enzymic cholesterol analysis. *Clin Chem* 1980;26:1780.

225. Viikari J. Precipitation of plasma lipoproteins by PEG6000 and its evaluation with electrophoresis and ultracentrifugation. *Scand J Clin Lab Invest* 1976;36:265.
226. Warnick GR, Albers JJ, Bachorik PS, et al. Multi-laboratory evaluation of an ultrafiltration procedure for high-density lipoprotein cholesterol quantification in turbid heparin-manganese supernates. *J Lipid Res* 1981;22:1015.
227. Sugiuchi H, Uji Y, Okabe H, et al. Direct measurement of high-density lipoprotein cholesterol in serum with polyethylene glycol-modified enzymes and sulfated α -cyclodextrin. *Clin Chem* 1995;41:717.
228. Harris N, Galpichian V, Rifai N. Three routine methods for measuring high-density lipoprotein cholesterol compared with the reference method. *Clin Chem* 1996;42:738.
229. Warnick GR, Nauck M, Rifai N. Evolution of methods for measurement of HDL-cholesterol: from ultracentrifugation to homogeneous assays. *Clin Chem* 2001;47:1579–1596.
230. Bachorik PS. Measurement of low-density lipoprotein cholesterol. In: Rifai N, Warnick GR, Dominczak MH, eds. *Handbook of Lipoprotein Testing*, 2nd ed. Washington, D.C.: AACC Press 2000:245.
231. McNamara JR, Cohn JS, Wilson PWF, et al. Calculated values for low-density lipoprotein cholesterol in the assessment of lipid abnormalities and coronary disease risk. *Clin Chem* 1990;36:36.
232. Warnick GR, Knopp RH, Fitzpatrick V, et al. Estimating low-density lipoprotein cholesterol by the Friedewald equation is adequate for classifying patients on the basis of nationally recommended cutpoints. *Clin Chem* 1990;36:15.
233. Sugiuchi H, Irie T, Uji Y, et al. Homogeneous assay for measuring low-density lipoprotein cholesterol in serum with triblock copolymer and α -cyclodextrin sulfate. *Clin Chem* 1998;44:522.
234. Rifai N, Iannotti E, DeAngelis K, et al. Analytical and clinical performance of a homogeneous enzymatic LDL-cholesterol assay compared with the ultracentrifugation-dextran sulfate-Mg²⁺ method. *Clin Chem* 1998;44:1242.
235. Nauck M, Warnick GR, Rifai N. Methods for measurement of LDL-cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. *Clin Chem* 2002;48:236.
236. Bachorik PS. Lipid and lipoprotein analysis with desktop analyzers. In: Rifai N, Warnick GR, Dominczak MH, eds. *Handbook of Lipoprotein Testing*, 2nd ed. Washington, D.C.: AACC Press, 2000:265.
237. Bhatnagar D, Durrington PN. Measurement and clinical significance of apolipoproteins A-1 and B. In: Rifai N, Warnick GR, Dominczak MH, eds. *Handbook of Lipoprotein Testing*, 2nd ed. Washington, D.C.: AACC Press, 2000:287.
238. Miremadi S, Sniderman A, Frohlich J. Can measurement of serum apolipoprotein B replace the lipid profile monitoring of patients with lipoprotein disorders? *Clin Chem* 2002;48:484.
239. Takayama M, Itoh S, Nagasaki T, et al. A new enzymatic method for determination of serum choline-containing phospholipids. *Clin Chim Acta* 1977;79:93.
240. McGowan MW, Artiss JD, Zak B. A procedure for the determination of high-density lipoprotein choline-containing phospholipids. *J Clin Chem Clin Biochem* 1982;20:807.
241. Bartlett GR. Phosphorus assay in column chromatography. *J Biol Chem* 1959;234:466.
242. LePage G, Roy C. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res* 1986;27:114.
243. Cooper GR, Myers GL, Smith SJ, et al. Blood lipid measurements. Variations and practical utility. *JAMA* 1992;267:1652.
244. Cooper GR, Smith SJ, Myers GL, et al. Estimating and minimizing effects of biologic sources of variation by relative range when measuring the mean of serum lipids and lipoproteins. *Clin Chem* 1994;40:227.
245. Eckfeldt JH, Copeland KR. Accuracy verification and identification of matrix effects. The College of American Pathologist's protocol. *Arch Pathol Lab Med* 1993;117:381.
246. Greenberg N, Li ZM, Bower GN. National Reference System for Cholesterol (NRS-CHOL): problems with transfer of accuracy with matrix materials. *Clin Chem* 1988;24:1230.
247. Kroll MH, Chesler R, Elin RJ. Effect of lyophilization on results of five enzymatic methods for cholesterol. *Clin Chem* 1989;35:1523.

Electrólitos

Joan E. Polancic

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- AGUA
 - Osmolalidad
- ELECTRÓLITOS
 - Sodio
 - Potasio
 - Cloruro
 - Bicarbonato
 - Magnesio
 - Calcio
- Fosfato
- Lactato
- INTERVALO ANIÓNICO
- ELECTRÓLITOS Y FUNCIÓN RENAL
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Definir electrólito, osmolalidad, intervalo aniónico, anión y catión.
- Analizar la fisiología de cada electrólito definido en este capítulo.
- Establecer el significado clínico de cada uno de los electrólitos mencionados en el capítulo.
- Calcular la osmolalidad, el espacio osmolar y el intervalo aniónico, y explicar la utilidad clínica de cada uno.
- Explicar las técnicas analíticas empleadas para evaluar concentraciones de electrólito.
- Correlacionar la información con el estado morbo-so, considerando los datos del paciente.
- Identificar los intervalos de referencia para el sodio, potasio, cloruro, bicarbonato, magnesio y calcio.
- Establecer la muestra de elección para los principales electrólitos.
- Explicar la función del riñón en la excreción y la conservación de electrólito en una persona saludable.
- Describir la utilidad de los resultados de electrólitos en la orina: sodio, potasio, calcio y osmolalidad.

TÉRMINOS CLAVE

Anión
Catión
Difusión
Electrólito
Espacio osmolar
Hipercalemia
Hipocloremia

Hiperfosfatemia
Hipermagnesemia
Hipernatremia
Hiperpotasemia
Hipocalcemia
Hipocloremia
Hipofosfatemia

Hipomagnesemia
Hiponatremia
Hipopotasemia
Hipovolemia
Intervalo aniónico
Líquido extracelular (LEC)
Líquido intracelular (LIC)

Osmolalidad
Osmolaridad
Osmómetro
Polidipsia
Tetania
Transporte activo

Los *electrólitos* son iones capaces de llevar una carga eléctrica. Se clasifican como aniones o cationes con base en el tipo de carga que llevan. Estos nombres se determinaron hace años con base en cómo el ion migra en un campo eléctrico. Los *aniones* tienen una carga negativa y se mueven hacia el ánodo, mientras que los *cationes* migran en la dirección del cátodo debido a su carga positiva.

Los electrólitos son un componente esencial en numerosos procesos, entre otros la regulación volumétrica y osmótica (Na, Cl, K); ritmo cardíaco y contractilidad (K, Mg, Ca); cofactores en la activación de enzimas (como Mg, Ca, Zn); regulación de las bombas iónicas (Mg) de adenosina trifosfatasa (ATPasa); equilibrio acidobase (HCO_3 , K, Cl); coagulación de sangre (Ca, Mg); excitabilidad neuromuscular (K, Ca, Mg); y la producción y uso de ATP a partir de glucosa (como Mg, PO_4). Debido a que muchas de estas funciones requieren concentraciones de electrólitos para mantenerse dentro de intervalos reducidos, el cuerpo tiene sistemas complejos para monitorear y mantener concentraciones de electrólito.

En este capítulo se explora tanto la fisiología metabólica como la regulación de cada electrólito, y se relacionan estos factores con la importancia clínica de las mediciones de electrólitos. Además, se analizan las metodologías usadas para determinar las concentraciones de cada uno de los analitos.

AGUA

El contenido de agua promedio del cuerpo humano varía 40 a 75% del peso corporal total, con valores que disminuyen con la edad, y en particular con la obesidad. Las mujeres tienen menor contenido de agua promedio que los varones como resultado de un mayor contenido de grasa. El agua es el disolvente para todos los procesos en el cuerpo humano. Transporta nutrientes a las células, determina el volumen celular por su transporte dentro y fuera de las células, elimina productos de desecho por vía de la orina y actúa como refrigerante del cuerpo por medio de la sudación. El agua se localiza en compartimientos intra y extracelulares. El *líquido intracelular* (LIC) es el líquido dentro de las células y constituye cerca de dos tercios del agua corporal total. El *líquido extracelular* (LEC) equivale al otro tercio del agua corporal total y se puede subdividir en el *líquido extracelular intravascular* (plasma) y el *líquido celular intersticial* que rodea a las células en el tejido. El plasma normal tiene cerca de 93% de agua, con el volumen restante ocupado por lípidos y proteínas. Las concentraciones de iones dentro de las células y en el plasma se mantienen tanto por procesos de transporte activo que consumen energía como difusión o procesos de transporte pasivo.

El *transporte activo* es un mecanismo que requiere energía para mover iones por membranas celulares. Por ejemplo, para mantener una alta concentración intracelular de potasio y una alta concentración extracelular (plasma) de sodio se requiere energía de ATP en las bombas iónicas dependientes de ATPasa. La *difusión* es el movimiento pasivo de iones a través de una mem-

brana. Esto depende del tamaño y carga del ion que es transportado y de la naturaleza de la membrana por la que pasa. La tasa de difusión de varios iones también puede ser modificada por procesos fisiológicos y hormonales.

Si se mantiene la concentración de proteínas y electrólitos en un ambiente controlado un poco flexible, la distribución de agua en estos compartimientos también puede ser controlada. Debido a que la mayor parte de los procesos biológicos son permeables al agua pero no a los iones o proteínas, la concentración de iones y proteínas en un lado de la membrana o el otro afectará el flujo de agua a través de la membrana (un osmorregulador). Además de los efectos osmóticos del sodio, otros iones, proteínas y la presión arterial afectan el flujo de agua por la membrana.

Osmolalidad

La *osmolalidad* es una propiedad física de una disolución que se basa en la concentración de solutos (expresada como milimoles) por kilogramo de disolvente (p/p). La osmolalidad se relaciona con varios cambios en las propiedades de una disolución con respecto al agua pura, como depresión del punto de congelación y disminución de la presión de vapor. Estas propiedades coligativas (véase el capítulo 1, *Principios básicos y práctica*) son la base para mediciones rutinarias de osmolalidad en el laboratorio. El término *osmolaridad* aún se usa de manera ocasional, con resultados expresados en miliosmoles por litro (p/v), pero es inexacto en casos de hiperlipidemia o hiperproteinemia; para muestras de orina; o en la presencia de ciertas sustancias osmóticamente activas, como el alcohol o manitol. Tanto la sensación de sed como la secreción de la hormona antidiurética (ADH) son estimuladas por el hipotálamo en respuesta a mayor osmolalidad de la sangre. La respuesta natural a la sensación de sed es consumir más líquidos, incrementar el contenido de agua del LEC, diluir las concentraciones altas de soluto (sodio) y disminuir la osmolalidad del plasma. La sed, por tanto, es importante para mediar la ingestión de líquidos. El otro medio para controlar la osmolalidad es por secreción de ADH (vasopresina). Esta hormona es secretada por la glándula hipófisis y actúa en las células de los conductos recolectores en los riñones para incrementar la reabsorción de agua. El agua se conserva, disminuye la osmolalidad y se desactiva la secreción de ADH.¹

Importancia clínica de la osmolalidad

La osmolalidad en el plasma es importante porque es el parámetro al que responde el hipotálamo. La regulación de la osmolalidad también afecta la concentración de sodio en el plasma, en gran medida porque el sodio y sus aniones relacionados explican 90% de la actividad osmótica en el plasma. Otro proceso importante que afecta la concentración del sodio en la sangre es la regulación del volumen de sangre. Como se explica después, aunque la osmolalidad y el volumen están regulados por mecanismos separados (excepto para ADH y la sed), se relacionan

porque la osmolalidad se regula mediante cambios en el equilibrio de agua, mientras que el volumen se regula mediante cambios en el equilibrio del sodio.¹

Para mantener una osmolalidad plasmática normal (~275–295) mosm/kg de plasma (H_2O), los osmorreceptores en el hipotálamo responden con rapidez a cambios pequeños de osmolalidad. Un incremento de 1 a 2% en la osmolalidad causa un incremento de cuatro veces en la concentración circulante de ADH, y una reducción de 1 a 2% en la osmolalidad termina la producción de ADH. La ADH hace que se incremente la reabsorción de agua en los túbulos de recolección corticales y medulares. La ADH tiene una semivida en la circulación de sólo 15 a 20 minutos.

La regulación del agua renal por ADH y la sed desempeñan funciones importantes en la regulación de la osmolalidad del plasma. La excreción de agua renal es más importante para evitar el déficit de agua o deshidratación. Considere lo que sucede en varias condiciones.

Carga de agua. Cuando la ingestión de agua en exceso (como en la polidipsia) comienza a disminuir la osmolalidad del plasma, se suprimen tanto ADH como la sed. En la ausencia de ADH, el agua no es reabsorbida, lo que causa que se excrete un gran volumen de orina diluida, algo así como 10 a 20 L, lo cual está muy arriba de la ingestión normal de agua. Por tanto, la hipoosmolalidad y la hiponatremia ocurren por lo general sólo en pacientes con excreción renal deficiente de agua.¹

Déficit de agua. Cuando un déficit de agua comienza a incrementar la osmolalidad plasmática, se activan tanto la secreción de ADH como la sed. Aunque la ADH contribuye a minimizar la pérdida de agua renal, la sed es la defensa principal contra la hiperosmolalidad y la hiper-

natremia. Aunque la hipernatremia rara vez ocurre en una persona con un mecanismo de sed normal y acceso a agua, es una preocupación en infantes, pacientes inconscientes, o cualquier persona que sea incapaz de beber o pedir agua. La estimulación osmótica de la sed disminuye de manera progresiva en las personas mayores de 60 años. En el paciente anciano con enfermedad y estado mental menguado, la deshidratación es cada vez más probable. Como un ejemplo de la efectividad de la sed para evitar la deshidratación, un paciente con diabetes insípida (sin ADH), puede excretar 10 L de orina por día; sin embargo, debido a que persiste la sed, la ingestión de agua corresponde con la excreción, y el sodio plasmático permanece normal.¹

Regulación del volumen de sangre

El volumen de sangre adecuado es esencial para mantener la presión arterial y asegurar buena perfusión a los tejidos y órganos. La regulación del sodio y el agua están interrelacionadas en el control del volumen sanguíneo. El sistema renina-angiotensina-aldosterona responde sobre todo a un volumen reducido de sangre. La renina es excretada cerca de los glomérulos renales en respuesta al flujo sanguíneo renal reducido (volumen sanguíneo o presión arterial reducidos). La renina convierte al angiotensinógeno en angiotensina I, que luego se convierte en angiotensina II. Ésta causa vasoconstricción, que incrementa con rapidez la presión arterial, y la secreción de aldosterona, que incrementa la retención de sodio y el agua que acompaña al sodio. Los efectos del volumen sanguíneo y la osmolalidad en el metabolismo del sodio y el agua se muestran en la figura 13-1. Los cambios en el volumen sanguíneo (en realidad en la presión) son detectados al inicio por una

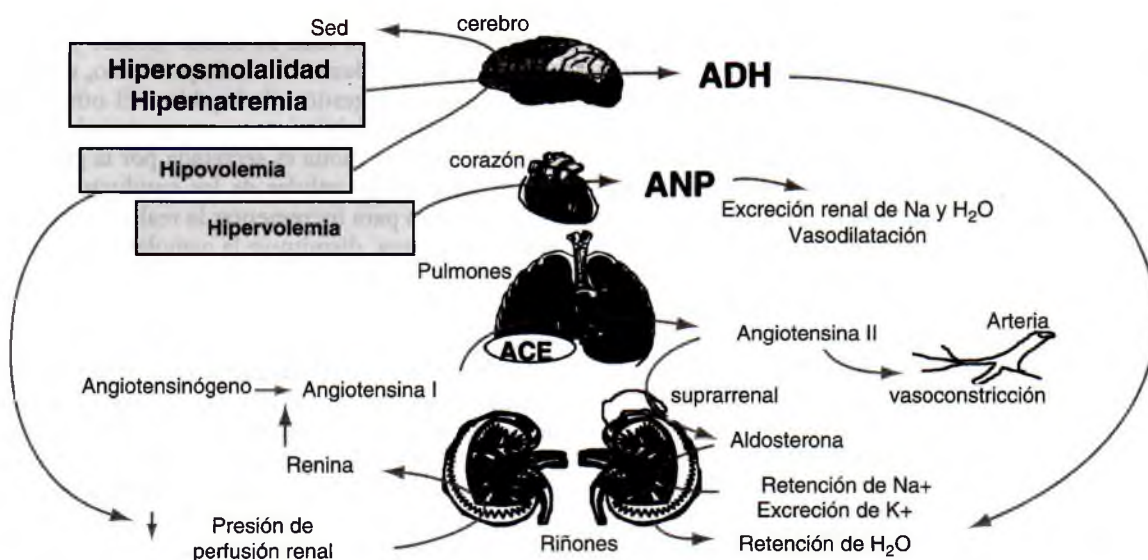


FIGURA 13-1. Respuestas a cambios en la osmolalidad de la sangre y el volumen sanguíneo. ADH, hormona anti-diurética; ANP, péptido natriurético atrial. Los estímulos primarios se muestran en cuadros (como hipovolemia).

serie de receptores de estiramiento localizados en áreas como la circulación cardiopulmonar, el seno carotídeo, el arco aórtico y las arteriolas glomerulares. Estos receptores activan una serie de respuestas (efectores) que restablecen el volumen al variar de manera adecuada la resistencia vascular, el gasto cardíaco y la retención renal de sodio y agua.¹

Otros cuatro factores afectan el volumen sanguíneo: a) péptido natriurético auricular (PNA), liberado de la aurícula miocárdica en respuesta a expansión de volumen, promueve la excreción de sodio en el riñón (el péptido natriurético tipo B [PNB] y el PNA actúan juntos en la regulación de la presión arterial y el equilibrio de líquido); b) los receptores de volumen independientes de la osmolalidad estimulan la liberación de ADH, que conserva agua por reabsorción renal; c) la tasa de filtración glomerular (TFG) aumenta con la expansión de volumen y disminuye con la reducción de líquido, y d) con lo demás igual, la mayor cantidad de sodio plasmático incrementará la excreción de sodio urinario y viceversa. La reabsorción normal de 98 a 99% del sodio filtrado por los túbulos conserva casi todos los 150 L de filtrado glomerular producidos diario. Una reducción de 1 a 2% en la reabsorción tubular de sodio puede incrementar la pérdida de agua en varios litros por día.

Los valores de osmolalidad de la orina pueden variar mucho dependiendo de la ingestión de agua y las circunstancias de recolección. Sin embargo, por lo general se reduce en la diabetes mellitus (ADH inadecuada) y la *polidipsia* (ingestión excesiva de H₂O) y se incrementa en condiciones como el síndrome de secreción inapropiada de ADH (SIADH) y la *hipovolemia* (aunque por lo general el Na urinario es reducido).

Determinación de osmolalidad

Muestra. La osmolalidad se puede medir en el suero o la orina. El uso de plasma no se recomienda porque se pueden introducir sustancias osmóticamente activas en la muestra a partir del anticoagulante.

Explicación. Los métodos para determinar osmolalidad se basan en las propiedades de una disolución que se relacionan con el número de moléculas de soluto por kilogramo de disolvente (propiedades coligativas), como cambios en el punto de congelación y la presión de vapor. Un incremento en la osmolalidad disminuye la temperatura del punto de congelación y la presión de vapor. La medición de la depresión del punto de congelación y la disminución de la presión de vapor (en realidad el punto de rocío) son los dos métodos de análisis empleados con más frecuencia. Para información detallada acerca de la teoría y la metodología, consulte el capítulo 4, *Técnicas analíticas e instrumentación*, o bien, el manual de operador del instrumento que esté usando.

Las muestras deben estar libres de partículas para obtener resultados exactos. Las muestras de suero y orina turbias se deben centrifugar antes del análisis para eliminar partículas extrañas. Si se emplean tazas de muestra reutilizables, se deben limpiar y secar por completo entre cada uso para evitar contaminación.

Los osmómetros que operan por depresión del punto de congelación son estandarizados con disoluciones de referencia de cloruro de sodio. Después de la calibración, se transfiere mediante una pipeta la cantidad apropiada en la cubeta requerida o taza de muestra y se coloca en el analizador. Después, se superenfía la muestra a -7°C y se siembra para iniciar el proceso de congelación. Cuando se ha alcanzado el equilibrio de temperatura, se mide el punto de congelación; los resultados para la osmolalidad del suero y la orina se expresan como miliosmoles por kilogramo.

El cálculo de la osmolalidad tiene cierta utilidad ya sea como una estimación de la osmolalidad verdadera o para determinar el *espacio osmolal*, que es la diferencia entre la osmolalidad medida y la osmolalidad calculada. El espacio osmolal indica de manera indirecta la presencia de sustancias osmóticamente activas distintas al sodio, urea o glucosa, como etanol, metanol, etilenglicol, lactato o β-hidroxibutirato.

Se presentan dos fórmulas, cada una con ventajas y desventajas teóricas. Ambas son adecuadas para el propósito descrito antes. Para una explicación más amplia, se recomienda al lector que consulte otras referencias.²

$$2 \text{ Na} + \frac{\text{glucosa}(\text{mg/dl})}{20} + \frac{\text{NUS}(\text{mg/dl})}{3}$$

$$1.86 \text{ Na} + \frac{\text{glucosa}}{18} + \frac{\text{NUS}}{2.8} + 9 \quad (\text{Ec. 13-1})$$

Intervalos de referencia³

Véase el cuadro 13-1.

ELECTRÓLITOS

Sodio

El sodio es el catión más abundante en el LEC; representa 90% de los cationes extracelulares y determina en gran medida la osmolalidad del plasma. Una osmolalidad plasmática normal es de alrededor de 295 mmol/L, con 270 mmol/L como el resultado de sodio y aniones relacionados.

La concentración de sodio en el LEC es mucho más grande que dentro de las células. Debido a que se puede difundir una pequeña cantidad de sodio por la membrana celular, los dos lados alcanzarían el equilibrio en determinado momento. Para evitar que ocurra el equilibrio, los sistemas de transporte activos, como las bombas iónicas

CUADRO 13-1. INTERVALOS DE REFERENCIA PARA OSMOLALIDAD

Suero	275–295 mosm/kg
Orina (24 h)	300–900 mosm/kg
Relación orina/suero	1.0–3.0
Intervalo osmolal	<15

ESTUDIO DE CASO 13-1

Una mujer de 32 años de edad fue admitida al hospital después de dos días y medio de vómito intenso. Antes de este episodio, ella estaba bien. Los hallazgos físicos revelaron disminución de rigidez cutánea y membranas mucosas secas. Los resultados del estudio de admisión fueron como sigue:

Suero

- Na⁺: 129 mmol/L
- K⁺: 5.0 mmol/L
- Cl⁻: 77 mmol/L
- HCO₃⁻: 9 mmol/L
- Osmolalidad: 265 mosm/kg

Orina

- Na⁺: 8 mmol/día
- Cetonas: trazas

Preguntas

1. ¿Cuál es la causa para cada resultado anormal de electrolito plasmático?
2. ¿Cuál es la importancia de los resultados de la osmolalidad del sodio de la orina y del suero?

de ATPasa, están presentes en las células. El potasio (véase *Potasio*) es el principal catión intracelular. Al igual que el sodio, el potasio se difundirá finalmente por la membrana celular hasta que se alcance el equilibrio. La bomba iónica de NaK ATPasa mueve tres iones sodio fuera de la célula a cambio de dos iones potasio que se mueven hacia la célula cuando el ATP se convierte en ADP. Debido a que el agua sigue a los electrolitos por las membranas celulares, la eliminación continua de sodio de la célula evita la rotura osmótica de ésta al extraer también agua.

Regulación

La concentración de sodio plasmático depende en gran medida de la ingestión y excreción de agua y, en menor grado, de la regulación renal de Na. Tres procesos son de importancia primaria: *a*) la ingestión de agua en respuesta a la sed, cuando se estimula o suprime mediante osmolalidad plasmática; *b*) la excreción de agua, afectada en gran medida por la liberación de ADH en respuesta a cambios en el volumen sanguíneo u osmolalidad, y *c*) el estado del volumen sanguíneo, que afecta la excreción de sodio a través de la aldosterona, angiotensina II y PNA (péptido natriurético atrial). Los riñones tienen la capacidad de conservar o excretar grandes cantidades de sodio, lo cual depende del contenido de sodio del LEC y el volumen sanguíneo. Normalmente, 60 a 75% del sodio filtrado se reabsorbe en el túbulo proximal; la electroneutralidad se mantiene por reabsorción de Cl o secreción de iones H. Un poco de sodio se reabsorbe también en el asa y el túbulo distal y (controlado por aldosterona) se intercambia por K en el segmento conector y el túbulo colector cortical. La regulación de la osmolalidad y el volumen se resumen en la figura 13-1.

Aplicaciones clínicas

Hiponatremia. La hiponatremia se define como una concentración sérica o plasmática <135 mmol/L.⁴ Las concentraciones menores de 130 mmol/L son clínicamente importantes. La hiponatremia se puede evaluar mediante la causa de la disminución o con el nivel de osmolalidad.

Las concentraciones reducidas pueden ser causadas por pérdida incrementada de sodio o desequilibrio de agua (cuadro 13-2). La *pérdida incrementada de sodio* en la orina puede ocurrir con producción reducida de aldosterona, ciertos diuréticos (tiacidas), con cetonuria (pérdida de sodio con cetonas) o nefropatía con pérdida de sal (con algunos trastornos tubulares renales). La deficiencia de potasio también causa pérdida de sodio debido a la relación inversa de los dos iones en los túbulos renales. Cuando las concentraciones de K sérico son bajas, los túbulos conservarán K y excretarán Na a cambio por la pérdida del catión monovalente. Cada trastorno da como resultado una mayor concentración de sodio en la orina (>20 mmol/día), que excede la cantidad de pérdida de agua.⁵

El vómito prologado, o diarrea, o las quemaduras graves pueden dar como resultado pérdida de sodio. Las concentraciones de sodio en la orina son por lo general <20 mmol/día en estos trastornos, que se pueden usar para diferenciar entre causas de pérdida urinaria.

CUADRO 13-2. CAUSAS DE HIPERNATREMIA**Pérdida incrementada de iones**

Hipoadrenalismo
Deficiencia de potasio
Uso diurético
Cetonuria
Nefropatía con pérdida de sal
Vómito prolongado o diarrea
Quemaduras graves

Retención incrementada de agua

Insuficiencia renal
Síndrome nefrótico
Cirrosis hepática
Insuficiencia cardíaca congestiva

Desequilibrio de agua

Ingestión de agua en exceso
SIADH
Seudohiponatremia

La *retención incrementada de agua* causa dilución de sodio sérico o plasmático como con la insuficiencia renal crónica. En el síndrome nefrótico y la cirrosis hepática, la concentración de proteínas plasmáticas es baja, lo que da como resultado una disminución de la presión osmótica coloidal (POC) en la que el líquido intravascular migra al tejido (resulta edema). El volumen plasmático bajo causa que se produzca ADH, lo cual provoca retención de líquido y dilución de Na. Este mecanismo compensatorio se observa también con la ICC como resultado de la mayor presión venosa. Las concentraciones de sodio en la orina se pueden usar para diferenciar la causa de la mayor retención de agua. Cuando el sodio en la orina es >20 mmol/día, la insuficiencia renal crónica o aguda es la causa probable. Cuando las concentraciones de orina son <20 mmol/día, la retención de agua puede ser un resultado de síndrome nefrótico, cirrosis hepática o insuficiencia cardíaca congestiva (ICC).⁵

El *desequilibrio hídrico* puede ocurrir como resultado de la ingestión excesiva de agua, como con la polidipsia (sed intensa). La ingestión incrementada debe ser crónica antes que ocurra el desequilibrio hídrico, que puede causar hiponatremia leve o grave. En un individuo anormal, la ingestión en exceso no afectará las concentraciones de Na. El síndrome de secreción inapropiada de ADH (SIADH) causa un incremento en la retención de agua debido a la mayor producción de ADH. Un efecto de la regulación de ADH ha sido relacionado con enfermedad pulmonar, malignidades, trastornos del SNC, infecciones (p. ej., neumonía por *Pneumocystis carinii*) o traumatismo.⁵ La pseudohiponatremia puede ocurrir cuando se mide Na con ESI indirecto en un paciente que es hiperproteínemico o hiperlipidémico. En una medición indirecta con ESI se diluye la muestra antes del análisis y como resultado del desplazamiento de agua en el plasma o suero; las concentraciones iónicas disminuyen de forma falsa. (Para información detallada acerca de la teo-

ría de desplazamiento de agua con ESI indirectos, consulte el capítulo 4, *Técnicas analíticas e instrumentación*.)

La hiponatremia se puede *clasificar de acuerdo con la osmolalidad plasmática o sérica* (cuadro 13-3). Debido a que el Na es un contribuyente principal a la osmolalidad, ambas concentraciones pueden ayudar a identificar la causa de la hiponatremia. Hay tres categorías de hiponatremia: osmolalidad baja, osmolalidad normal u osmolalidad alta.⁴ La mayor parte de los casos de *hiponatremia* ocurren con *osmolalidad reducida*. Esto puede ser resultado de pérdida de Na o retención de agua, como se mencionó antes.

La *hiponatremia con una osmolalidad normal* puede ser un resultado de un incremento alto de cationes no sódicos como los listados en el cuadro 13-4. En el mieloma múltiple, las γ -globulinas catiónicas reemplazan parte del sodio para mantener la electroneutralidad; sin embargo, debido a que es un catión multivalente, tiene poco efecto en la osmolalidad.

La pseudohiponatremia, como se mencionó antes, se puede observar también con hemólisis *in vitro*, considerada la causa más común para una disminución falsa.⁴ Cuando se lisan los eritrocitos, se libera Na, K y agua. La concentración de Na es baja en los eritrocitos, lo que da como resultado una disminución falsa. La *hiponatremia con una osmolalidad alta* se relaciona con hiperglucemia. Esta concentración alta de soluto causa una desviación de agua de las células a la sangre, lo que da como resultado una dilución de sodio.

Síntomas de hiponatremia. Los síntomas dependen de la concentración sérica. Entre 125 y 130 mmol/L, los síntomas son principalmente gastrointestinales (GI). Los síntomas neuropsiquiátricos más graves se observan con concentraciones menores que 125 mmol/L, incluso náusea y vómito, debilidad muscular, cefalea, letargo y ataxia. Los síntomas mas graves son convulsiones, coma y depresión respiratoria.⁵ Los electrolitos del suero y la orina se monitorean cuando se da tratamiento para volver las concentraciones de sodio al nivel normal.⁶

Tratamiento de la hiponatremia. El tratamiento va dirigido a la corrección de la condición que causó la pérdida de agua o de sodio con exceso de pérdida de agua. Corregir demasiado rápido la hiponatremia grave puede causar mielinólisis cerebral; si la corrección es demasiado lenta causa edema cerebral.⁶ El manejo apropiado de la

CUADRO 13-3. CLASIFICACIÓN DE HIPONATREMIA POR OSMOLALIDAD

Con osmolalidad baja

Pérdida incrementada de sodio

Retención incrementada de agua

Con osmolalidad normal

Cationes no sódicos incrementados

Exceso de litio

γ -Globulinas incrementadas:

catiónicas (mieloma múltiple)

Hiperpotasemia grave

Hipermagnesemia grave

Hipercalcemia grave

Seudohiponatremia

Hiperlipidemia

Hiperproteínemia

Seudohiperpotasemia como resultado de hemólisis *in vitro*

Con osmolalidad alta

Hiperglucemia

Infusión de manitol

CUADRO 13-4. CAUSAS DE HIPERNATREMIA

Pérdida excesiva de agua

Diabetes insípida

Trastorno tubular renal

Diarrea prolongada

Sudación profusa

Quemaduras graves

Ingestión reducida de agua

Personas ancianas

Infantes

Daño mental

Ingestión incrementada o retención

Hiperaldosteronismo

Exceso de bicarbonato de sodio

Exceso de líquido de diálisis

administración de líquidos es muy importante. Durante el tratamiento de la causa subyacente de la hiponatremia se requiere administración de líquidos y vigilancia.

Hipernatremia. La *hipernatremia* (concentración de sodio sérico incrementada) resulta de la pérdida excesiva de agua en relación con la pérdida de sodio, ingestión reducida de agua o ingestión o retención incrementada de sodio. La hipernatremia es menos común que la hiponatremia en pacientes hospitalizados.⁵

La pérdida de líquido hipotónico puede ocurrir ya sea por el riñón o por sudación profusa, diarrea o quemaduras graves.

La hipernatremia puede resultar de pérdida de agua en la diabetes insípida, ya sea porque el riñón no puede responder a ADH (diabetes insípida nefrogénica) o está dañada la secreción de ADH (diabetes insípida central). La diabetes insípida se caracteriza por producción copiosa de orina diluida (3 a 20 L/día). Debido a que las personas con diabetes insípida beben grandes volúmenes de agua, la hipernatremia por lo general no ocurre a menos que esté dañado el mecanismo de la sed. También pueden ocurrir defectos parciales de liberación de ADH o su respuesta. En tales casos, la orina se concentra en menor grado que el apropiado para corregir la hipernatremia. La pérdida excesiva de agua también puede ocurrir en la enfermedad tubular renal, como la necrosis tubular aguda, en la que los túbulos se vuelven incapaces de concentrar la orina.

La medición de la osmolalidad de la orina es necesaria para evaluar la causa de la hipernatremia. Con la pérdida renal de agua, la osmolalidad de la orina es baja o normal. Con las pérdidas de líquidos extrarrenales, se incrementa la osmolalidad de la orina. La interpretación de la osmolalidad de la orina en la hipernatremia se muestra en el cuadro 13-5.

La pérdida de agua por la piel y la respiración (pérdida insensible) constituye cerca de 1 L de pérdida de agua por día en adultos. Cualquier condición que incrementa la pérdida de agua, como la fiebre, quemaduras, diarrea o exposición al calor, incrementará la probabilidad de desarrollar hipernatremia. Por lo general, la hipernatremia ocurre en las personas que pueden estar sedientas pero no pueden pedir u obtener agua, como los adultos con estado mental alterado o infantes. Cuando la orina no se puede concentrar por completo (p. ej., en neonatos, niños jóvenes, ancianos y ciertos pacientes con insuficiencia renal), puede ocurrir una osmolalidad de orina relativamente baja.

La hipernatremia crónica en un paciente alerta es señal de enfermedad hipotalámica, por lo general con un defecto en los osmorreceptores en vez de un restablecimiento verdadero del osmostato. En el hiperaldosteronismo primario puede ocurrir un restablecimiento del osmostato, en el que el exceso de aldosterona induce hipervolemia leve que retarda la liberación de ADH, desplazamiento de sodio plasmático hacia arriba en ~3 a 5 mmol/L.¹

La hipernatremia puede ser de ingestión excesiva de sal o administración de disoluciones hipertónicas de sodio, como bicarbonato de sodio o disoluciones de diálisis hipertónicas. Los neonatos son especialmente susceptibles a hipernatremia por esta causa. En estos casos, la respuesta a ADH es apropiada, y da como resultado osmolalidad de orina mayor que 800 mosm/kg (cuadro 13-5).

CUADRO 13-5. HIPERNATREMIA (150 MMOL/L) RELACIONADA CON OSMOLALIDAD DE ORINA

Osmolalidad de orina <300 mosm/kg

Diabetes insípida (secreción dañada de ADH o los riñones no responden a ADH)

Osmolalidad de orina 300 a 700 mosm/kg

Defecto parcial en la liberación de ADH o respuesta a ADH

Diuresis osmótica

Osmolalidad de orina >700 mosm/kg

Pérdida de la sed

Pérdida insensible de agua (respiración, piel)

Pérdida GI de líquido hipotónico

Ingestión de sodio en exceso

Síntomas de hipernatremia. Los síntomas más comunes tienen que ver con el sistema nervioso central (SNC) como resultado del estado hiperosmolar. Estos síntomas incluyen estado mental alterado, letargo, irritabilidad, inquietud, convulsiones, espasmo muscular repentino, hiperreflejos, fiebre, náusea o vómito, respiración difícil y sed intensa. El sodio sérico de más de 160 mmol/L se relaciona con una tasa de mortalidad de 60 a 75%.⁵

Tratamiento de la hipernatremia. El tratamiento está dirigido a la corrección de la condición subyacente que causó la disminución de agua o la retención de sodio. La velocidad de la corrección depende de la tasa con la que se desarrolló la condición. La hipernatremia se debe corregir de manera gradual porque la corrección demasiado rápida de hipernatremia (>160 mmol/L) puede inducir edema cerebral y muerte, la tasa máxima debe ser 0.5 mmol/L por hora.¹

Determinación de sodio

Muestra. El suero, plasma y orina son aceptables para mediciones de sodio. Cuando se usa plasma, la heparina de litio, la de amonio y el oxalato de litio son anticoagulantes adecuados. La hemólisis no causa un cambio importante en los valores de suero o plasma como resultado de concentraciones reducidas de sodio intracelular. Sin embargo, con hemólisis remarcada, las concentraciones se pueden reducir como resultado de un efecto de dilución.

Las muestras de sangre completa se pueden usar con algunos analizadores. Consulte el manual de operación del instrumento para aceptabilidad. La muestra de elección en el análisis de sodio en la orina es una recolección de 24 horas. El sudor también es adecuado para análisis. La recolección y el análisis de sudor se analizan en el capítulo 27, *Análisis de los líquidos corporales*.

Métodos. A través de los años, el sodio ha sido medido en varias formas, incluso métodos químicos, espectrometría de emisión de flama (EEF), espectrofotometría de absorción atómica (EAA) y electrodos selectivos de iones (ESI). Los métodos químicos son obsoletos debido a los requisitos de volumen de muestra grandes y la falta de precisión. El ESI es el método más usado en los laboratorios clínicos.

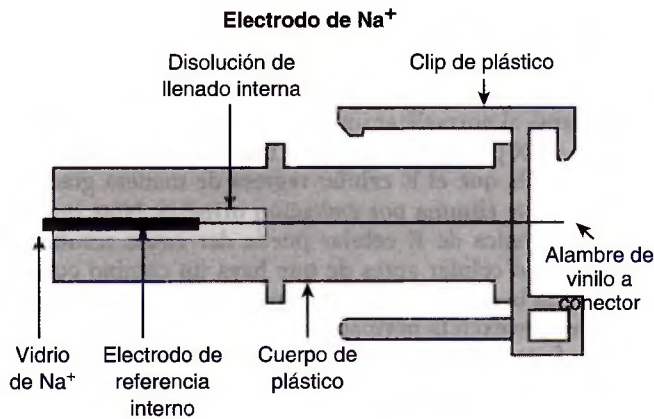


FIGURA 13-2. Diagrama de ESI de sodio con membrana capilar de vidrio. (Cortesía de Nova Biomedical, Waltham, MA.)

En el ESI se emplea una membrana semipermeable para desarrollar un potencial producido al tener diferentes concentraciones de iones en cualquier lado de la membrana. En este tipo de sistema, se emplean dos electrodos. Un electrodo tiene un potencial constante, de modo que es el electrodo de referencia. La diferencia de potencial entre los electrodos de referencia y medición se puede usar para calcular la

“concentración” del ion en la disolución. Sin embargo, es la actividad del ion, no la concentración que se mide (véase el capítulo 4, *Técnicas analíticas e instrumentación*).

La mayor parte de los analizadores emplean una membrana de vidrio de intercambio iónico en su sistema ESI para medición de sodio (fig. 13-2). Hay dos tipos de medición ESI, con base en la preparación de la muestra: directa e indirecta. La medición directa provee una muestra no diluida para interactuar con la membrana ESI. Con el método directo, se emplea una muestra diluida para medición. No hay diferencia significativa en los resultados, excepto cuando las muestras son hiperlipidémicas o hiperproteínicas. El exceso de lípidos o proteínas desplazan agua plasmática, lo cual origina una medición reducida falsa de la actividad iónica en mmol/L de plasma, mientras que el método directo se mide sólo en agua plasmática. En estos casos, el ESI directo es más exacto.

Una fuente de error con los ESI es la acumulación de proteínas en la membrana por el uso continuo. Las membranas recubiertas de proteína causan selectividad deficiente, lo que da como resultado mala reproducibilidad de resultados.

Los analizadores Vitros (Ortho-Clinical Diagnostics) usan un sistema ESI directo de un solo uso. Cada placa desechable contiene un electrodo de referencia y uno de medición (fig. 13-3). Una gota del líquido de muestra y una del

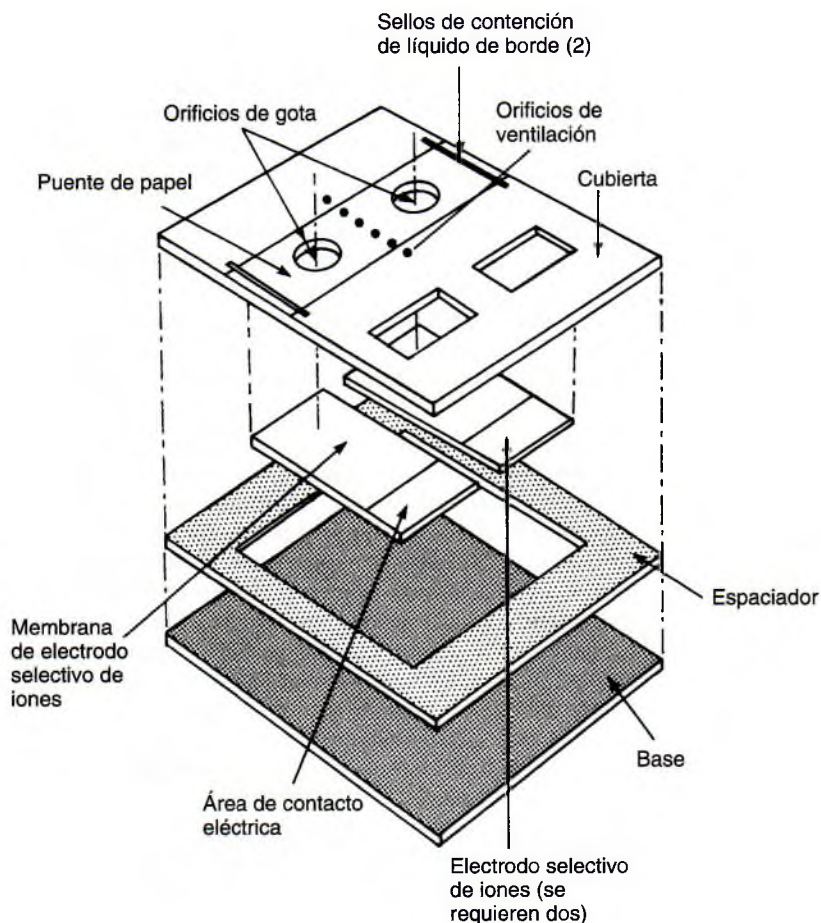


FIGURA 13-3. Diagrama esquemático del sistema ESI para la placa potenciométrica en el Vitros. (Cortesía de OCD, una compañía de Johnson & Johnson, Rochester, NY.)

CUADRO 13-6. INTERVALOS DE REFERENCIA PARA SODIO

Suero, plasma	136–145 mmol/L
Orina (24 h)	40 a 220 mmol/día, varía con la dieta
LCR	136 a 150 mmol/L

LCR Líquido cefalorraquídeo

líquido de referencia se aplican al mismo tiempo en la placa, y se mide la diferencia de potencial entre los dos.⁷

Intervalos de referencia

Véase el cuadro 13-6.

Potasio

El potasio es el principal catión intracelular en el cuerpo, con una concentración 20 veces mayor dentro de las células que afuera. Muchas funciones celulares requieren que el cuerpo mantenga una concentración de LEC baja de K^+ . Como resultado, sólo 2% del potasio total del cuerpo circula en el plasma. Las funciones del potasio en el cuerpo incluyen regulación de la excitabilidad neuromuscular, contracción del corazón, volumen de LIC y concentración de ion hidrógeno.¹

La concentración del ion potasio tiene un efecto importante en la contracción de los músculos esquelético y cardíaco. Una concentración alta de potasio plasmático disminuye el potencial de membrana en reposo (PMR) de la célula (el PMR es cercano a cero), que disminuye la diferencia neta entre el potencial de reposo de la célula y el potencial de umbral (acción). Una diferencia menor que la normal incrementa la excitabilidad de la célula, lo cual origina debilidad muscular. La hiperpotasemia grave puede, en última instancia, causar una falta de excitabilidad muscular (como resultado de un PMR mayor que el potencial de acción), que puede originar parálisis o arritmia cardíaca fatal.¹ La hipopotasemia disminuye la excitabilidad celular al incrementar el PMR, que con frecuencia produce arritmia o parálisis.¹ El corazón puede dejar de contraerse en casos extremos de hipo o hipopotasemia.

La concentración de potasio afecta también la concentración del ion hidrógeno en la sangre. Por ejemplo, en la hipopotasemia (baja concentración de potasio sérico), cuando los iones potasio se pierden del cuerpo, los iones sodio e hidrógeno se mueven hacia la célula. La concentración de ion hidrógeno es, por tanto, reducida en el LEC, lo que da como resultado alcalosis.

Regulación

Los riñones son importantes en la regulación del equilibrio de potasio. Al inicio, los túbulos proximales reabsorben casi todo el potasio. Luego, baja la influencia de la aldosterona, el potasio adicional se secreta en la orina en intercambio por sodio en los túbulos distales y los conductos colectores. Así, la nefrona distal es el determinante principal de la excreción de potasio urinario. La mayor parte de los individuos consumen más potasio del que

requieren; el exceso se excreta por la orina pero se puede acumular hasta concentraciones tóxicas si ocurre insuficiencia renal.

La captación de potasio del LEC hacia las células es importante al normalizar un aumento agudo en la concentración de K plasmático debido a una mayor captación de K . A medida que el K celular regresa de manera gradual al plasma, se elimina por excreción urinaria. Note que la pérdida crónica de K celular puede dar como resultado agotamiento celular antes de que haya un cambio considerable en la concentración plasmática de K debido a que su exceso se excreta normalmente por la orina.

Tres factores que influyen en la distribución de potasio entre las células y el LEC son: *a*) la pérdida de potasio ocurre con frecuencia siempre que la bomba de NaK ATPasa se inhiba por condiciones como hipoxia, hipomagnesemia o sobredosis de digoxina; *b*) la insulina promueve la entrada considerable de iones K en el músculo esquelético y el hígado al incrementar la actividad de NaK ATPasa, y *c*) las catecolaminas, como la adrenalina (estimulador β_2), promueven la entrada celular de K , mientras que el propranolol (bloqueador β) daña la entrada celular de K . La deficiencia dietética o exceso rara vez es una causa primaria de hipo o hiperpotasemia. Sin embargo, con una condición preexistente, la deficiencia dietética (o exceso) puede incrementar el grado de hipopotasemia (o hiperpotasemia).

Ejercicio. El potasio se libera de las células durante el ejercicio, lo cual puede incrementar el K plasmático en 0.3 a 1.2 mmol/L con ejercicio leve a moderado y en hasta 2 a 3 mmol/L con ejercicio exhaustivo. Estos cambios normalmente se invierten después de varios minutos de reposo. El ejercicio con el antebrazo durante la venopunción puede causar concentraciones de K plasmático altas y erróneas.⁸

Hiperosmolalidad. La hiperosmolalidad, como en la diabetes mellitus no controlada, causa que el agua se difunda desde las células, llevando iones K con el agua, lo que origina disminución gradual de potasio si la función de riñón es normal.

Descomposición celular. La descomposición celular libera K hacia el LEC. Ejemplos son traumatismo grave, síndrome de lisis tumoral y transfusiones masivas de sangre.

Aplicaciones clínicas

Hipopotasemia. La hipopotasemia es una concentración de potasio plasmático abajo del límite inferior del intervalo de referencia. La hipopotasemia puede ocurrir con pérdida GI o urinaria de potasio. Las causas comunes de hipopotasemia se muestran en el cuadro 13-7. De éstas, el tratamiento con diuréticos tipo tiacida es la más común.⁹ La pérdida GI ocurre cuando se pierde líquido GI por vómito, diarrea, succión gástrica o descarga desde una fistula intestinal. La pérdida mayor de K en la heces ocurre también con ciertos tumores, malabsorción, tratamiento del cáncer (quimioterapia o terapia con radiación) y dosis grandes de laxantes.

La pérdida renal de potasio puede resultar de trastornos renales como nefritis con pérdida de potasio y acidosis tubular renal (ATR). En la ATR, a medida que disminuye la excreción tubular de H^+ , aumenta la excreción de K . Debido

CUADRO 13-7. CAUSAS DE HIPOPOTASEMIA**Pérdida GI**

Vómito

Diarrea

Succión gástrica

Tumor intestinal

Malabsorción

Tratamiento del cáncer: quimioterapia, radiación

Dosis grandes de laxantes

Pérdida renal

Diuréticos: tiacidas, mineralocorticoides

Nefritis

Acidosis tubular renal (ATR)

Hiperaldosteronismo

Síndrome de Cushing

Hipomagnesemia

Leucemia aguda

Desplazamiento celular

Alcalosis

Sobredosis de insulina

Ingestión reducida

a que la aldosterona promueve la retención de Na y la pérdida de K, el hiperaldosteronismo puede originar hipopotasemia y alcalosis metabólica.¹ La hipomagnesemia puede ocasionar hipopotasemia al promover la pérdida urinaria de potasio. La deficiencia de magnesio disminuye también la actividad de NaK ATPasa e incrementa la secreción de aldosterona. El tratamiento eficaz requiere complementar con Mg y K.¹ La pérdida renal de K ocurre también con las leucemias mielógena aguda, mielomonocítica aguda y linfocítica aguda.⁹ Aunque la ingestión dietética reducida de K rara vez causa hipopotasemia en personas saludables, la ingestión reducida puede intensificar la hipopotasemia causada por el uso de diuréticos, por ejemplo.

Tanto la alcalemia como la insulina incrementan la captación celular de potasio. Debido a que la alcalemia promueve la pérdida intracelular de H⁺ para reducir la elevación del pH intracelular, el K y el sodio entran a las células para preservar la electroneutralidad. El K plasmático disminuye en alrededor de 0.4 mmol/L por cada aumento de pH de 0.1 unidades.¹ La insulina promueve la entrada de K en el músculo esquelético y las células hepáticas. Debido a que el tratamiento con insulina puede a veces revelar un estado hipopotasiémico subyacente, se debe vigilar con detenimiento el K plasmático siempre que se administre insulina a pacientes susceptibles.¹ Una causa rara de hipopotasemia se relaciona con una muestra de sangre de un paciente leucémico con una cuenta significativamente alta de leucocitos. El K presente en la muestra es captado por los leucocitos si se deja la muestra a temperatura ambiente durante varias horas.⁹

Síntomas de hipopotasemia. Los síntomas (como debilidad, fatiga y estreñimiento) suelen ser evidentes cuando el potasio plasmático disminuye por abajo de 3 mmol/L. La hipopotasemia origina debilidad muscular o parálisis, que interfiere con la respiración. Los peligros de la hipo-

potasemia interesan a todos los pacientes, pero en particular a quienes tienen trastornos cardiovasculares debido al mayor riesgo de arritmia, que puede causar muerte repentina en ciertos pacientes. La hipopotasemia leve (3.0 a 3.4 mmol/L) es por lo general asintomática.

Tratamiento de la hipopotasemia. El tratamiento incluye por lo general el reemplazo oral de potasio con KCl por varios días. En algunos casos, podría ser indicado el reemplazo intravenoso (IV). En otros, la hipopotasemia leve crónica se puede corregir con la inclusión de alimentos con alto contenido de potasio, como frutas secas, cereales de salvado, plátanos y jugo de naranja. Los electrolitos plasmáticos se monitorean cuando se da tratamiento para regresar a la normalidad las concentraciones de K.

Hiperpotasemia. Las causas más comunes de hiperpotasemia se muestran en el cuadro 13-8. Los pacientes con *hiperpotasemia* a menudo tienen un trastorno subyacente, como insuficiencia renal, diabetes mellitus o acidosis metabólica, que contribuye a la hiperpotasemia.⁸ Por ejemplo, durante la administración de KCl, una persona con insuficiencia renal tiene mucha más probabilidades de manifestar hiperpotasemia que una persona con función renal normal. La causa más común de hiperpotasemia en pacientes hospitalizados se debe a la administración terapéutica de K. El riesgo es mayor con el reemplazo intravenoso de K.⁸

En personas saludables, una carga oral aguda de potasio incrementará de manera breve el K plasmático debido a que la mayor parte del potasio absorbido se mueve con rapidez intracelularmente. Los procesos celulares normales liberan poco a poco este exceso de K de nuevo hacia el plasma, donde se elimina de manera normal por excreción renal. El deterioro de la excreción urinaria de K suele relacionarse con hiperpotasemia crónica.¹

Si un desplazamiento de K de las células al plasma ocurre con demasiada rapidez para ser eliminado por excreción renal, se desarrolla hiperpotasemia aguda. En la diabetes mellitus, la deficiencia de insulina promueve la pérdida celular de K. La hiperglucemia contribuye también

CUADRO 13-8. CAUSAS DE HIPERPOTASEMIA**Excreción renal reducida**

Insuficiencia renal aguda o crónica (TFG <20 ml/min)

Hipoaldosteronismo

Enfermedad de Addison

Diuréticos

Desplazamiento celular

Acidosis

Lesión muscular/celular

Quimioterapia

Leucemia

Hemólisis

Ingestión reducida

Tratamiento de reemplazo de potasio oral o IV

Artifactual

Hemólisis de la muestra

Trombocitosis

Uso prolongado de torniquete o cerrar con fuerza el puño

con la producción de plasma hiperosmolar que jala agua y K de las células, así que se promueve la pérdida adicional de K en el plasma.¹

En la acidosis metabólica, un exceso de H⁺ se mueve intracelularmente para ser amortiguado, el K sale de la célula para mantener la electroneutralidad. El K plasmático se incrementa en 0.2 a 1.7 mmol/L por cada reducción de 0.1 unidad de pH.¹ Debido a que con frecuencia el K celular se agota en casos de acidosis con hiperpotasemia (incluso cetoacidosis diabética), el tratamiento con agentes como la insulina y el bicarbonato puede causar un rápido movimiento intracelular de K, así que se produce hipopotasemia.

Varios fármacos pueden causar hiperpotasemia, en particular en pacientes con insuficiencia renal o diabetes mellitus. Estos fármacos son captopril (inhibe a la enzima convertidora de angiotensina), agentes antiinflamatorios no esteroideos (inhiben a la aldosterona), espironolactona (diurético ahorrador de K), digoxina (inhibe la bomba de NaK), ciclosporina (inhibe la respuesta renal a aldosterona) y tratamiento con heparina (inhibe la secreción de aldosterona).

La hiperpotasemia puede resultar cuando se libera potasio en el LEC durante la descomposición tisular incrementada o catabolismo, en particular si hay insuficiencia renal. La descomposición celular incrementada puede ser causada por traumatismo, administración de agentes citotóxicos, hemólisis masiva, síndrome de lisis tumoral y transfusiones de sangre. En la sangre depositada en los bancos, el K se libera en forma gradual de los electrolitos durante el almacenaje, lo cual con frecuencia causa concentración de K alta en el sobrenadante plasmático.

Los pacientes con derivación cardíaca pueden manifestar aumentos leves en la concentración de potasio plasmático durante el calentamiento después de la operación porque éste causa liberación celular de potasio en las células.

Síntomas de hiperpotasemia. La hiperpotasemia puede causar debilidad muscular, hormigueo, entumecimiento o confusión mental si se modifica la conducción neuromuscular. La debilidad muscular no se manifiesta por lo general hasta que el potasio plasmático alcanza 8 mmol/L.¹

La hiperpotasemia perturba la conducción cardíaca, que puede conducir a arritmias cardíacas y posible paro cardíaco. Las concentraciones de potasio plasmático de 6 a 7 mmol/L pueden alterar el electrocardiograma, y las concentraciones de más de 10 mmol/L pueden causar paro cardíaco fatal.¹

Tratamiento de la hiperpotasemia. El tratamiento se debe iniciar de inmediato cuando el K sérico es ≥ 6.0 a 6.5 mmol/L o si hay cambios de ECG.⁸ Para contrarrestar el efecto del potasio, que disminuye el potencial de reposo de las células miocárdicas, se puede administrar calcio para reducir el potencial de umbral de las células miocárdicas. Por tanto, el calcio provee protección al miocardio corta pero inmediata contra los efectos de la hiperpotasemia. Las sustancias que desplazan de manera aguda al potasio hacia las células, como el bicarbonato de sodio, glucosa o insulina, se pueden administrar también. El potasio se puede eliminar del cuerpo con rapidez mediante el uso de diuréticos (asa), si la función renal es adecuada, o enemas de poliestireno sulfonato sódico (Kayexalato), que se une con el K secretado en el colon. La hemodiálisis se

puede usar si fallan otras medidas.⁸ Los pacientes tratados con estos agentes deben ser vigilados con detenimiento para evitar hipopotasemia cuando el K se mueve de nuevo hacia las células o se elimina del cuerpo.

Recolección de muestras

La recolección y manejo apropiados de muestras para análisis de K es extremadamente importante porque hay muchas causas de hiperpotasemia artefactual. Primero, el proceso de coagulación libera K de las plaquetas, así que la concentración sérica de K puede ser 0.1 a 0.5 mmol/L mayor que las concentraciones plasmáticas de K.² Si se eleva la cuenta de plaquetas del paciente (trombocitosis), se podría elevar más la concentración de potasio sérico. Segundo, si se deja un torniquete en el brazo por mucho tiempo durante la recolección de sangre o si el paciente cierra con fuerza sus puños de manera excesiva o ejercita sus antebrazos antes de la venopunción, es posible que las células liberen potasio en el plasma. La primera situación se puede evitar si se usa un tubo heparinizado para evitar la coagulación de la muestra, y la segunda si se pone cuidado en la extracción de la sangre. Tercero, debido a que almacenar sangre en hielo promueve la liberación de potasio de las células,¹⁰ las muestras de sangre completa para determinaciones de potasio se deben almacenar a temperatura ambiente (nunca en hielo) y analizar de inmediato o centrifugar para eliminar las células. Cuarto, si ocurre hemólisis después de extraer la sangre, la concentración de potasio se podría elevar de manera falsa, la causa más común de hiperpotasemia artefactual.

Determinación de potasio

Muestra. El suero, plasma y orina pueden ser aceptables para análisis. La hemólisis se debe evitar debido al alto contenido de K de los eritrocitos. La heparina es el anticoagulante de elección. Mientras que el suero y el plasma dan por lo general concentraciones de potasio similares, los intervalos de referencia del suero tienden a ser un poco más altos. Las cuentas de plaquetas significativamente altas podrían dar como resultado la liberación de potasio durante la coagulación a partir de la rotura de estas células, que causa hiperpotasemia falsa. En este caso, se prefiere plasma. Las muestras de sangre completa se pueden usar con algunos analizadores. Consulte el manual de operación del instrumento para aceptabilidad. Las muestras de orina se deben colectar en un período de 24 h para eliminar la influencia de variación diurna.

Métodos. Como con el sodio, el método actual de elección es el ESI. Para mediciones con ESI, se emplea una membrana de valinomicina para enlazar K⁺ de manera selectiva, lo cual causa un cambio de impedancia que se puede correlacionar con la concentración de K⁺. La disolución de electrolito interno está constituida por KCl.

Intervalos de referencia³

Véase el cuadro 13-9.

Cloruro

El cloruro (Cl⁻) es el principal anión extracelular. Su función precisa en el cuerpo no está bien entendida; sin embargo,

CUADRO 13-9. INTERVALOS DE REFERENCIA PARA POTASIO

Plasma, suero	3.4 a 5.0 mmol/L
Orina (24 h)	25 a 125 mmol/día

interviene en mantener la osmolalidad, el volumen sanguíneo y la neutralidad eléctrica. En la mayor parte de los procesos, los iones cloruro se desvían secundariamente a un movimiento de iones sodio o bicarbonato.

El ion cloruro ingerido en la dieta se absorbe casi por completo en el tubo digestivo. Los iones cloruro se filtran por el glomérulo y se reabsorben en forma pasiva, junto con el sodio, por los túbulos proximales. El exceso de cloruro se excreta en la orina y el sudor. La sudación excesiva estimula la secreción de aldosterona, que actúa en las glándulas sudoríparas para conservar el sodio y el cloruro.

El cloruro mantiene la neutralidad eléctrica en dos formas. Primero, el sodio es reabsorbido junto con el Cl^- en los túbulos proximales. En efecto, el Cl^- actúa como el componente que limita la velocidad, en cuanto que la reabsorción de Na^+ está limitada por la cantidad de Cl^- disponible. La electroneutralidad también se mantiene por cloruro a través del *desplazamiento de cloruro*. En este proceso, el dióxido de carbono (CO_2) generado por metabolismo celular dentro del tejido se difunde hacia el plasma y los glóbulos rojos. En los eritrocitos, el CO_2 forma ácido carbónico (H_2CO_3), que se divide en H^+ y HCO_3^- (bicarbonato). La desoxihemoglobina amortigua H^+ , mientras que el HCO_3^- se difunde en el plasma y el Cl^- se difunde en los eritrocitos para mantener el equilibrio eléctrico de la célula (fig. 13-4).

Aplicaciones clínicas

Los trastornos por cloruro son con frecuencia resultado de las mismas causas que alteran las concentraciones de Na porque el Cl sigue de forma pasiva al Na. Hay pocas excepciones. La *hipercloremia* puede ocurrir también cuando hay una pérdida excesiva de ion bicarbonato como resultado de pérdidas GI, ATR o acidosis metabólica. La *hipocloremia* puede ocurrir también con pérdida excesiva de cloruro de vómito prolongado, cetocacidosis diabética, deficiencia de aldosterona o enfermedades renales con pérdida de sal como la pielonefritis. Asimismo, se puede encontrar una concentración sérica baja de cloruro en condiciones relacionadas con concentraciones altas de bicarbonato sérico, como acidosis respiratoria compensada o alcalosis metabólica.

Determinación de cloruro

Muestra. Se puede usar suero o plasma, con heparina de litio como el anticoagulante de elección. La hemólisis no causa un cambio importante en los valores séricos o plasmáticos como resultado de las concentraciones reducidas de cloruro. Sin embargo, con hemólisis marcada, las concentraciones pueden ser reducidas como resultado de un efecto dilucional.

Las muestras de sangre completa se pueden usar con algunos analizadores. Consulte el manual de operación del instrumento para aceptabilidad. La muestra de elección en el análisis de cloruro en la orina es la recolección de 24 h debido a la gran variación diurna. El sudor también es adecuado para análisis. La recolección y análisis de sudor se analizan en el capítulo 27, *Análisis de los líquidos corporales*.

Métodos. Hay varias metodologías disponibles para medir cloruro, entre otros ESI, titulación amperométrica-coulombimétrica, titulación mercurimétrica y colorimetría.

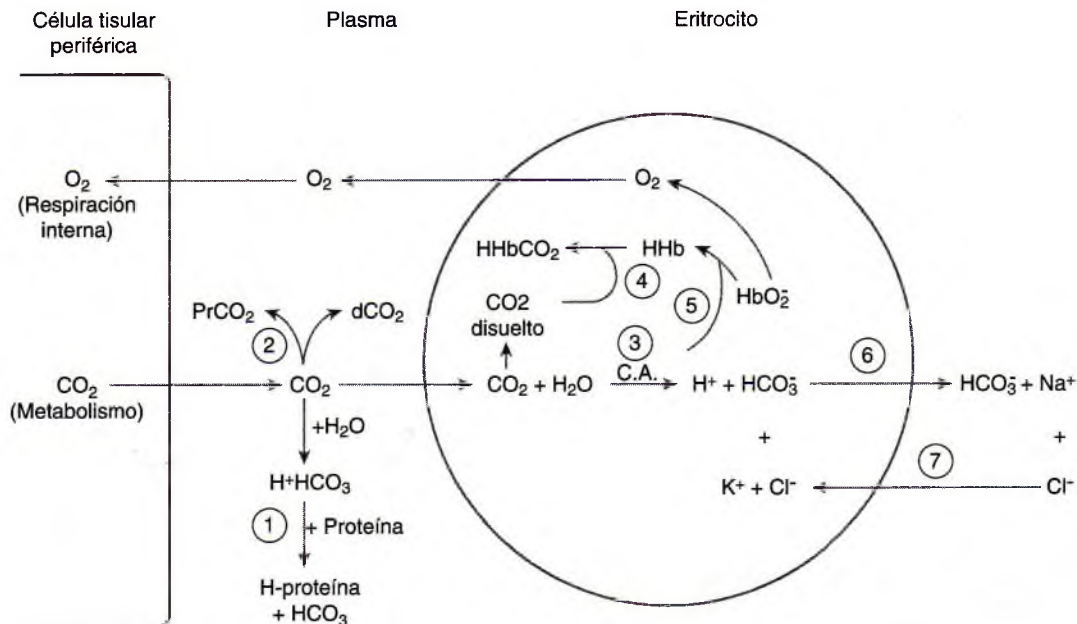


FIGURA 13-4. Mecanismo de desplazamiento de cloruro. Véase el texto para los detalles. (Reimpresa con autorización de Burtis, CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2a ed. Filadelfia: WB Saunders, 1994.)

El más utilizado es el ESI. Para medición, se emplea una membrana de intercambio iónico para enlazar los iones Cl^- de manera selectiva.

La titulación amperométrica-culombimétrica es un método en el que se utiliza la generación coulombimétrica de iones plata (Ag^+), que se combinan con Cl^- para cuantificar la concentración del ion Cl^- .



Cuando los iones Cl^- del paciente se enlazan con los iones Ag^+ , el exceso de iones Ag^+ libres se emplea para indicar el punto final. Cuando se acumulan los iones Ag^+ , se desconectan el generador coulombimétrico y el temporizador. El tiempo transcurrido se emplea para calcular la concentración de iones Cl^- en la muestra. El cloridómetro de Cotlove usa este principio en el análisis de cloruro.

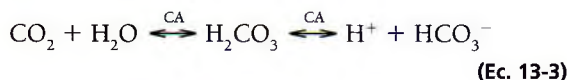
Intervalos de referencia³

Véase el cuadro 13-10.

Bicarbonato

El bicarbonato es el segundo anión más abundante en el LEC. El CO_2 comprende el ion bicarbonato (HCO_3^-), ácido carbónico (H_2CO_3) y CO_2 disuelto, donde el bicarbonato constituye más de 90% del CO_2 total a pH fisiológico. Debido a que el HCO_3^- constituye la fracción más grande del CO_2 total, la medición de CO_2 total es indicativa de medición de HCO_3^- .

El bicarbonato es el componente principal del sistema amortiguador en la sangre. La anhidrasa carbónica en los eritrocitos convierte el CO_2 y H_2O en ácido carbónico, que se disocia en H^+ y HCO_3^- .



CA, anhidrasa carbónica

El bicarbonato se difunde fuera de la célula en intercambio por cloruro para mantener la neutralidad de carga iónica dentro de la célula (desplazamiento de cloruro; véase la fig. 13-4). Este proceso convierte al CO_2 potencialmente tóxico en el plasma a una disolución amortiguadora efectiva: bicarbonato. El bicarbonato amortigua el exceso de ion hidrógeno al combinarse con ácido, y se disocia finalmente en H_2O y CO_2 en los pulmones donde se elimina el CO_2 ácido.

Regulación

Casi todo el ion bicarbonato en los riñones (85%) es reabsorbido por los túbulos proximales; los distales reabsorben un 15%. Debido a que los túbulos sólo son ligeramente per-

meables al bicarbonato, suele reabsorberse como CO_2 . Esto sucede cuando el bicarbonato, después de la filtración en los túbulos, se combina con iones hidrógeno para formar ácido carbónico, que después se disocia en H_2O y CO_2 . El CO_2 se difunde sin dificultad de nuevo hacia el LEC. Normalmente, casi todos los iones bicarbonato son reabsorbidos desde los túbulos, con poca pérdida en la orina. Cuando los iones bicarbonato se filtran en exceso de iones hidrógeno disponibles, casi todo el exceso de HCO_3^- fluye hacia la orina.

En la alcalosis, con un incremento relativo de ion bicarbonato en comparado con CO_2 , los riñones incrementan la excreción de HCO_3^- en la orina, que lleva un catión como el sodio. Esta pérdida de HCO_3^- del cuerpo ayuda a corregir el pH.

Entre las respuestas del cuerpo a la acidosis está una excreción incrementada de H^+ en la orina. Además, la reabsorción de HCO_3^- es casi completa, con 90% del bicarbonato filtrado reabsorbido en el túbulo proximal y el resto en el túbulo distal.¹

Aplicaciones clínicas

Los desequilibrios acidobase causan cambios en las concentraciones de bicarbonato y CO_2 . Es posible que ocurra una disminución de la concentración de bicarbonato por la acidosis metabólica cuando el bicarbonato se combina con H^+ para producir CO_2 , que es exhalado por los pulmones. La respuesta característica a la acidosis metabólica es la compensación por hiperventilación, que disminuye la PCO_2 . Las concentraciones altas de CO_2 ocurren en la alcalosis metabólica cuando se retiene bicarbonato, con frecuencia con PCO_2 incrementada como resultado de la compensación por hipoventilación. Las causas representativas de alcalosis metabólica son vómito intenso, hipopotasemia e ingestión excesiva de álcali.

Determinación de dióxido de carbono

Muestra. En este capítulo se trata de manera específica las determinaciones de suero o plasma venoso. Para una descripción de las mediciones de PCO_2 de sangre arterial y completa, refiérase al capítulo 14, *Gases en la sangre, pH y sistemas amortiguadores*.

El suero o el plasma con heparina de litio son adecuados para análisis. Aunque las muestras deben ser anaeróbicas para lograr la mayor exactitud, muchos analizadores actuales (excepto los analizadores de gases sanguíneos) no permiten el manejo de muestras anaeróbicas. En muchos casos, la muestra se tapa hasta que el suero o el plasma se separan y la muestra se analiza de inmediato. Si la muestra se deja destapada antes del análisis, escapa el CO_2 . Las concentraciones pueden disminuir en 6 mmol/L por hora.²

Las mediciones de dióxido de carbono se pueden obtener de varias formas; sin embargo, la porción real del CO_2 total que se mide puede variar con el método empleado. Dos métodos comunes son el ESI y un método enzimático.

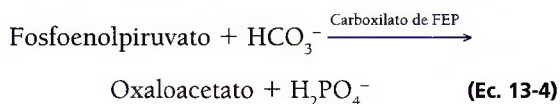
Un tipo de ESI para medir CO_2 total emplea un reactivo ácido para convertir todas las formas de CO_2 en gas CO_2 y se mide mediante un electrodo de PCO_2 (capítulo 14, *Gases en la sangre, pH y sistemas amortiguadores*).

El método enzimático alcaliniza la muestra para convertir las formas de CO_2 en HCO_3^- . El HCO_3^- se emplea para

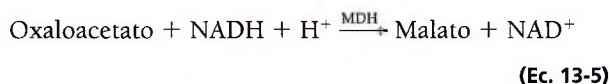
CUADRO 13-10. INTERVALOS DE REFERENCIA PARA CLORURO

Plasma, suero	98 a 107 mmol/L
Orina (24 h)	110 a 250 mmol/día, varía con la dieta

carboxilar fosfoenolpiruvato (FEP) en presencia de carboxilato de FEP, que cataliza la formación de oxaloacetato.



Éste se acopla a la siguiente reacción, en la que se consume NADH como resultado de la acción de la deshidrogenasa de malato (MDH).



La tasa de cambio en la absorbancia de NADH es proporcional a la concentración de HCO_3^- .

Intervalos de referencia³

Dióxido de carbono, venoso 22 a 29 mmol/L (plasma, suero).

Magnesio

Fisiología del magnesio

El magnesio (Mg) es el cuarto catión más abundante en el cuerpo y el segundo ion intracelular más abundante. El cuerpo humano promedio (70 kg) contiene 1 mol (24 g) de magnesio. Alrededor de 53% de magnesio en el cuerpo se encuentra en los huesos, 46% en el músculo y otros órganos y tejido suave, y menos de 1% está presente en el suero y los eritrocitos.¹¹ Del magnesio presente en el suero, cerca de un tercio se enlaza a proteína, sobre todo albúmina. De los dos tercios restantes, 61% existe en el estado libre o ionizado, y cerca de 5% está compuesto de otros iones, como fosfato o citrato. Similar al calcio, es el ion libre el que es fisiológicamente activo en el cuerpo.¹²

La función del magnesio en el cuerpo es amplia. Es un cofactor esencial de más de 300 enzimas, incluso las que son importantes en la glucólisis, el transporte intracelular de iones, la transmisión neuromuscular, la síntesis de carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, y la liberación y respuestas a ciertas hormonas.

La utilidad clínica de las concentraciones de magnesio sérico se ha incrementado en gran medida en los pasados 10 años a medida que se ha descubierto más información acerca del analito. Los hallazgos más significativos son la relación entre las concentraciones anormales de magnesio sérico y los trastornos cardiovasculares, metabólicos y neuromusculares. Aunque es posible que las concentraciones de suero no reflejen los depósitos corporales totales de Mg, las concentraciones séricas son útiles para determinar cambios agudos en el ion.

Regulación

Las fuentes ricas en Mg en la dieta son nueces crudas, cereal y agua potable dura; otras fuentes son verduras, carnes, pescado y fruta.¹¹ Los alimentos procesados, una parte cada vez mayor de la dieta estadounidense promedio, tiene bajas concentraciones de magnesio que pueden

causar una ingestión inadecuada. Esto a su vez puede incrementar la probabilidad de deficiencia de magnesio. El intestino delgado puede absorber 20 a 65% del magnesio dietético, lo cual depende de la necesidad y la ingestión.

La regulación global de magnesio corporal es controlada en gran medida por el riñón, que puede reabsorber magnesio en estados de deficiencia o excretar con facilidad magnesio en exceso en estados de sobrecarga. Del Mg enlazado a proteína que es filtrado por el glomérulo, 25 a 30% es reabsorbido por el túbulo convoluto proximal (TCP), a diferencia del Na, del cual 60 a 75% se reabsorbe en el TCP. El asa de Henle es el sitio regulador renal principal, donde 50 a 60% del Mg filtrado se reabsorbe en la extremidad ascendente. Además, 2 a 5% se reabsorbe en el túbulo convoluto distal.¹³ El umbral renal para el magnesio es casi 0.60 a 0.85 mmol/L (~1.46 a 2.07 mg/dl). Debido a que esto es cercano a la concentración sérica normal, los riñones excretan con rapidez el ligero exceso de magnesio en el suero. Normalmente, sólo cerca de 6% del magnesio filtrado se excreta en la orina por día.¹¹

La regulación de magnesio al parecer se relaciona con la de calcio y sodio. La hormona paratiroidea (PTH) incrementa la reabsorción renal de magnesio e incrementa la absorción de magnesio en el intestino. Sin embargo, los cambios en el calcio ionizado tienen un efecto mucho mayor en la secreción de PTH. La aldosterona y la tiroxina al parecer tienen el efecto opuesto de PTH en el riñón, así que se incrementa la excreción renal de magnesio.¹²

Aplicaciones clínicas

Hipomagnesemia. La *hipomagnesemia* se observa con frecuencia en pacientes hospitalizados en las unidades de cuidado intensivo o en los que reciben tratamiento diurético o digitalítico. Es más probable que estos pacientes tengan una disminución tisular global de magnesio como resultado de enfermedad grave o pérdida que origina concentraciones séricas bajas. La hipomagnesemia es rara en pacientes no hospitalizados.¹²

Hay muchas causas de hipomagnesemia; sin embargo, se puede agrupar en categorías generales (cuadro 13-11). La ingestión reducida es la causa menos probable de deficiencias graves en Estados Unidos. Una dieta deficiente de magnesio como resultado de inanición, alcoholismo crónico o tratamiento IV con deficiencia de Mg puede causar pérdida del ion.

Varios trastornos GI pueden causar absorción reducida por el intestino, lo cual puede dar como resultado una pérdida excesiva de magnesio vía heces. Los síndromes de malabsorción, resección intestinal o cirugía de derivación; succión nasogástrica; pancreatitis, y vómito prolongado, diarrea o uso de laxantes puede originar deficiencia de magnesio. Se sabe de hipomagnesemia neonatal como resultado de varios procedimientos quirúrgicos. También se tienen informes de deficiencia primaria en infantes como resultado de malabsorción selectiva del ion.¹² Se ha descrito una hipomagnesemia crónica con hipocalcemia secundaria (trastorno recesivo autosómico), los estudios moleculares han revelado un defecto específico de proteína de transporte en el intestino.¹⁴

CUADRO 13-11. CAUSAS DE HIPOMAGNESEMIA

Ingestión reducida

Dieta deficiente/inanición

Tratamiento IV prolongado con deficiencia de magnesio

Alcoholismo crónico

Absorción reducida

Síndrome de malabsorción

Secreción quirúrgica de intestino delgado

Succión nasogástrica

Pancreatitis

Vómito

Diarrea

Abuso de laxantes

Neonatal

Primaria

Congénita

Excreción incrementada, renal

Trastorno tubular

Glomerulonefritis

Pielonefritis

Excreción incrementada, endocrina

Hiperparatiroidismo

Hiperaldosteronismo

Hipertiroidismo

Hipercalcemia

Cetoacidosis diabética

Excreción incrementada, inducida por fármacos

Diuréticos

Antibióticos

Ciclosporina

Digitálicos

Diversas

Lactancia en exceso

Embarazo

Adaptada de Polancic JE. Magnesium: metabolism, clinical importance and analysis. Clin Lab Sci 1991;4(2).

La pérdida de Mg debida a excreción incrementada por vía urinaria puede ocurrir como resultado de varios trastornos renales y endocrinos, o los efectos de ciertos fármacos en los riñones. Los trastornos tubulares renales y otros trastornos renales selectos pueden dar como resultado cantidades excesivas de magnesio que se pierde por la orina debido a reabsorción tubular reducida.

Varios trastornos endocrinos causan pérdida de magnesio. El hiperparatiroidismo y la hipercalcemia pueden causar excreción renal incrementada de magnesio como resultado de exceso de iones calcio. Las concentraciones excesivas de sodio sérico causadas por hiperaldosteronismo pueden causar también excreción renal incrementada de magnesio. Una seudohipomagnesemia también puede ser el resultado de hiperaldosteronismo causado por reabsorción incrementada de agua. El hiperaldosteronismo podría dar como resultado una mayor excreción renal de magnesio y puede

causar también un desplazamiento intracelular del ion. En personas con diabetes, la pérdida urinaria excesiva de Mg se relaciona con glucosuria. La hipomagnesemia puede agravar las complicaciones neuromusculares y vasculares halladas en esta enfermedad. Algunos estudios han mostrado una relación entre la deficiencia de Mg y la resistencia a la insulina; sin embargo, se considera que el Mg no tiene que ver en la fisiopatología de la diabetes mellitus. La *American Diabetes Association* ha emitido una declaración en relación con la ingestión dietética de magnesio y la medición de Mg sérico en pacientes con diabetes.¹⁵

Varios fármacos, entre otros los diuréticos, gentamicina, cisplatino y ciclosporina, incrementan la pérdida renal de magnesio y con frecuencia dan como resultado hipomagnesemia. Los diuréticos de asa, como furosemida, son especialmente efectivos en incrementar la pérdida renal de Mg. Los diuréticos de tiazida requieren un período de uso más prolongado para causar hipomagnesemia. El cisplatino tiene efecto nefrotóxico que inhibe la capacidad del túbulo renal para conservar magnesio. La ciclosporina, un inmunosupresor, inhibe mucho la reabsorción tubular renal de magnesio y tiene muchos efectos adversos, incluso nefrotoxicidad, hipertensión, hepatotoxicidad y síntomas neurológicos como convulsiones y temblores. Los glucósidos cardíacos, como digoxina y digital, pueden interferir con la reabsorción de Mg. La hipomagnesemia resultante es un hallazgo importante porque la concentración reducida de magnesio puede amplificar los síntomas de toxicidad por digitálicos.¹²

La lactancia excesiva ha sido relacionada con hipomagnesemia como resultado de uso incrementado y pérdida por la producción de leche. Se tienen informes de deficiencia leves en el embarazo, que puede causar un útero hiperexcitable, ansiedad e insomnio.

Síntomas de hipomagnesemia. Un paciente que es hipomagnesémico puede ser asintomático hasta que las concentraciones de suero caen por debajo de 0.5 mmol/L.¹² Puede ocurrir una diversidad de síntomas. Los más frecuentes son anomalías cardiovasculares, neuromusculares, psiquiátricas y metabólicas (cuadro 13-12). Los síntomas

CUADRO 13-12. SÍNTOMAS DE HIPOMAGNESEMIA

Cardiovascular	Psiquiátrico
Arritmia	Depresión
Hipertensión	Agitación
Toxicidad por digitálicos	Psicosis
Neuromuscular	Metabólico
Debilidad	Hipopotasemia
Calambres	Hipocalcemia
Ataxia	Hipofosfatemia
Temblor	Hiponatremia
Convulsiones	
Tetania	
Parálisis	
Coma	

Adaptada de Polancic JE. Magnesium: metabolism, clinical importance and analysis. Clin Lab Sci 1991;4(2).

cardiovasculares y neuromusculares resultan sobre todo del requisito de la enzima ATPasa para Mg. La pérdida de Mg origina concentraciones intracelulares de K reducidas debido a una bomba de NaK (ATPasa) defectuosa. Este cambio en el PMR celular causa mayor excitabilidad que puede dar lugar a arritmias cardíacas. Esta condición también puede ocasionar toxicidad por digitálicos.

La contracción muscular también requiere magnesio y ATPasa para captación normal de calcio después de la contracción. La estimulación celular normal del nervio y el músculo requiere magnesio para ayudar con la regulación de acetilcolina, un neurotransmisor potente. La hipomagnesemia puede causar diversos síntomas desde debilidad hasta temblores, tetania, parálisis o coma. El SNC también puede ser afectado, lo que daría como resultado trastornos psiquiátricos que van desde cambios sutiles hasta depresión o psicosis.

Los trastornos metabólicos se relacionan con hipomagnesemia. Los estudios han indicado que alrededor de 40% de los pacientes hospitalizados con hipopotasemia son hipomagnesémicos.¹³ Además, 20 a 30% de los pacientes con hiponatremia, hipocalcemia o hipofosfatemia son también hipomagnesémicos.¹³ La deficiencia de Mg puede dañar la liberación de PTH y la respuesta tisular objetivo, que da como resultado hipocalcemia. Por lo general, reabastecer cualquiera de estos iones no remedia el trastorno a menos que se provea tratamiento con magnesio. El tratamiento con Mg puede restaurar ambas concentraciones de iones al nivel normal; durante el tratamiento se debe vigilar las concentraciones de los iones.

Tratamiento de la hipomagnesemia. La forma preferida de tratamiento es por ingestión oral con lactato de Mg, óxido de Mg o cloruro de Mg o con un antiácido que contenga Mg. En pacientes muy enfermos, se administra por

vía parenteral una disolución de MgSO_4 . Antes de iniciar el tratamiento, se debe evaluar la función renal para evitar inducir hipermagnesemia durante el tratamiento.¹³

Hipermagnesemia. La *hipermagnesemia* se observa con menos frecuencia que la hipomagnesemia.¹² Las causas de concentraciones séricas altas de magnesio se resumen en el cuadro 13-13; la más común es la insuficiencia renal (TFG <30 ml/min). Las concentraciones más altas son por lo general resultado de los efectos combinados de función renal reducida e ingestión incrementada de medicaciones que contienen magnesio comúnmente prescritas, como antiácidos, enemas o catárticos. Los pacientes de asilos de ancianos tienen alto riesgo de que esto ocurra.¹²

CUADRO 13-13. CAUSAS DE HIPERMAGNESEMIA

Excreción reducida

Insuficiencia renal aguda o crónica
Hipotiroidismo
Hipoaldosteronismo
Hipopituitarismo (\downarrow GH)

Ingestión reducida

Antiácidos
Enemas
Catárticos
Terapéutica: eclampsia, arritmia cardíaca

Diversas

Deshidratación
Carcinoma óseo
Metástasis ósea

Adaptada de Polancic JE. Magnesium: metabolism, clinical importance and analysis. Clin Lab Sci 1991;4(2).

ESTUDIO DE CASO 13-2

Un varón de 60 años de edad ingresa al departamento de urgencias después de dos días de no sentirse muy bien. En los antecedentes se encontró un infarto de miocardio hace cinco años, cuando se le prescribió digoxina. Hace dos años, se le prescribió un diurético después de ataques periódicos de edema. Un electrocardiograma en el momento de la admisión indicó una arritmia cardíaca. Los resultados de laboratorio en la admisión se muestran en el cuadro 13-2.1 de estudio de caso.

Preguntas

1. Debido a que la concentración de digoxina está dentro del intervalo terapéutico, ¿cuál podría ser la causa de la arritmia?
2. ¿Cuál es la causa más probable para la hipomagnesemia?
3. ¿Cuál es la causa más probable para las concentraciones reducidas de potasio y calcio ionizado?
4. ¿Qué tipo de tratamiento sería útil?

CUADRO 13-2.1 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

Sangre venosa

Digoxina: 1.4 ng/ml, terapéutico 0.5 a 2.2 (1.8 nmol/L, terapéutico 0.6 a 2.8)

Na^+ : 137 mmol/L

K^+ : 2.5 mmol/L

Cl^- : 100 mmol/L

HCO_3^- : 25 mmol/L

Mg^{+2} : 0.4 mmol/L

$\text{Ion}/\text{Ca}^{2+}$ libre: 1.0 mmol/L

La hipermagnesemia ha sido relacionada con varios trastornos endocrinos. La tiroxina y la hormona del crecimiento causan una reducción en la reabsorción tubular de Mg, y una deficiencia de cualquier hormona puede causar una elevación moderada de Mg sérico. La insuficiencia suprarrenal puede causar un aumento leve como resultado de la excreción renal reducida de Mg.¹²

El MgSO_4 se puede usar en forma terapéutica con la preeclampsia, arritmia cardíaca o infarto de miocardio. El Mg es un vasodilatador, y puede disminuir la hiperactividad uterina en estados eclámpsicos e incrementar el flujo sanguíneo uterino. Este tratamiento puede dar lugar a hipermagnesemia materna, así como la hipermagnesemia neonatal debida al riñón inmaduro del recién nacido. Los infantes prematuros tienen mayor riesgo de desarrollar síntomas reales.¹² En los estudios se ha mostrado que la terapia IV con Mg en pacientes con infarto de miocardio puede reducir la mortalidad temprana.¹¹

La deshidratación puede causar pseudohipermagnesemia, que se puede corregir con rehidratación. Debido a la pérdida ósea incrementada, los aumentos leves de magnesio sérico ocurren en individuos con mieloma múltiple o metástasis ósea.

Síntomas de hipermagnesemia. Por lo general, los síntomas de hipermagnesemia sólo ocurren hasta que la concentración sérica excede 1.5 mmol/L.¹² Los síntomas más frecuentes tienen que ver con anomalías cardiovasculares, dermatológicas, GI, neurológicas, neuromusculares, metabólicas y hemostáticas (cuadro 13-4). Los síntomas leves a moderados, como hipotensión, bradicardia, enrojecimiento de la piel, mayor temperatura cutánea, náusea, vómito y letargo pueden ocurrir cuando las concentraciones séricas son 1.5 a 2.5 mmol/L.¹² Los síntomas críticos, como cambios de electrocardiograma, bloqueo cardíaco, asistolia, sedación, coma, depresión o paro respiratorio y parálisis, pueden ocurrir cuando las concentraciones séricas alcanzan 5.0 mmol/L.¹²

CUADRO 13-14. SÍNTOMAS DE HIPERMAGNESEMIA

Cardiovascular	Neuromuscular
Hipotensión	Reflejos disminuidos
Bradicardia	Disartria
Bloqueo cardíaco	Depresión respiratoria
	Parálisis
Dermatológico	Metabólico
Enrojecimiento	Hipocalcemia
Piel caliente	
GI	Hemostático
Náusea	Generación reducida de trombina
Vómito	Adhesión reducida de plaquetas
Neurológica	
Letargo	
Coma	

Las concentraciones elevadas de Mg pueden inhibir la liberación de PTH y la respuesta tisular objetivo. Esto puede conducir a hipocalcemia e hipercaluria.¹² La homeostasis normal es un proceso dependiente del calcio que puede ser inhibido como resultado de competencia entre las concentraciones incrementadas de iones magnesio y calcio. La generación de trombina y la adhesión de plaquetas son dos procesos en los que puede haber interferencia.¹²

Tratamiento de hipermagnesemia. El tratamiento de exceso de Mg relacionado con la ingestión incrementada es discontinuar la fuente de Mg. La hipermagnesemia asintomática grave requiere tratamiento de apoyo inmediato para anomalías cardíacas, neuromusculares, respiratorias o neurológicas. Los pacientes con función renal normal pueden ser tratados con un diurético y líquido IV.

Determinación de magnesio

Muestra. El suero no hemolizado o plasma con heparina de litio puede ser analizado. Debido a que la concentración de Mg^{2+} dentro de los eritrocitos es 10 veces mayor que en el LEC, se debe evitar la hemólisis, y el suero se debe separar de las células tan pronto como sea posible. Los anticoagulantes oxalato, citrato y ácido etilendiaminotetracético (EDTA) son inaceptables porque se unirán con magnesio. Una orina de 24 horas se prefiere para análisis debido a una variación diurna en la excreción. La orina se debe acidificar con HCl para evitar precipitación.

Métodos. Los tres métodos más comunes para medir Mg sérico total son colorimétricos: calmagita, colorante de formazén y azul de metiltimol. En el método de calmagita, el Mg se une con calmagita para formar un complejo violeta rojizo que se puede leer a 532 nm. En el método de colorante de formazén, el Mg se enlaza con el colorante para formar un complejo coloreado que se puede leer a 660 nm. En el método de azul de timol, el Mg se une con el cromógeno para formar un complejo coloreado. En la mayor parte de los métodos se emplea un resguardo de calcio para prohibir la interferencia de este catión divalente. El método de referencia para medir magnesio es la EAA.

Aunque la medición de concentraciones de magnesio total en el suero aún es la prueba diagnóstica usual para detección de anomalías de magnesio, tiene sus limitaciones. Primero, debido a que alrededor de 25% de magnesio está enlazado a proteína, es posible que el magnesio no refleje el magnesio libre fisiológicamente activo. Segundo, debido a que el magnesio es sobre todo un ion intracelular, las concentraciones de suero no necesariamente reflejarán el estado del magnesio intracelular. Aun cuando el magnesio tisular y celular se reduzca en 20%, las concentraciones de magnesio pueden permanecer normales.

Límites de referencia³

Véase el cuadro 13-5.

CUADRO 13-15. INTERVALO DE REFERENCIA PARA MAGNESIO

Suero, plasma	0.63 a 1.0 mmol/L (1.2 a 2.1 meq/L)
---------------	-------------------------------------

ESTUDIO DE CASO 13-3

Un residente de una casa para ancianos de 84 años de edad es visto en el departamento de urgencias con los siguientes síntomas: náusea, vómito, respiración reducida, hipotensión y baja frecuencia de pulso (46). En el examen físico se encontró que la piel estaba caliente al tacto y enrojecida. Los datos de laboratorio en la admisión se muestran en el cuadro 13-3.1 de estudio de caso.

Preguntas

1. ¿Cuál es la causa más probable para los síntomas del paciente?
2. ¿Cuál es la causa probable para la hipermagnesemia?
3. ¿Cuál sería la causa para la hipocalcemia?

**CUADRO 13-3.1 DE ESTUDIO DE CASO.
RESULTADOS DE LABORATORIO**

		RESULTADO	INTERVALO DE REFERENCIA
Suero	Proteína total	5.6 g/dl	6.0–8.0 g/dl
	Albúmina	3.0 g/dl	3.5–5.0 g/dl
	Calcio total	8.2 g/dl	8.6–10.0 g/dl
	NUS	45 mg/dl	5–20 mg/dl
	Creatinina	2.3 mg/dl	0.7–1.5 mg/dl
Plasma	Magnesio	4.0 mmol/L	0.63–1.0 mmol/L
	Na ⁺	129 mmol/L	136–145 mmol/L
	K ⁺	5.3 mmol/L	3.4–5.0 mmol/L
	Cl ⁻	96 mmol/L	
	HCO ₃ ⁻	16 mmol/L	

Calcio

Fisiología del calcio

En 1883, Ringer mostró que el calcio era esencial para la contracción miocárdica.¹⁶ McLean y Hastings, mientras intentaban estudiar cómo las formas enlazada y libre del calcio afectaban la contracción del corazón de una rana, mostraron que la concentración de calcio ionizado era proporcional a la amplitud de la contracción del corazón de la rana, mientras que el calcio enlazado a proteína no tenía efecto.¹⁷ De esta observación, elaboraron el primer ensayo para calcio ionizado con corazones de rana aislados. Aunque el método tenía mala precisión según los estándares actuales, los investigadores pudieron mostrar que el calcio ionizado sanguíneo estaba regulado de manera estrecha y tenía una concentración media en humanos de casi 1.18 mmol/L. Debido a que la concentración baja de calcio ionizado daña la función del miocardio, es importante mantener el calcio ionizado a una concentración normal cercana durante la intervención quirúrgica y en pacientes con enfermedad crítica. Las concentraciones bajas de calcio ionizado en la sangre causan irritabilidad neuromuscular, que se puede volver clínicamente evidente como espasmos musculares irregulares, conocidos como *tetania*.

Regulación

Se sabe que tres hormonas, PTH, vitamina D y calcitonina regulan el calcio sérico al alterar su secreción en respuesta a cambios en el calcio ionizado. Las acciones de estas hormonas se muestran en la figura 13-5.

La secreción de PTH en la sangre es estimulada por una disminución de calcio ionizado y, por el contrario, la secreción de PTH se detiene si se incrementa el calcio ionizado. La PTH ejerce tres efectos principales en los huesos y riñones. En el hueso, la PTH activa un proceso conocido

como *resorción ósea*, en la que los osteoclastos activados descomponen el hueso y posteriormente liberan calcio en el LEC. En los riñones, la PTH conserva calcio al incrementar la resorción tubular de iones calcio. La PTH estimula también la producción renal de vitamina D activa.

La vitamina D₃, un colecalfiferol, se obtiene de la dieta o exposición de la piel a la luz solar. La vitamina D₃ se convierte después en el hígado a 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D₃), todavía una forma activa de vitamina D. En el riñón, el 25-OH-D₃ se hidroxila de manera específica para formar 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25-[OH]₂-D₃), la forma biológica activa. Esta forma activa de vitamina D incrementa la absorción de calcio en el intestino y mejora el efecto de la PTH en la resorción ósea.

La calcitonina, que se origina en las células medulares de la glándula tiroides, es secretada cuando se incrementa la concentración de calcio en la sangre. La calcitonina ejerce su efecto de disminuir el calcio al inhibir las acciones de la PTH y la vitamina D. Aunque en apariencia la calcitonina no se secreta durante la regulación normal de la concentración de calcio ionizado en la sangre, es secretada en respuesta a estímulo hipercalcémico.

Distribución

Cerca de 99% del calcio en el cuerpo es parte del hueso. El 1% restante está más en la sangre y otro LEC. Hay poco en el citosol de la mayor parte de las células. De hecho, la concentración de calcio ionizado en la sangre es 5000 a 10000 veces mayor que en el citosol de células de músculo cardíaco o liso. El mantenimiento de ese gran gradiente es vital para mantener el flujo esencial rápido hacia dentro de iones calcio.

El calcio en la sangre se distribuye entre varias formas. Cerca de 45% circula como iones calcio libres (denominado calcio ionizado), 40% está enlazado a proteína, sobre

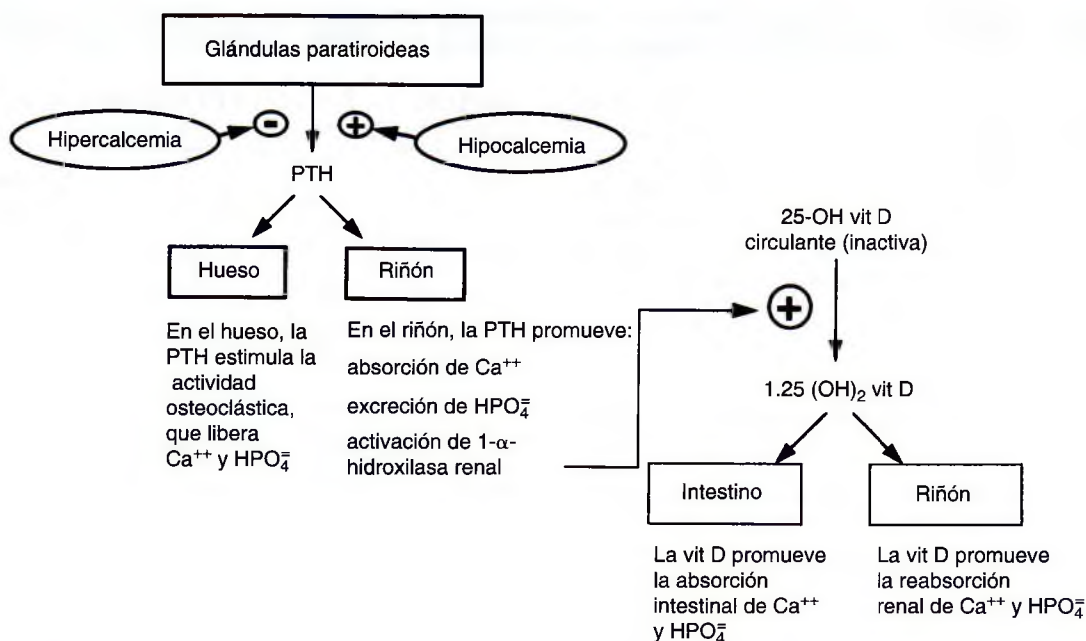


FIGURA 13-5. Respuesta hormonal a hipercalcemia e hipocalcemia. PTH, hormona paratiroidea; 25-OH vit D, 25-hidroxi vitamina D; 1,25(OH)₂ vit D, dihidroxi vitamina D.

todo albúmina y 15% está unido a aniones, como bicarbonato, citrato, fosfato y lactato. De manera clara, esta distribución puede cambiar en la enfermedad. Es notable que la concentración de citrato, bicarbonato, lactato, fosfato y albúmina pueda cambiar de forma drástica durante la intervención quirúrgica o atención crítica. Ésta es la razón de que el calcio ionizado no se pueda calcular de un modo fiable a partir de mediciones de calcio total, en particular en individuos con enfermedad aguda.

Aplicaciones clínicas

En los cuadros 13-16 y 13-17 se resumen las causas de trastornos hipocalcémicos e hipercalcémicos. Aunque ambas

mediciones de calcio total e ionizado están disponibles en muchos laboratorios, el calcio ionizado suele ser un marcador más sensible y específico para trastornos de calcio.

Hipocalcemia. Cuando no está presente la PTH, como en el *hipoparatiroidismo primario*, las concentraciones de calcio sérico no están reguladas de manera apropiada. El hueso tiende a depender de su reserva, y el riñón incrementa la excreción de calcio. Debido a que también se requiere PTH para el metabolismo normal de la vitamina D, la falta de efectos de vitamina D también conduce a una concentración baja de calcio. La aplasia de la glándula paratiroides, destrucción o eliminación son razones obvias para hipoparatiroidismo primario.

Debido a que la hipomagnesemia se ha vuelto frecuente en pacientes hospitalizados, la hipomagnesemia ha sido reconocida como una causa frecuente de *hipocalcemia*. La hipomagnesemia puede causar hipocalcemia por tres

CUADRO 13-16. CAUSAS DE HIPOCALCEMIA

Hipoparatiroidismo primario: aplasia glandular, destrucción o eliminación

Hipomagnesemia

Hipermagnesemia

Hipoalbuminemia (sólo calcio total, ionizado no afectado por): hepatopatía crónica, síndrome nefrótico, desnutrición

Pancreatitis aguda

Deficiencia de vitamina D

Enfermedad renal

Rabdomiólisis

Seudohipoparatiroidismo

CUADRO 13-17. CAUSAS DE HIPERCALCEMIA

Hiperparatiroidismo primario: adenoma o hiperplasia glandular

Hipertiroidismo

Hipocalciuria familiar benigna

Malignidad

Mieloma múltiple

Vitamina D incrementada

Diuréticos de tiazida

Inmovilización prolongada

mecanismos: a) inhibe la secreción glandular de PTH a través de la membrana de la glándula paratiroides, b) daña la acción de la PTH en su sitio receptor en el hueso y c) causa resistencia de vitamina D.¹¹ Las concentraciones altas de Mg pueden inhibir la liberación de PTH y la respuesta tisular blanco, que quizá conduce a hipocalcemia e hipercalcemia.¹²

Cuando el calcio total es el único resultado reportado, la hipocalcemia puede aparecer con hipoalbuminemia. Las causas comunes se relacionan con hepatopatía crónica, síndrome nefrótico y desnutrición. En general, por cada disminución de 1 g/dl en la albúmina sérica, hay una reducción de 0.2 mmol/L (0.8 mg/dl) en las concentraciones de calcio total.¹⁸

Cerca de la mitad de los pacientes con pancreatitis aguda manifiestan hipocalcemia. La causa más consistente al parecer es resultado del mayor enlace intestinal de calcio cuando se incrementa la actividad de la lipasa intestinal.¹⁸ La deficiencia de vitamina D y la malabsorción pueden causar absorción reducida, que conduce a menor producción de PTH o hiperparatiroidismo secundario.

Los pacientes con enfermedad renal causada por insuficiencia glomerular con frecuencia tienen concentraciones alteradas de calcio, fosfato, albúmina, magnesio e ion hidrógeno (pH). En la enfermedad renal crónica, el hiperparatiroidismo secundario se manifiesta cuando el cuerpo trata de compensar la hipocalcemia causada por hiperfosfatemia (el fosfato se enlaza y disminuye el calcio ionizado) o metabolismo alterado de vitamina D. Monitorear y controlar las concentraciones de calcio ionizado puede evitar problemas debidos a hipocalcemia, como osteodistrofia, gasto cardíaco inestable o tensión sanguínea, o problemas que surgen de hipercalcemia, como cálculos renales y otras calcificaciones. La rabdomiolisis, como con la lesión por aplastamiento y el daño muscular, puede causar hipocalcemia como resultado de la liberación incrementada de fosfato de las células, que se une con iones calcio.¹⁸

El *pseudohipoparatiroidismo* es un raro trastorno hereditario en el que la respuesta tisular blanco a PTH se reduce (resistencia de órgano terminal). La producción de PTH responde normalmente a pérdida de calcio; sin embargo, sin respuesta normal (producción reducida de cAMP [adenosina 3':5'-fosfato cíclico]), el calcio se pierde en la orina o permanece en la reserva ósea. Los pacientes suelen tener características físicas comunes, como estatura baja, obesidad, metacarpiños y metatarsianos cortos y calcificación anormal.

Intervención quirúrgica y cuidado intensivo. Debido a que las concentraciones apropiadas de calcio promueven buen gasto cardíaco y mantienen la presión arterial adecuada, el mantenimiento de una concentración normal de calcio ionizado en la sangre es benéfico para los pacientes ya sea en intervención quirúrgica o cuidado intensivo. El control de las concentraciones de calcio puede ser crítico en la cirugía a corazón abierto cuando se reactiva el corazón o durante el trasplante de hígado porque se administran grandes volúmenes de sangre citrada.

Debido a que estos pacientes pueden recibir grandes cantidades de citrato, bicarbonato, sales de calcio o líquidos, las mayores discrepancias entre las concentraciones

de calcio total y calcio ionizado se pueden observar durante operaciones quirúrgicas importantes. En consecuencia, las mediciones de calcio ionizado son las de mayor valor clínico.

La hipocalcemia suele ocurrir en pacientes con enfermedad crítica, es decir, aquellos con sepsis, quemaduras térmicas, insuficiencia renal o insuficiencia cardiopulmonar. Estos pacientes con frecuencia tienen anomalías de regulación acidobase y pérdidas de proteína y albúmina, que son más adecuadas para vigilar el estado del calcio mediante mediciones de calcio ionizado. La normalización de calcio ionizado puede tener efectos benéficos en el gasto cardíaco y la presión arterial.

Monitoreo neonatal. Por lo regular, las concentraciones de calcio ionizado sanguíneo en neonatos son altas en el nacimiento y luego disminuyen con rapidez en 10 a 20% después de uno a tres días. Después de alrededor de una semana, las concentraciones de calcio ionizado en el neonato se estabilizan a niveles un poco mayores que en los adultos.¹⁹

La concentración de calcio ionizado puede disminuir rápido en el período neonatal temprano porque el infante podría perder calcio con rapidez y no absorberlo con facilidad. Han sido sugeridas varias causas posibles; metabolismo anormal de PTH y vitamina D, hipercolesterolemia, hiperfosfatemia e hipomagnesemia.

Síntomas de hipocalcemia. La irritabilidad neuromuscular y las irregularidades cardíacas son los grupos principales de síntomas que ocurren con la hipocalcemia. Los síntomas neuromusculares son parestesia, calambres musculares, tetania y convulsiones. Los síntomas cardíacos pueden incluir arritmia o bloqueo cardíaco. Los síntomas por lo general ocurren con hipocalcemia grave, en la que las concentraciones de calcio total son menores que 1.88 mmol/L (7.5 mg/dL).¹⁸

Tratamiento de la hipocalcemia. Puede haber tratamiento oral o parenteral con calcio, lo cual depende de la gravedad de la disminución y la causa. La vitamina D se puede administrar a veces además del calcio oral para incrementar la absorción. Si la hipomagnesemia es un trastorno concurrente, se debe proveer también tratamiento con magnesio.

Hipercalcemia. El hiperparatiroidismo primario es la causa principal de *hipercalcemia*.¹⁸ El hiperparatiroidismo, o excreción de PTH en exceso, puede mostrar signos clínicos obvios o puede ser asintomático. La población de pacientes que con más frecuencia manifiestan hiperparatiroidismo son las mujeres ancianas.¹⁸ Aunque en casos graves las mediciones de calcio ionizado y total son altas, el calcio ionizado se eleva con más frecuencia en hiperparatiroidismo sutil o asintomático. En general, las mediciones de calcio ionizado se elevan en 90 a 95% de los casos de hiperparatiroidismo, mientras que el calcio total se eleva en 80 a 85% de los casos.

La segunda causa principal de hipercalcemia se relaciona con varios tipos de malignidad, con hipercalcemia a veces como el marcador bioquímico para enfermedad.¹⁸ Muchos tumores producen péptido relacionado con PTH (PTH-rP), que se une a receptores de PTH normales y causa incrementos en la concentración de calcio. Existen

ensayos para medir PTH-rP porque esta proteína anormal no se detecta mediante la mayor parte de ensayos de PTH.

Debido a la proximidad de la glándula paratiroides a la glándula tiroides, el hipertiroidismo puede causar a veces hiperparatiroidismo. Se sabe de hipocalciuria familiar benigna. Los diuréticos de tiacida incrementan la reabsorción de calcio, que conduce a hipercalcemia. La inmovilización prolongada puede causar mayor resorción ósea. La hipercalcemia relacionada con inmovilización se combina con insuficiencia renal.

Síntomas de hipercalcemia. Con frecuencia una hipercalcemia leve (2.62 a 3.00 mmol/L [10.5 a 12 mg/dl]) es asintomática.¹⁸ Las elevaciones de calcio de moderadas a graves incluyen síntomas neurológicos, GI y renales. Los síntomas neurológicos pueden incluir somnolencia o debilidad leve, depresión, náusea, vómito, anorexia y enfermedad de úlcera péptica. La hipercalcemia puede causar síntomas renales de nefrolitiasis y nefrocalcinosis. La hipercalcemia puede dar como resultado diabetes nefrogénica insípida, que causa poliuria que produce hipovolemia, que se agrava a hipercalcemia.¹⁸ La hipercalcemia puede causar síntomas de toxicidad por digitálicos.

Tratamiento de la hipercalcemia. El tratamiento de la hipercalcemia depende del nivel de hipercalcemia y la causa. Con frecuencia las personas con hiperparatiroidismo primario son asintomáticas. La deficiencia de estrógeno en mujeres ha sido relacionada con hiperparatiroidismo primario en mujeres ancianas.¹⁸ En muchos casos, la terapia de sustitución de estrógeno reduce las concentraciones de calcio. La paratiroidectomía puede ser necesaria en algunos pacientes hiperparatiroides. Los pacientes con hipercalcemia moderada a grave reciben tratamiento para reducir las concentraciones de calcio. Se estimulan la ingestión de sal y agua para incrementar la excreción de calcio y evitar la deshidratación, que puede complicar la hipercalcemia. Se deben discontinuar los diuréticos de tiacida. Los bisfosfanatos (un derivado del pirofosfato) son la clase principal de fármacos para reducir las concentraciones de calcio, que se logra por su acción de enlace con el hueso, lo cual evita la resorción ósea.¹⁸

Determinación de calcio

Muestra. La muestra preferida para las determinaciones de calcio total es el suero o el plasma con heparina de litio colectados sin estasis venosa. Debido a que los anticoagulantes como el EDTA u oxalato se unen fuertemente con el calcio e interfieren con la medición, su uso es inaceptable.

La recolección apropiada de muestras para mediciones de calcio ionizado requiere mucha atención. Puesto que la pérdida de CO₂ incrementará el pH, las muestras se deben recolectar en forma anaerobia. Aunque la sangre completa heparinizada es la muestra preferida, se puede usar el suero de tubos de recolección de sangre evacuados y sellados si se hacen con rapidez la coagulación y la centrifugación (<30 min) y a temperatura ambiente. No se deben usar productos de heparina líquidos. La mayor parte de los anticoagulantes de heparina (sodio, litio) se unen de

forma parcial con el calcio y reducen las concentraciones de calcio ionizado. Una concentración de heparina de 25 UI/ml, por ejemplo, reduce el calcio ionizado en casi 3%. Existen productos de heparina seca titulados con cantidades pequeñas de iones Ca o Zn o con pequeñas cantidades de heparina dispersa en un “cojincillo” inerte que en esencia elimina la interferencia por heparina.

Para análisis de calcio en la orina, se prefiere una recolección de orina programada. La orina se debe acidificar con HCl a 6 mol/L, con alrededor de 1 ml del ácido añadido por cada 100 ml de orina.

Métodos. En los dos métodos comunes para análisis de calcio total se emplea complexona de orto-cresoltaleína (CCF) o colorante arsenzo III para formar un complejo con calcio. Antes de la reacción de enlace a colorante, se libera calcio de su portador de proteína y se acompleja por acidificación de la muestra. En el método de CCF se emplea 8-hidroxiquinolina para evitar la interferencia del magnesio. La EAA es el método de referencia para calcio total, aunque rara vez se usa en el entorno clínico.

Los analizadores comerciales actuales que miden calcio ionizado o libre emplean ESI para esta medición. Estos sistemas pueden usar membranas impregnadas con moléculas especiales que de manera selectiva, pero irreversible, se unen con iones calcio. Cuando los iones calcio se unen con estas membranas, se desarrolla un potencial eléctrico a través de la membrana que es proporcional a la concentración de calcio ionizado. En la figura 13-6 se muestra un diagrama de esta clase de electrodo.

Intervalos de referencia³

Para el calcio total, el intervalo de referencia varía un poco con la edad. En general, las concentraciones de calcio son mayores en la adolescencia cuando el crecimiento óseo es más activo. Las concentraciones de calcio ionizado pueden cambiar con rapidez del día 1 al 3 de vida. Después de esto, se estabilizan a concentraciones relativamente altas, con una disminución gradual en la adolescencia; véase el cuadro 13-18.

Fosfato

Fisiología del fosfato

Encontrados en todas partes de las células vivientes, los compuestos de fosfato participan en muchos de los procesos bioquímicos más importantes. Los materiales ácido desoxirribonucleico (DNA) y ácido ribonucleico (RNA) son fosfodiésteres complejos. La mayor parte de las coenzimas son ésteres de ácido fosfórico o pirofosfórico. Los depósitos más importantes de energía bioquímica son ATP, fosfato de creatina y fosfoenolpiruvato. La deficiencia de fosfato puede conducir a agotamiento de ATP, que en última instancia es responsable de muchos de los síntomas clínicos observados en la hipofosfatemia.

Las alteraciones en la concentración de 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG) en los eritrocitos afectan la afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno, con un incremento que facilita la liberación de oxígeno en el tejido y una disminución que hace menos disponible el enlace de oxígeno a

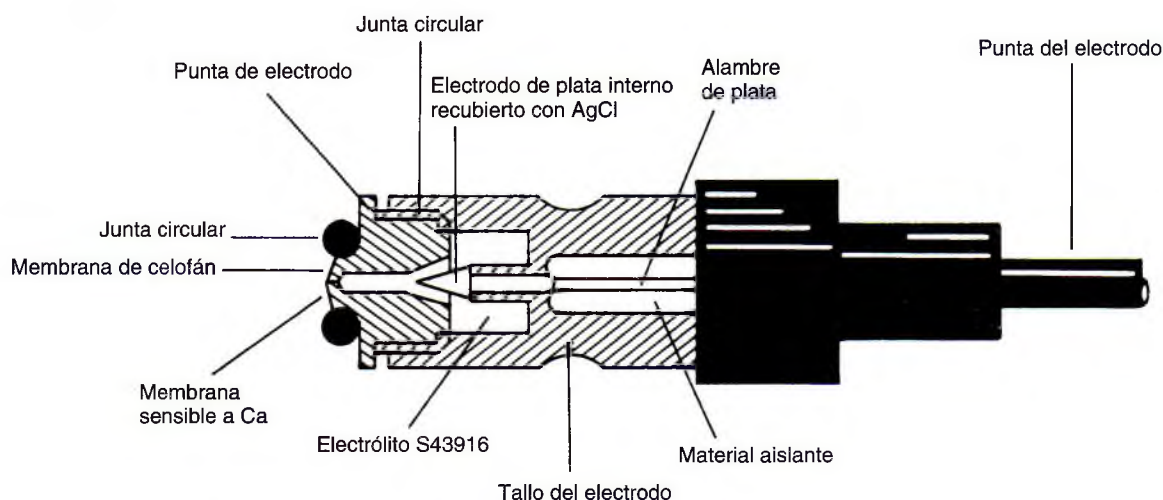


FIGURA 13-6. Diagrama del electrodo de calcio ionizado para el analizador de calcio ionizado, ACI. (Cortesía de Radiometer America, Westlake, OH.)

hemoglobina. Al afectar la formación de 2,3-BPG, la concentración de fosfato inorgánico afecta de modo indirecto la liberación de oxígeno de la hemoglobina.

Entender la causa de una concentración de fosfato alterada en la sangre suele ser difícil porque los cambios transcelulares de fosfato son una causa importante de hipofosfatemia en la sangre. Es decir, un desplazamiento incrementado de fosfato hacia las células puede agotar el fosfato en la sangre. Una vez que la célula capta el fosfato, permanece ahí para ser empleado en la síntesis de compuestos fosforilados. Cuando se metabolizan estos compuestos de fosfato, el fosfato inorgánico sale de la célula en forma lenta hacia la sangre, donde el riñón es el regulador principal.

Regulación

El fosfato en la sangre puede ser absorbido en el intestino a partir de fuentes dietéticas, ser liberado de las células hacia la sangre y el hueso puede perder fosfato. En indi-

viduos saludables, todos estos procesos son relativamente constantes y fácilmente regulados por la excreción o reabsorción renal de fosfato.

La modificación de cualquiera de estos procesos puede alterar las concentraciones de fosfato en la sangre; sin embargo, la pérdida de regulación por los riñones tendrá el efecto más profundo. Aunque otros factores, como vitamina D, calcitonina, hormona del crecimiento y estado acidobase, pueden afectar la regulación renal de fosfato, el factor más importante es la PTH, que en general disminuye las concentraciones de sangre al incrementar la excreción renal.

La vitamina D actúa para incrementar el fosfato en la sangre. La vitamina D incrementa la absorción de fosfato en el intestino y la reabsorción de fosfato en el riñón.

La hormona del crecimiento, que ayuda a regular el desarrollo del esqueleto, puede afectar las concentraciones circulantes de fosfato. En casos de secreción excesiva o administración de hormona del crecimiento, las concentraciones de fosfato en la sangre podrían aumentar como resultado de la excreción renal de fosfato.

Distribución

Aunque la concentración de todos los compuestos de fosfato en la sangre es de alrededor de 12 mg/dl (3.9 mmol/L), la mayor parte es fosfato orgánico y sólo cerca de 3 a 4 mg/dl es fosfato inorgánico. El fosfato es el anión intracelular predominante, con concentraciones intracelulares variantes, dependiendo del tipo de célula. Cerca de 80% del depósito corporal total de fosfato está contenido en el hueso, 20% en los tejidos blandos y menos de 1% es activo en el suero o plasma.

Aplicaciones clínicas

Hipofosfatemia. La hipofosfatemia ocurre en casi 1 a 5% de los pacientes hospitalizados.²⁰ La incidencia de hipofosfatemia se incrementa a 20 a 40% en pacientes con los siguientes trastornos: cetocacidosis diabética, enfermedad

CUADRO 13-18. INTERVALOS DE REFERENCIA PARA CALCIO

CALCIO TOTAL

(SUERO, PLASMA)

Niño	2.20 a 2.70 mmol/L (8.8 a 10.8 mg/dl)
Adulto	2.15 a 2.50 mmol/L (8.6 a 10.0 mg/dl)

CALCIO IONIZADO

(SUERO)

Neonato	1.20 a 1.48 mmol/L (4.8 a 5.9 mg/dl)
Niño	1.20 a 1.38 mmol/L (4.8 a 5.5 mg/dl)
Adult	1.16 a 1.32 mmol/L (4.6 a 5.3 mg/dl)
Orina (24 h)	2.50 a 7.50 mmol/día (100 a 300 mg/día), varía con la dieta

pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, malignidad, tratamiento a largo plazo con nutrición parenteral total (NPT), enfermedad inflamatoria intestinal, anorexia nerviosa y alcoholismo. La incidencia se incrementa a 60 a 80% en pacientes de la UCI con sepsis. Además, la hipofosfatemia también puede ser causada por mayor excreción renal, como con el hiperparatiroidismo, y la reabsorción intestinal reducida, como la deficiencia de vitamina D o el uso de antiácido.²⁰

Aunque la mayor parte de los casos son moderados y pocas veces causan problemas, la hipofosfatemia grave (< 1.0 g/dl o 0.3 mmol/L) requiere monitoreo y posible terapia de reemplazo. Hay una tasa de mortalidad de 30% en quienes padecen hipofosfatemia grave contra una tasa de 15% en quienes tienen hipofosfatemia normal o leve.²⁰

Hiperfosfatemia. Los pacientes con mayor riesgo de hiperfosfatemia son quienes manifiestan insuficiencia renal crónica o aguda.²⁰ Una ingestión mayor de fosfato o liberación cada vez mayor de fosfato celular también puede causar hiperfosfatemia. Debido a que es posible que aún no hayan desarrollado metabolismo maduro de PTH y vitamina D, los neonatos son en especial susceptibles a hiperfosfatemia causada por ingestión incrementada, como por leche de vaca o laxantes. La descomposición cada vez mayor de células puede a veces ocasionar hiperfosfatemia, como con infecciones graves, ejercicio intenso, trastornos neoplásicos o hemólisis intravascular. Debido a que los linfoblastos inmaduros tienen cerca de cuatro veces el contenido de fosfato de linfocitos maduros, los pacientes con leucemia linfoblástica son en especial susceptibles a hiperfosfatemia.

Determinación de fósforo inorgánico

Muestra. El suero o plasma con heparina de litio es aceptable para análisis. Los anticoagulantes oxalato, citrato o EDTA no se deben usar porque interfieren con el método analítico. Se debe evitar la hemólisis como resultado de las concentraciones mayores dentro de los eritrocitos. Las concentraciones de fosfato circulante están sujetas a ritmo circadiano, con las concentraciones más altas tarde por la mañana y las más bajas en la noche. El análisis de orina para fosfato requiere una recolección de muestra de 24 horas debido a las variaciones diurnas significativas.

Métodos. La mayor parte de los métodos actuales para determinación de fósforo tienen que ver con la formación de un complejo de fosfomolibdato de amonio. Este complejo incoloro se puede medir mediante absorción ultravioleta a 340 nm o se puede reducir para formar azul de molibdeno, un cromóforo azul estable, que se lee entre 600 y 700 nm.

Intervalos de referencia

Los valores de fosfato pueden variar con la edad. Divididos en grupos de edad, los intervalos se muestran en el cuadro 13-19.

Lactato

Bioquímica y fisiología del lactato

El lactato es un subproducto de un mecanismo de emergencia que produce una cantidad pequeña de ATP cuando

CUADRO 13-19. INTERVALOS DE REFERENCIA PARA FOSFATO

SUERO, PLASMA	
Neonato	1.45 a 2.91 mmol/L (4.5 a 9.0 mg/dl)
Niño	1.45 a 1.78 mmol/L (4.5 a 5.5 mg/dl)
Adulto	0.87 a 1.45 mmol/L (2.7 a 4.5 mg/dl)
Orina (24 horas)	13 a 42 mmol/día (0.4 a 1.3 mg/día)

se reduce de manera drástica el aporte de oxígeno. El piruvato es el producto terminal normal del metabolismo de la glucosa (glucólisis). La conversión de piruvato a lactato se activa cuando una deficiencia de oxígeno da lugar a una acumulación excesiva de NADH (fig. 13-7). Normalmente, el oxígeno suficiente mantiene una relación alta favorable de NAD a NADH. En estas condiciones, el piruvato se convierte en acetil-coenzima A (CoA), que entra al ciclo del ácido cítrico y produce 38 moles de ATP por cada mol de glucosa oxidada. Sin embargo, en condiciones hipóxicas, la formación de acetil-CoA no ocurre y se acumula NADH, que favorece la conversión de piruvato a lactato por metabolismo anaerobio. Como resultado, sólo se producen dos moles de ATP por cada mol de glucosa metabolizada a lactato, con el exceso de lactato liberado en la sangre. Esta liberación de lactato en la sangre tiene importancia clínica porque la acumulación de exceso de lactato en la sangre es un indicador inicial sensible y cuantitativo de la gravedad de falta de oxígeno (fig. 13-8).

Regulación

Debido a que el lactato es un subproducto del metabolismo anaerobio, no se regula de manera específica, como con el potasio o calcio, por ejemplo. Cuando el aporte de oxígeno se reduce por debajo del nivel crítico, las concentraciones de lactato sanguíneo suben con rapidez e indican hipoxia tisular antes que pH. El hígado es el órgano principal para eliminar lactato al convertir el lactato de nuevo a glucosa por un proceso llamado gluconeogénesis.

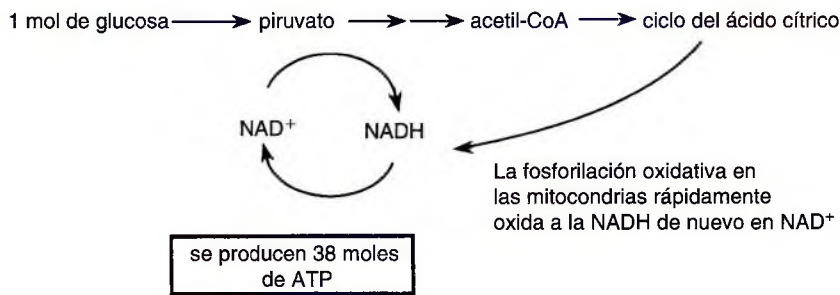
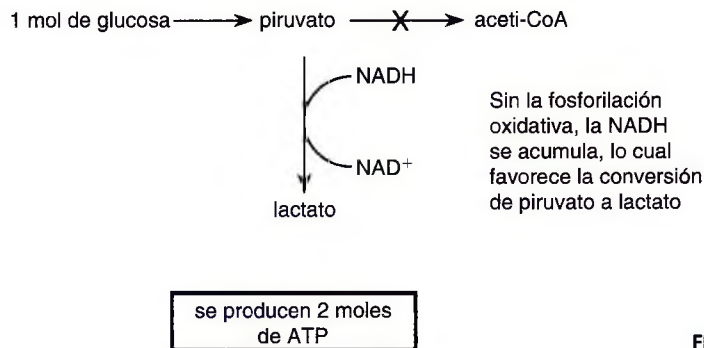
Aplicaciones clínicas

Las mediciones de lactato sanguíneo son útiles para monitoreo metabólico en pacientes enfermos en estado crítico, para indicar la gravedad de la enfermedad y para determinar de manera objetiva el pronóstico del paciente.

Hay dos tipos de acidosis láctica. El tipo A se relaciona con condiciones hipotóxicas, como choque, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva grave, edema pulmonar o pérdida grave de sangre. El tipo B es de origen metabólico, como con la diabetes mellitus, infección grave, leucemia, enfermedad renal o hepática y toxinas (etanol, metanol o envenenamiento con salicilato).

Determinación de lactato

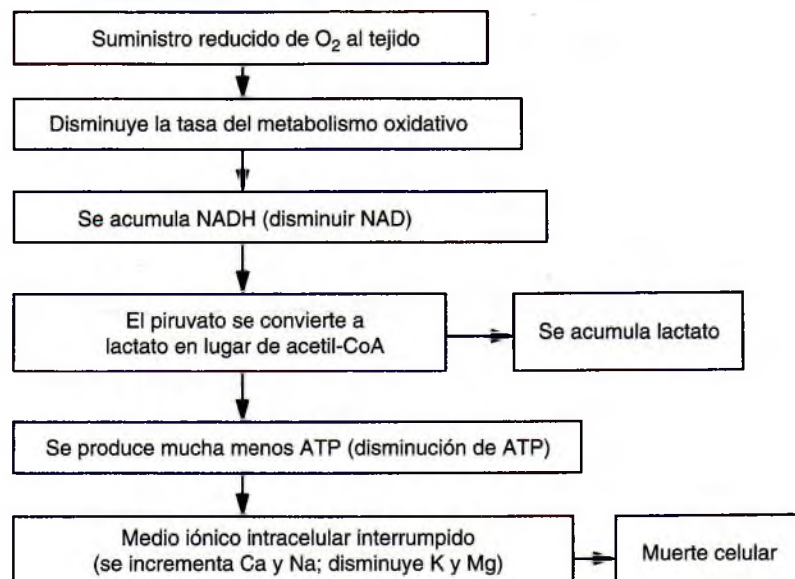
Manejo de la muestra. Se debe tener cuidado especial al recolectar y manejar las muestras para análisis de lactato. De modo ideal, no se debe emplear un torniquete porque

Metabolismo aeróbico**Metabolismo anaerobio****FIGURA 13-7.** Metabolismo aeróbico contra anaeróbico de glucosa.

la estasis venosa incrementará las concentraciones de lactato. Si se emplea un torniquete, la sangre se debe recolectar de inmediato y el paciente no debe ejercitar la mano antes o durante la recolección.¹⁰ Después de la recolección, la glucosa se convierte a lactosa por medio de glucólisis anaerobia y se debe evitar. La sangre heparinizada se puede usar pero se debe entregar en hielo y separar con rapidez el plasma. El yodoacetato o fluoruro, que inhiben

la glucólisis sin afectar la coagulación, son por lo general aditivos satisfactorios, pero se deben consultar las indicaciones específicas del método.

Métodos. Aunque el lactato es un indicador sensible de oxigenación tisular inadecuada, el uso de mediciones de lactato sanguíneo ha sido obstaculizado porque los métodos más viejos eran lentos y laboriosos. Se han empleado otros métodos para seguir la perfusión u oxigenación,

**FIGURA 13-8.** Efectos metabólicos de hipoxia, que conduce a muerte celular.

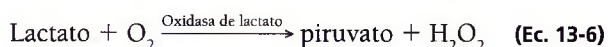
CUADRO 13-20. INTERVALOS DE REFERENCIA PARA LACTATO

MÉTODO ENZIMÁTICO, PLASMA

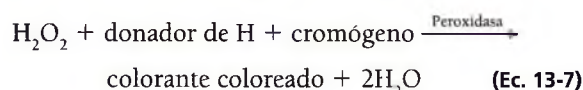
Venoso	0.5 a 2.2 mmol/L (4.5 a 19.8 mg/dl)
Arterial	0.5 a 1.6 mmol/L (4.5 a 14.4 mg/dl)
LCR	1.1 a 2.4 mmol/L (10 a 22 mg/dl)

como los catéteres internos para medir flujo de sangre, oxímetros de pulso, determinaciones de exceso y mediciones de consumo de oxígeno (VO_2). Los métodos enzimáticos actuales facilitan la determinación de lactato.

En el método enzimático común se emplea oxidasa de lactato para producir piruvato y H_2O_2 .



Se podría usar entonces una de las dos reacciones acopladas. La peroxidasa se emplea para producir un cromógeno coloreado a partir de H_2O_2 .



Intervalos de referencia⁵

Véase el cuadro 13-20.

INTERVALO ANIÓNICO

La medición de rutina de electrolitos normalmente tiene que ver sólo con Na^+ , K^+ , Cl^- y HCO_3^- (como CO_2 total).

Estos valores se pueden usar para aproximar el *intervalo aniónico (IA)*, que es la diferencia entre aniones no medidos y los cationes no medidos. Nunca hay un "intervalo" entre las cargas catiónicas totales y las cargas aniónicas. El IA se crea por la diferencia de concentración entre los cationes medidos comúnmente ($\text{Na} + \text{K}$) y los aniones ($\text{Cl} + \text{HCO}_3^-$), como se ilustra en la figura 13-9. El IA es útil para indicar un incremento en uno o más de los aniones no medidos en el suero y también como una forma de control de calidad para el analizador empleado para medir estos electrolitos. Los espacios aniónicos consistentemente anormales en el suero de personas saludables pueden indicar un problema del instrumento.

Hay dos métodos comunes para calcular el intervalo aniónico. La primera ecuación es

$$\text{IA} = \text{Na}^+ - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-) \quad (\text{Ec. 13-8})$$

Es equivalente a aniones no medidos menos los cationes no medidos en esta forma:

$$\text{IA} = (\text{proteína} + \text{ácidos orgánicos} + \text{PO}_4^{3-} + 2\text{SO}_4^{2-}) - (\text{K}^+ + 2\text{Ca}^{+2} + \text{Mg}^{+2}) \quad (\text{Ec. 13-9})$$

El intervalo de referencia para el IA con este cálculo es 7 a 16 mmol/L.³ El segundo método de cálculo es

$$\text{IA} = (\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-) \quad (\text{Ec. 13-10})$$

Éste tiene un intervalo de referencia de 10 a 20 mmol/L.³

Un *intervalo aniónico elevado* podría ser causado por uremia e insuficiencia renal, que conduce a retención de PO_4^{3-} y SO_4^{2-} ; cetoacidosis, como se ve en casos de inanición o diabetes; metanol, etanol, envenenamiento por etilenglicol, o salicilato; acidosis láctica; hipernatremia, y

ESTUDIO DE CASO 13-4

Considere los siguientes resultados de laboratorio de tres pacientes adultos:

Preguntas

- ¿Qué conjunto de resultados de laboratorio (caso A, B o C) es el más probable relacionado con cada uno de los siguientes diagnósticos:
 - Hiperparatiroidismo primario
 - Malignidad
 - Hipocalcemia hipomagnesémica

CUADRO 13-4.1 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

CASO	INTERVALOS DE REFERENCIA				HORMONA PARATIROIDEA INTACTA 13-64 ng/L
	ION Ca^{+2} 1.16-1.32 mmol/L	Mg^{+2} TOTAL 0.63-1.0 mmol/L	PO_4^{3-} 0.87-1.45 mmol/L	HEMATÓCRITO 35-45%	
A	1.44	0.90	0.85	42	100
B	1.08	0.50	0.90	40	25
C	1.70	0.98	1.43	30	12

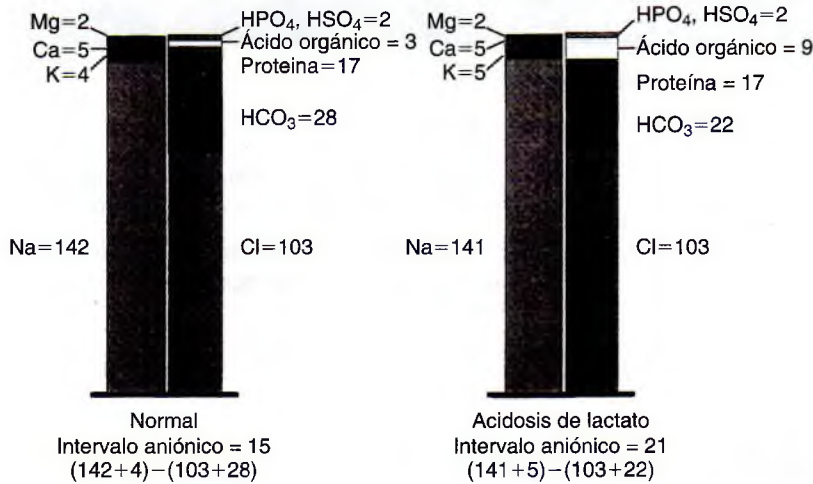


FIGURA 13-9. Demostración del intervalo aniónico a partir de concentraciones de aniones y cationes en estado normal y en acidosis láctica.

error del instrumento. Los valores *bajos* del *intervalo aniónico* son raros pero se pueden ver con hipoalbuminemia (disminución de aniones no medidos) o hipercalcemia grave (incremento de cationes no medidos).

ELECTRÓLITOS Y FUNCIÓN RENAL

El riñón es el centro para la regulación y conservación de electrolitos en el cuerpo. Para una revisión de la estructura del riñón, refiérase a la figura 13-10 y el capítulo 24, *Función renal*. El siguiente es un resumen de excreción y conservación de electrolito en un individuo saludable:

1. Glomérulo: esta porción de la nefrona actúa como un filtro, retiene las proteínas grandes y los constituyentes enlazados a proteína mientras que otros constituyentes plasmáticos pasan hacia el filtrado. Las concentraciones en el plasma filtrado deben ser casi iguales a la proteína sin LEC.
2. Túbulos renales:
 - a) La PTH inhibe la reabsorción de fosfato y el 1,25-dihidroxicolecalciferol la incrementa. La calcitonina estimula la excreción de PO_4^{3-} .
 - b) El calcio es reabsorbido bajo la influencia de PTH y 1,25-dihidroxicolecalciferol. La calcitonina estimula excreción de calcio.
 - c) La reabsorción de magnesio ocurre en gran medida en el extremo ascendente grueso del asa de Henle.
 - d) La reabsorción de sodio puede ocurrir por tres mecanismos:

Alrededor de 70% del sodio en el filtrado es reabsorbido en los túbulos proximales por reabsorción isoosmótica. Sin embargo, está limitada por la capacidad del cloruro para mantener la neutralidad eléctrica.

El sodio es reabsorbido en intercambio por H^+ . Esta reacción está enlazada con HCO_3^- y depende de la anhidrasa carbónica.

Estimulado por aldosterona, el Na^+ es reabsorbido en intercambio por K^+ en los túbulos distales. (H^+ compete con K^+ por este intercambio.)

- e) El cloruro es reabsorbido, en parte, por transporte pasivo en el túbulo proximal a lo largo del gradiente de concentración creado por Na^+ .
- f) El potasio se reabsorbe mediante dos mecanismos:
 - La reabsorción activa en el túbulo proximal casi conserva por completo K^+ .
 - El intercambio con Na^+ es estimulado por aldosterona. H^+ compete con K^+ para este cambio.

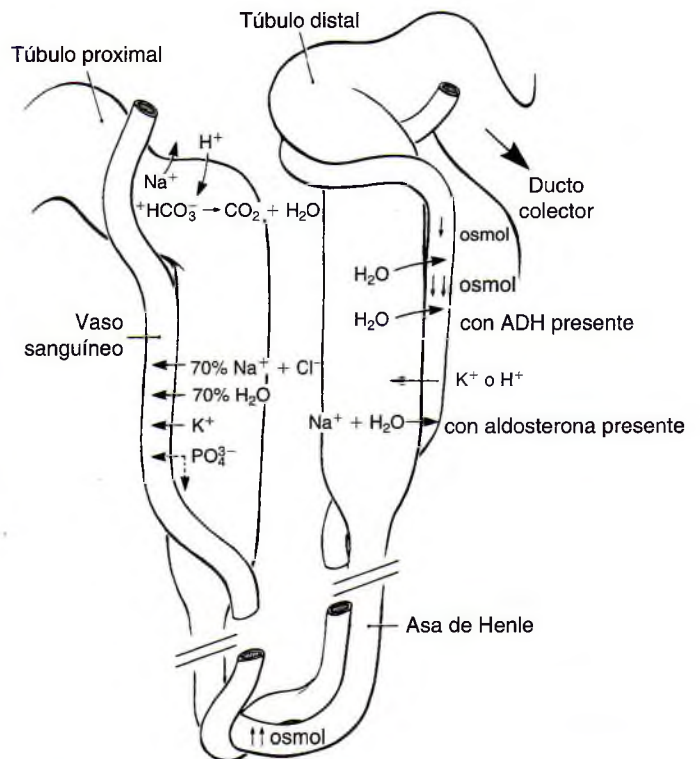


FIGURA 13-10. Resumen de movimientos de electrolito en túbulos renales.

ESTUDIO DE CASO 13-5

Los padres de una muchacha de 15 años de edad en estado de coma la llevaron al departamento de urgencias. Ella padece diabetes y ha sido dependiente de insulina por siete años. Sus padres expresaron que antes había tenido varios episodios de hipoglucemia y cetoacidosis, y que su hija con frecuencia estaba “demasiado ocupada” para tomar sus inyecciones de insulina. Los resultados de laboratorio obtenidos en la admisión se muestran en el cuadro 13-5.1 de estudio de caso.

Preguntas

- 1. ¿Cuál es el diagnóstico?
- 2. Calcule el intervalo aniónico. ¿Cuál es la causa del resultado de intervalo aniónico en esta paciente?
- 3. ¿Por qué son reducidas las concentraciones de cloruro y bicarbonato? ¿Cuál es la importancia del valor alto de potasio?
- 4. ¿Cuál es la importancia de la osmolalidad plasmática?

CUADRO 13-5.1 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

		RESULTADOS	INTERVALO DE REFERENCIA
Sangre venosa	Sodio	145 mmol/L	136 a 145 mmol/L
	Potasio	5.8 mmol/L	3.4 a 5.0 mmol/L
	Cloruro	87 mmol/L	98 a 107 mmol/L
	Bicarbonato	8 mmol/L	22 a 29 mmol/L
	Glucosa	1050 mg/dl	70 a 110 mg/dl
	Nitrógeno de urea	35 mg/dl	7 a 18 mg/dl
	Creatinina	1.3 mg/dl	0.5 a 1.3 mg/dl
	Lactato	5 mmol/L	0.5 a 2.2 mmol/L
Sangre arterial	Osmolalidad	385 mOsm/kg	275 a 295 mosm/kg
	pH	7.11	7.35 a 7.45
	PO ₂	98 mm Hg	83 a 100 mmHg
	PCO ₂	20 mm Hg	35 a 45 mmHg
Orina		Normal	
	Glucosa	4+	Negativa
	Cetonas	4+	Negativa

- g) El bicarbonato se recupera del filtrado glomerular y se convierte en CO₂ cuando se excreta H⁺ en la orina.
- Asa de Henle: con la función normal de ADH, crea un gradiente osmótico que permite que la reabsorción de agua se incremente o disminuya en respuesta a cambios de líquidos corporales de osmolalidad.
- Ductos colectores: también bajo la influencia de ADH, éste es el lugar donde se hace el ajuste final de excreción de agua.

RESUMEN

Los electrolitos son iones capaces de llevar una carga eléctrica. Se clasifican como aniones o cationes con base en el tipo de carga que llevan. Los aniones tienen una carga

negativa y se mueven hacia el ánodo; los cationes tienen una carga positiva y migran hacia el ánodo. Los electrolitos son esenciales para numerosos procesos en el cuerpo, como la regulación del volumen y la presión osmótica, ritmo y contractilidad miocárdica, activación de enzimas, regulación de las bombas de iones de ATPasa, equilibrio acidobase, coagulación de sangre, excitabilidad neuromuscular, y la producción y uso de ATP a partir de glucosa. Los electrolitos analizados en este capítulo fueron sodio, calcio, fosfato, cloruro, bicarbonato, magnesio, calcio, fosfato y lactato. En este capítulo también se estudió la fisiología metabólica y la regulación de cada electrolito, así como los métodos de evaluación comúnmente usados. La regulación de concentraciones de electrolito en los intervalos fisiológicos reducidos es llevada a cabo sobre todo por los riñones.

PREGUNTAS DE REPASO

- ¿Cuál es el catión intracelular principal?
 - Calcio.
 - Magnesio.
 - Sodio.
 - Potasio.
- ¿Cuál es el catión extracelular principal?
 - Cloruro.
 - Sodio.
 - Magnesio.
 - Calcio.
- La osmolalidad se puede definir como una medida de la concentración de una disolución con base en:
 - El número de partículas iónicas presentes.
 - El número y tamaño de partículas disueltas.
 - El número de partículas disueltas.
 - Densidad de las partículas disueltas.
- La hiponatremia puede ser causada por cada una de las siguientes condiciones EXCEPTO:
 - Hipomagnesemia.
 - Deficiencia de aldosterona.
 - Vómito prolongado y diarrea.
 - Insuficiencia renal aguda o crónica.
- La hipopotasemia puede ser causada por cada una de las siguientes condiciones EXCEPTO:
 - Acidosis.
 - Vómito prolongado y diarrea.
 - Hipomagnesemia.
 - Hipoaldosteronismo.
- La hiperpotasemia puede ser causada por cada una de las siguientes condiciones EXCEPTO:
 - Insuficiencia renal aguda o crónica.
 - Hipoaldosteronismo.
 - Alcalosis.
 - Hemólisis de muestra.
- La diferencia principal entre un método de ESI directo e indirecto es:
 - El tipo de membrana que se usa.
 - Que los ESI directos emplean un electrodo de referencia mientras que los ESI indirectos no.
 - La muestra se diluye en el método indirecto, no el método directo.
 - Las muestras de sangre completa se pueden medir con el método directo y no con el indirecto.
- ¿Cuál método de análisis proporcionará los resultados de electrólito más exactos si se emplea una muestra muy lipémica?
 - El ESI indirecto.
 - El ESI directo.
 - La fotometría de emisión de flama.
 - La absorción atómica.
- La causa más frecuente de hipermagnesemia se debe a:
 - Ingestión incrementada.
 - Hipoaldosteronismo.
 - Acidosis.
 - Insuficiencia renal.
- Una muestra hemolizada causará concentraciones incrementadas falsas de lo siguiente EXCEPTO:
 - Potasio.
 - Sodio.
 - Fosfato.
 - Magnesio.

REFERENCIAS

- Rose BD, ed. *Clinical Physiology of Acid-Base and Electrolyte Disorders*, 5th ed. New York: McGraw-Hill, 2001:163–228, 241–257, 372–402, 696–793, 836–930.
- Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia: WB Saunders, 1999:1058, 1066–1068.
- Tietz NW, ed. *Clinical Guide to Laboratory Tests*. Philadelphia: WB Saunders, 1995:56, 100–105, 110, 124–126, 418, 456–458, 486, 502–506, 562–564.
- Oh MS. Pathogenesis and diagnosis of hyponatremia. *Nephron* 2002;92(Suppl. 1):2–8.
- Kumar S, Tomas B. Sodium. *Lancet* 1998;352:220–228.
- Crook M. The investigation and management of severe hyponatremia. *J Clin Pathol* 2002;55:883.
- Vitros Na⁺ package insert, Version 2.0. Rochester, NY: Ortho-Clinical Diagnostics, 2003.
- Gennari FJ. Disorders of potassium homeostasis: hypokalemia and hyperkalemia. *Crit Care Clin* 2002;18:273–288.
- Gennari FJ. Hypokalemia. *N Engl J Med* 1998;339(7):451–458.
- Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. Philadelphia: WB Saunders, 2001:496, 451.
- Elin RJ. Magnesium: The fifth but forgotten electrolyte. *Am J Clin Pathol* 1994;102(5):616–622.
- Polancic JE. Magnesium: metabolism, clinical importance, and analysis. *Clin Lab Sci* 1991;4(2):105–109.
- Whang R. Clinical disorders of magnesium metabolism. *Comp Ther* 1997;23(3):168–173.

14. Schlingman KP, Weber S, et al. Hypomagnesemia with secondary hypocalcemia is caused by mutations in TRPM6, a new member of the TRPM gene family. *Nat Genet* 2002;31:166–170.
15. Whang R, Sims G. Magnesium and potassium supplementation in the prevention of diabetic vascular disease. *Med Hypoth* 2000;55:263–265.
16. Ringer S. A further contribution regarding the influence of different constituents of blood on contractions of the heart. *J Physiol* 1883;4:29.
17. McLean FC, Hastings AB. A biological method for estimation of calcium ion concentration. *J Biol Chem* 1934;107:337.
18. Bushinsky DA, Monk RD. Calcium. *Lancet* 1998;352:23.
19. Wandrup J. Critical analytical and clinical aspects of ionized calcium in neonates. *Clin Chem* 1989;35:2027.
20. Shiber JR, Mattu A. Serum phosphate abnormalities in the emergency department. *J Emerg Med* 2002;23:395–400.

Gases en la sangre, pH, y sistemas amortiguadores

Sharon S. Ehrmeyer, Ronald H. Laessig
y John J. Ancy

CAPÍTULO

14

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- DEFINICIONES: ÁCIDO, BASE, DISOLUCIÓN AMORTIGUADORA
- EQUILIBRIO ACIDOBASE
 - Mantenimiento del H^+
 - Sistemas amortiguadores: regulación del H^+
 - Regulación del equilibrio acidobase: pulmones y riñones
- VALORACIÓN DE LA HOMEOSTASIS ACIDOBASE
 - El sistema amortiguador de bicarbonato y la ecuación de Henderson-Hasselbalch
 - Trastornos acidobase: acidosis y alcalosis
- INTERCAMBIO DE OXÍGENO Y GAS
 - Oxígeno y bióxido de carbono
 - Transporte de oxígeno
 - Cantidades relacionadas con la evaluación del estado de oxigenación del paciente
 - Disociación hemoglobina-oxígeno
- MEDICIÓN
 - Determinación espectrofotométrica (cooxímetro) de la saturación del oxígeno
 - Analizadores de gas en la sangre: pH, PCO_2 y PO_2
 - Medición de PO_2
 - Mediciones de pH y PCO_2
 - Tipos de sensores electroquímicos
 - Sensores ópticos
 - Calibración
 - Parámetros calculados
 - Corrección de la temperatura
- ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD
 - Consideraciones preanalíticas
 - Evaluaciones analíticas: control de calidad y prueba de eficiencia
 - Interpretación de los resultados
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Describir los principios que participan en la medición de pH, PCO_2 , PO_2 y las especies de hemoglobina.
- Delinear la interrelación de los mecanismos de amortiguación del bicarbonato, el ácido carbónico, y la hemoglobina.
- Explicar el significado clínico de los siguientes parámetros en gas sanguíneo y pH: pH, PCO_2 , PO_2 , bicarbonato real, ácido carbónico, exceso de base, saturación de oxígeno, oxihemoglobina fraccional, capacidad de oxígeno ligado a la hemoglobina, contenido de oxígeno y CO_2 total.
- Determinar si los datos son normales o representan acidosis o alcalosis respiratorias o metabólicas usando la ecuación de Henderson-Hasselbalch y los datos de gas en la sangre. Identificar si los datos representan condiciones de compensación o descompensación.
- Identificar algunas causas comunes de la acidosis y la alcalosis no respiratoria y respiratoria, y de anomalías mixtas. Determinar la manera en que el cuerpo trata de compensar (riñón y pulmones) las diversas condiciones.
- Describir el significado de la curva de disociación oxígeno-hemoglobina y el impacto de pH, 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), temperatura, pH y PCO_2 , sobre su forma y liberación de O_2 a los tejidos.
- Discutir los problemas en la recolección y manejo de muestras para el análisis de pH y de gas en la sangre, además de las precauciones que se deben tomar. Incluir en la discusión jeringas, anticoagulantes, mezcla, recubrimiento y muestras capilares, venosas y arteriales.
- Describir métodos de aseguramiento de la calidad, incluido el control de calidad (controles líquidos comerciales, tonometría, exámenes de competencia y chequeos delta) para evaluar la calidad analítica.
- Discutir las razones para posibles discrepancias, entre los datos de saturación de oxígeno calculados por el analizador de gas en la sangre y los medidos por el cooxímetro.
- Calcular la presión parcial del PCO_2 y el PO_2 para varios porcentajes de dióxido de carbono y oxígeno. Al realizar estos cálculos, tendrá en cuenta la presión barométrica y la de vapor del agua.

TÉRMINOS CLAVE

Acidemia	Compensación	FI _{O2}	Oxihemoglobina
Acidosis	Error analítico	Hiperventilación	fraccional
Alcemia	Error preanalítico	Hipoventilación	Saturación de oxígeno
Alcalosis	Exceso de base	Hipoxemia	

Un aspecto importante de la bioquímica clínica es la información sobre el equilibrio acidobase y la homeostasis de gas en la sangre del paciente. Estos datos suelen usarse para evaluar a pacientes en situaciones que amenazan su vida. Debido a que los parámetros de prueba están interrelacionados, éstos se usan para realizar cuadros, que frecuentemente se complementan con parámetros calculados. Si se toma sólo un resultado de prueba, pueden encontrarse resultados engañosos.

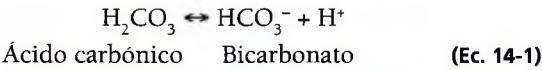
En este capítulo se analiza el intercambio de los gases, dióxido de carbono y oxígeno, junto con los mecanismos del cuerpo para mantener el equilibrio acidobase. También se describen la interpretación de los datos, a partir de la medición del pH y otros parámetros de gas en la sangre; las técnicas y la instrumentación usadas en estas mediciones también son descritas. Se tratan las consideraciones preanalíticas (recolección y manejo de muestras) que afectan considerablemente la calidad de los resultados de la prueba. También se presentan los métodos de aseguramiento de la calidad para el análisis de gas en la sangre.

DEFINICIONES: ÁCIDO, BASE, DISOLUCIÓN AMORTIGUADORA

Una discusión del equilibrio acidobase requiere una revisión de varios conceptos básicos: ácido, base, disolución amortiguadora, pH y pK, además de los principios del equilibrio y la ley de acción de masas.

Un *ácido* es una sustancia que puede ceder un ion hidrógeno (H⁺) o uno hidronio cuando se disuelve en agua. Una *base* es una sustancia que puede ceder iones hidroxilos (OH⁻). Las fuerzas relativas de ácidos y bases, su capacidad para disociarse en agua, se representan mediante su constante de disociación (o valor K, constante de ionización). Los cuadros se encuentran en casi cualquier libro de bioquímica. El pK, definido como el logaritmo negativo de la constante de ionización, es también el pH en que las formas protonada y no protonada están presentes en concentraciones iguales. Los ácidos fuertes tienen valores de pK menores de 3.0, mientras que las bases fuertes tienen valores de pK mayores de 9.0. En el caso de los ácidos, el aumento del pH por arriba del pK ocasiona que el ácido se disocie y ceda un H⁺. En el caso de las bases, la disminución del pH por debajo del pK ocasiona que la base libere OH⁻. Varias especies tiene más de un pK, lo que significa que pueden aceptar o donar más de un H⁺.

Una *disolución amortiguadora*, la combinación de una base débil o un ácido débil y su sal, es un sistema que resiste los cambios de pH. La eficiencia de una disolución amortiguadora depende del pK del sistema amortiguador y del pH del medio en que se coloca. En el plasma, el sistema bicarbonato-ácido carbónico, que tiene un pK de 6.1, es uno de los principales amortiguadores.



El valor de referencia para el pH del plasma sanguíneo es 7.40. Weisberg cita un ejemplo para demostrar la efectividad de las soluciones amortiguadoras sanguíneas.¹ Si el pH de 100 ml de agua destilada es 7.35 y se agrega una gota de 0.05 N de HCl, el pH cambiará a 7.00. Para cambiar 100 ml de sangre normal de un pH de 7.35 a uno de 7.00, son necesarios casi 25 ml de 0.05 N de HCl. Con 5.5 L de sangre en un cuerpo normal, se necesitan más de 1 300 ml de HCl para obtener el mismo cambio en el pH.

EQUILIBRIO ACIDOBASE

Mantenimiento del H⁺

La concentración normal de H⁺ en el fluido corporal extracelular es de 36 a 44 nmol/L (pH de 7.34 a 7.44); sin embargo, a través del metabolismo, el cuerpo produce cantidades más grandes de H⁺. Mediante un mecanismo fino que incluye a los pulmones y los riñones, el cuerpo controla y excreta H⁺ para mantener la homeostasis del pH. Cualquier valor de H⁺ fuera del intervalo puede causar alteraciones en el equilibrio de las reacciones químicas dentro de la célula y afectar muchos de los procesos metabólicos del cuerpo, y puede ocasionar alteraciones de la conciencia, irritabilidad neuromuscular, tetania, coma y muerte.

La escala del pH logarítmico expresa la concentración de H⁺ (c es la concentración):

$$\text{pH} = \log \frac{1}{c\text{H}^+} = -\log c\text{H}^+$$

(Ec. 14-2)

El valor de referencia para el pH de la sangre arterial es 7.40 y es equivalente a una concentración H⁺ de 40 nmol/L. Debido a que el pH es el logaritmo negativo de la cH⁺, un incremento en la concentración de H⁺ disminuye el pH, mientras que un decremento lo aumenta. Un pH por debajo del rango de referencia (<7.34) implica *acidosis*, mientras que un pH por arriba del rango de referencia (>7.44) es una *alcalosis*. Técnicamente, el sufijo -osis alude a un proceso corporal; el sufijo -emia, al estado correspondiente en la sangre (la -osis es la causa de la -emia).

El pH arterial es controlado por sistemas que regulan la producción y retención de ácidos y bases. Estos incluyen soluciones amortiguadoras, el centro respiratorio y los pulmones, y los riñones.

Sistemas amortiguadores: regulación del H⁺

La primera línea de defensa del cuerpo humano contra cambios externos en la concentración de H⁺ son los sistemas amortiguadores presentes en todos los fluidos corporales.

Todas las soluciones amortiguadoras están integradas por un ácido débil, como el ácido carbónico (H_2CO_3), y su sal o base conjugada, el bicarbonato (HCO_3^-), para el sistema amortiguador bicarbonato-ácido carbónico. El H_2CO_3 es un ácido débil porque no se disocia por completo en H^+ y HCO_3^- . (En contraste, un ácido fuerte, como el HCl , se disocia totalmente en H^+ y Cl^- en disolución). Cuando se agrega un ácido al sistema bicarbonato-ácido carbónico, el HCO_3^- puede combinarse con el H^+ del ácido para formar H_2CO_3 . Cuando se agrega una base, el H_2CO_3 se combina con el grupo OH^- para formar H_2O y HCO_3^- . En ambos casos, hay una variación más pequeña en el pH de la que se obtendría al agregar el ácido o base a una disolución no amortiguadora.

Aunque el sistema bicarbonato-ácido carbónico tiene una capacidad de amortiguación baja, todavía es un amortiguador importante por tres razones: a) H_2CO_3 se disocia en CO_2 y H_2O , liberando CO_2 , que es eliminado por los pulmones y desechando H^+ como agua; b) los cambios en CO_2 modifican la tasa de ventilación (respiración); y c) los riñones pueden alterar la concentración de HCO_3^- . Además, este sistema amortiguador contrarresta inmediatamente los efectos de ácidos no volátiles fijos (H^+A^-) ligando el ion hidrógeno disociado ($\text{H}^+\text{A}^- + \text{HCO}_3^- = \text{H}_2\text{CO}_3 + \text{A}^-$). El H_2CO_3 resultante se disocia, y el H^+ es neutralizado por la capacidad amortiguadora de la hemoglobina. En la figura 14-1 se muestra la mutua relación entre la hemoglobina de los glóbulos rojos y el H^+ del sistema amortiguador de bicarbonato.

Otras soluciones amortiguadoras también son importantes. El sistema amortiguador de fosfato ($\text{HPO}_4^{2-} - \text{H}_2\text{PO}_4^-$) juega un papel importante en el plasma y los glóbulos rojos, y participa en el intercambio del ion de sodio en la orina por el H^+ filtrado. La proteína del plasma, principalmente los grupos imidazol de la histidina, también forman un sistema amortiguador importante en el plasma. Casi todas las proteínas circulantes tienen una carga negativa neta y son capaces de enlazarse con H^+ .

Los pulmones y los riñones juegan papeles importantes en la regulación del pH sanguíneo. La interrelación de los pulmones con los riñones en el mantenimiento del pH se describe con la ecuación de Henderson-Hasselbalch (ecuación 14-4). El numerador (HCO_3^-) representa la función del riñón, mientras que el denominador (PCO_2 , que representa al H_2CO_3) denota la función pulmonar. Los pulmones regulan el pH a través de la retención o eliminación de CO_2 , cambiando la proporción y el volumen de ventilación. Los riñones regulan el pH excretando ácido, principalmente el ion amonio, y recuperando HCO_3^- del filtrado glomerular.

Regulación del equilibrio acidobase: pulmones y riñones

El dióxido de carbono, el producto final de la mayor parte de los procesos metabólicos aeróbicos, se difunde de forma fácil fuera del tejido donde se produce, hacia el plasma y los glóbulos rojos de los capilares circundantes. En el plasma, una cantidad pequeña de CO_2 se disuelve físicamente o se combina con proteínas para formar compuestos de carbamino. Casi todo el CO_2 se combina con H_2O para formar H_2CO_3 , qué rápido se disocia en H^+ y HCO_3^- (fig. 14-1). La reacción es acelerada por la enzima anhidrasa carbónica encontrada en la membrana de los glóbulos rojos. La disociación de H_2CO_3 causa que la concentración de HCO_3^- se incremente en los glóbulos rojos y se difunda en el plasma. Para mantener electroneutralidad (el mismo número de iones cargados positiva y negativamente en cada sitio de la membrana del glóbulo rojo), se difunde cloruro en la célula. A esto se le conoce como *cambio de cloruro*. Las proteínas y los amortiguadores del plasma se combinan con los H^+ para mantener un pH estable.

En los pulmones, el proceso se invierte. El O_2 inspirado se difunde de los alvéolos a la sangre y se liga a la hemoglobina para formar la oxihemoglobina (O_2Hb). El H^+ que es transportado por la hemoglobina (reducida) dentro de la sangre venosa es liberado para combinarse con el HCO_3^- para formar H_2CO_3 , que a su vez se disocia en H_2O y CO_2 . El CO_2 se difunde en los alvéolos y se elimina a través de la ventilación. El efecto de la interacción de estos dos sistemas de amortiguación es un cambio mínimo en la concentración de H^+ entre la circulación arterial y venosa. Cuando los pulmones no eliminan el CO_2 en proporción a su producción (como resultado de ventilación disminuida o enfermedad), éste se acumula en la sangre, causando un aumento en la concentración de H^+ . Pero si la eliminación de CO_2 es más rápida que la producción (hiperventilación), la concentración de H^+ disminuirá. Por tanto, la ventilación afecta el pH de la sangre. Un cambio en la concentración de H^+ en la sangre que se deba a disturbios no respiratorios, ocasionará que el centro respiratorio responda alterando la proporción de ventilación en un esfuerzo por restaurar el pH de la sangre a la normalidad. Los pulmones, en cuestión de segundos, junto con los sistemas amortiguadores, proporcionan la primera de defensa contra los cambios en el estado acidobase.

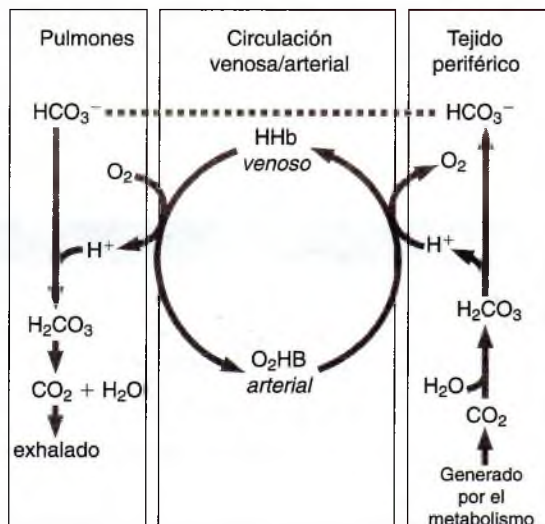


FIGURA 14-1. Interrelación de los sistemas amortiguadores de bicarbonato y de hemoglobina.

Los riñones también pueden excretar cantidades variables de ácido o base, por lo que tienen un papel importante en la regulación del equilibrio acidobase. El papel principal del riñón en la estabilidad de la homeostasis acidobase es recuperar el HCO_3^- del filtrado glomerular. Sin esta recuperación, la pérdida de HCO_3^- en la orina daría como resultado una acidez excesiva en la sangre. El sitio principal en la recuperación del HCO_3^- es el túbulo proximal (fig. 14-2). El filtrado glomerular contiene el mismo nivel de HCO_3^- que el plasma. Este proceso no es un transporte directo de HCO_3^- a través de la membrana tubular en la sangre. En cambio, se intercambia el sodio (Na^+) del filtrado glomerular por el H^+ en la célula tubular. El H^+ se combina con el HCO_3^- en el filtrado para formar H_2CO_3 que se convierte en H_2O y CO_2 mediante la anhidrasa carbónica. El CO_2 se difunde fácilmente en el túbulo y reacciona con H_2O para formar de nuevo H_2CO_3 y luego HCO_3^- , que es reabsorbido en la sangre junto con el sodio. En condiciones alcaloides, el riñón excreta HCO_3^- para compensar la elevación del pH sanguíneo. El intercambio entre el H^+ y el Na^+ sugiere, en parte, por qué los médicos solicitan análisis químicos de pH y gases sanguíneos juntos, además del de electrolitos (Na^+ , K^+ y Cl^-), para evaluar al paciente. (La *absorción* o *recuperación* se refiere al proceso de reintroducir la sangre. La *secreción* o *excreción* por parte de las células tubulares concentra o elimina sustancias del filtrado. Estas reacciones determinan el pH de la orina, además del de la sangre.)

Bajo condiciones normales, el cuerpo produce un exceso neto (de 50 a 100 mmol/L) de ácido (H^+) cada día, el cual debe ser excretado por el riñón. Debido a que el mínimo de pH en la orina es casi de 4.5, el riñón excreta pocos H^+ no reguladores. El resto de los H^+ urinarios se combinan con fosfato dibásico (HPO_4^{2-}) y amoniaco (NH_3) y son excretados como fosfato dihidrógeno (H_2PO_4^-) y amonio (NH_4^+). La cantidad de HPO_4^{2-} disponible para combinarse con H^+ es constante; por tanto, la excreción diaria de H^+ en orina depende en gran parte de la cantidad formada de NH_4^+ . Debido a que las células tubulares renales pueden generar NH_3 a partir de la glutamina y otros aminoácidos, la concentración de NH_3 puede incrementarse como respuesta a un decremento en el pH sanguíneo.

Varios factores afectan la reabsorción de HCO_3^- . Cuando el nivel de HCO_3^- en sangre o en plasma es más alto que 26 a 30 mmol/L, el HCO_3^- debe ser excretado. Es improbable que el plasma exceda un valor de HCO_3^- de 30 mmol/L, a menos que falle la capacidad excretoria (como cuando hay insuficiencia renal). Sin embargo, una excepción frecuente es la retención compensatoria de HCO_3^- por *hipercarbia* crónica como se ha observado con la enfermedad pulmonar crónica.

El nivel de HCO_3^- puede aumentar si una cantidad excesiva de lactato, acetato, o HCO_3^- se introduce por vía intravenosa. También puede aumentar si hay una pérdida excesiva de cloruro sin reemplazo (como cuando se suda, vomita o se prolonga una succión nasogástrica) debido a que el HCO_3^- será retenido por el túbulo para conservar la electroneutralidad.

Varios factores pueden ocasionar la disminución de los niveles de HCO_3^- . Casi todos los diuréticos, sin tener en cuenta el mecanismo de acción, favorecen la excreción de HCO_3^- . La reabsorción reducida del HCO_3^- también ocurre en condiciones en que hay una pérdida excesiva de cationes. En trastornos del riñón (como nefritis crónica o infecciones), la reabsorción de HCO_3^- puede verse afectada.

VALORACIÓN DE LA HOMEOSTASIS ACIDOBASE

El sistema amortiguador de bicarbonato y la ecuación de Henderson-Hasselbalch

Al evaluar la homeostasis acidobase, se miden y calculan los componentes del sistema amortiguador de bicarbonato. De los datos, pueden hacerse inferencias procedentes de otros amortiguadores y de los sistemas que regulan la producción, retención y excreción de ácidos y bases. Para el sistema amortiguador de bicarbonato, el CO_2 disuelto (dCO_2) está en equilibrio con el CO_2 gaseoso, que puede expulsarse por vía pulmonar. Por tanto, el sistema amortiguador de bicarbonato es conocido como un sistema *abierto*, y el dCO_2 que es controlado por los pulmones, es el *componente respiratorio*. Los pulmones participan de inmediato en la regulación del pH sanguíneo a través de la

ESTUDIO DE CASO 14-1

Un hombre de 50 años llega a urgencias después de volver de un viaje al extranjero. Sus síntomas incluyen diarrea persistente (por 3 días) y respiración rápida (taquipnea). Los gases en la sangre trazados son:

pH = 7.21
 PCO_2 = 19 mmHg
 PO_2 = 96 mmHg
 HCO_3^- = 7 mmol/L
 SO_2 = 96% (calculado) (rango de referencia, >95%)

Preguntas

1. ¿Cuál es el estado acidobase del paciente?
2. ¿Por qué el nivel de HCO_3^- es tan bajo?
3. ¿Por qué el paciente tiene una respiración rápida?

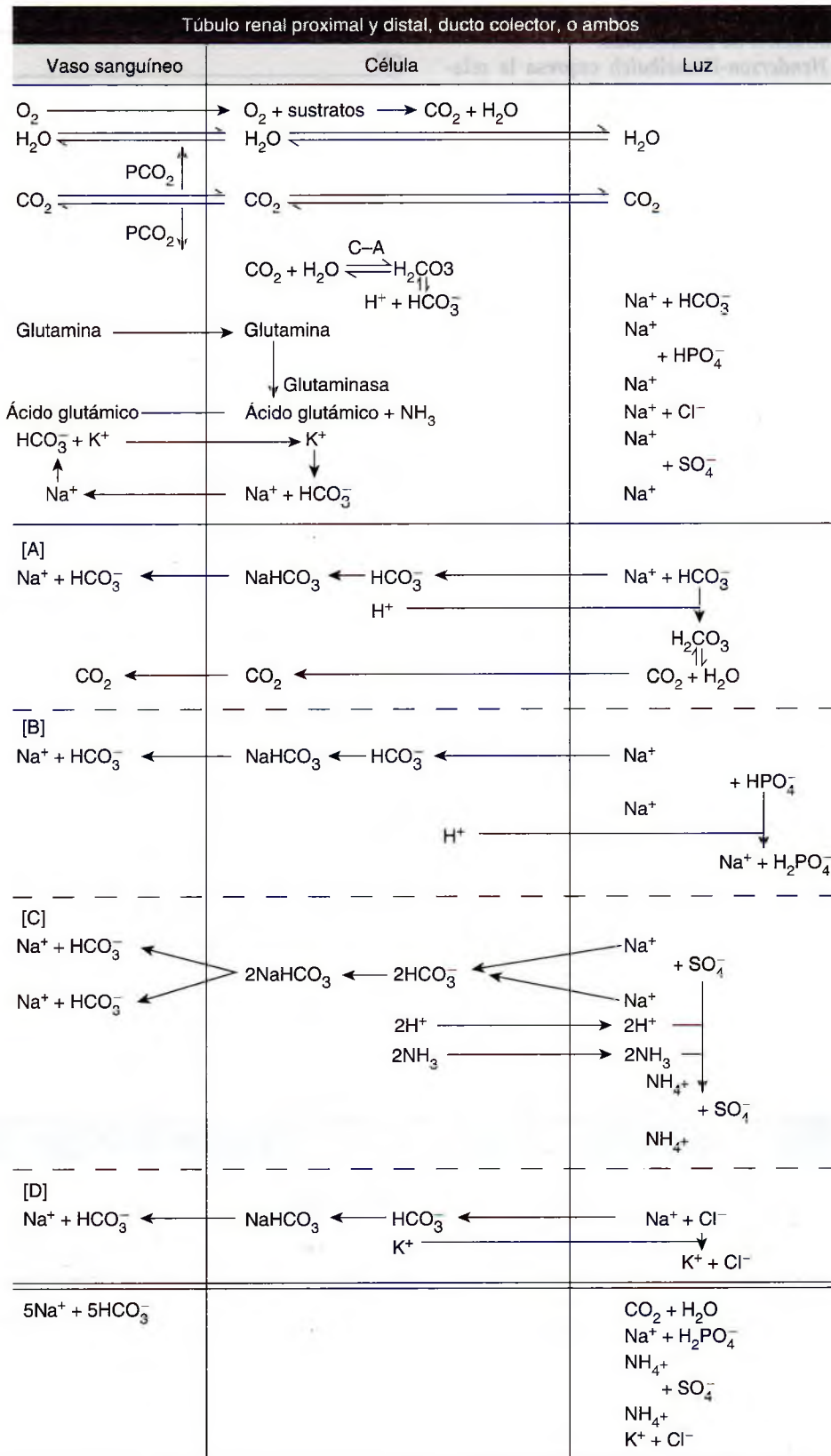


FIGURA 14-2. Reabsorción del bicarbonato por parte de la célula tubular proximal. CA, anhidrasa carbónica.

hipoventilación o hiperventilación. Por lo general, los riñones, los componentes metabólicos y no respiratorios, controlan la concentración de bicarbonato.

La ecuación de Henderson-Hasselbalch expresa la relación acidobase en una fórmula matemática:

$$\text{pH} = \text{pK}' + \log \frac{cA^-}{cHA} \quad (\text{Ec. 14-3})$$

donde A^- = receptor del protón (p. ej., HCO_3^-), HA = donador del protón, o ácido débil (como H_2CO_3), y el $\text{pK}' = \text{pH}$ en que hay concentración igual de las especies protonada y no protonada. Conociendo cualquiera de las tres variables se consigue calcular la cuarta.

En plasma y a temperatura corporal (37°C), el pK' del sistema amortiguador de bicarbonato es 6.1. El equilibrio entre H_2CO_3 y CO_2 en plasma es casi 1:800. La concentración de H_2CO_3 es proporcional a la presión parcial ejercida por el CO_2 disuelto. En plasma a los 37°C , el valor para la combinación de la constante de solubilidad para el PCO_2 y el factor para convertir mmHg a milimoles por el litro es de $0.0307 \text{ mmol L}^{-1} \text{ mmHg}^{-1}$. La temperatura y el solvente afectan la constante. Si cualquiera de éstos cambia, la constante de solubilidad también cambiará. Tanto el pH como el PCO_2 se miden en el análisis de gas sanguíneo, y el pK' es una constante; por tanto, es posible calcular HCO_3^- :

$$\text{pH} = \text{pK}' + \log \frac{c\text{HCO}_3^-}{0.031 \times \text{PCO}_2} \quad (\text{Ec. 14-4})$$

En condiciones de salud, cuando los riñones y pulmones están funcionando de manera apropiada, es posible mantener una proporción de 20:1 de HCO_3^- a H_2CO_3 (produciendo un pH de 7.40). Esto se ilustra sustituyendo valores normales (cuadro 14-1) para HCO_3^- y PCO_2 en la ecuación anterior:

$$\frac{24 \text{ mmol/L}}{(0.031 \text{ mmol/L} \cdot \text{mm Hg}) \times 40 \text{ mm Hg}} = \frac{24}{1.2} = \frac{20}{1} \quad (\text{Ec. 14-5})$$

CUADRO 14-1. RANGO DE REFERENCIA DE GAS EN LA SANGRE ARTERIAL A 37°C

pH	7.35–7.45
PCO_2 (mmHg))	35–45
HCO_3^- (mmol/L)	22–26
Contenido total de CO_2 (mmol/L)	23–27
PO_2 (mmol/L)	80–110
SO_2 (%)	>95
O_2Hb (%)	>95

Al agregar el logaritmo de 20 (1.3) al pK' del sistema del bicarbonato se produce un pH normal de 7.40 ($7.40 = 6.1 + 1.3$).

Trastornos acidobase: acidosis y alcalosis

Los trastornos acidobase de la acidosis y la alcalosis son resultado de diversas condiciones patológicas. Cuando el pH sanguíneo es menor que el rango de referencia, se le denomina *acidemia*, que expresa exceso de ácido o concentración de H^+ . A un pH mayor que el rango de referencia se le denomina *alcalemia*, o exceso de base. A un trastorno causado por la disfunción ventilatoria (un cambio en el PCO_2 , el componente respiratorio) se le denomina *acidosis respiratoria primaria* o *alcalosis*. A un trastorno que resulta de un cambio en el nivel del bicarbonato (una función renal o metabólica) se le denomina *trastorno no respiratorio (metabólico)*. La mezcla de trastornos respiratorios y no respiratorios en ocasiones surge de más de un proceso patológico y representa la más seria de las condiciones médicas, porque la compensación para el desorden primario está fallando.

Debido a que las actividades celulares y metabólicas del cuerpo son dependientes del pH, el cuerpo trata de restaurar la homeostasis acidobase siempre que ocurre un desequilibrio. A esta acción del cuerpo se le denomina *compensación*: el cuerpo logra esto alterando el factor no afectado en primer término por el proceso patológico. Por ejemplo, si el des-

ESTUDIO DE CASO 14-2

Una mujer de 80 años se cayó en el hielo y se fracturó el fémur. Después de varias horas, cuando llegó a urgencias, estaba ansiosa, jadeaba y se quejaba de fuerte dolor en el pecho y de que no podía respirar. Su pulso era rápido (taquicardia) al igual que su ritmo respiratorio (taquipnea). Se obtuvieron los gases en sangre y se encontraron los siguientes resultados:

pH = 7.31
 PCO_2 = 27 mmHg
 PO_2 = 62 mmHg
 HCO_3^- = 12 mmol/L
 SO_2 = 78% (calculado) (rango de referencia, >95%)

Preguntas

1. ¿Cuál es el estado acidobase del paciente?
2. ¿Por qué el nivel de HCO_3^- es tan bajo?
3. ¿Qué causó clínicamente el desequilibrio acidobase?

equilibrio es de origen no respiratorio, el cuerpo lo compensa alterando la ventilación. En el caso de los disturbios del componente respiratorio, los riñones compensan al excretar o absorber de forma selectiva aniones y cationes. Los pulmones pueden compensar de inmediato, pero la respuesta es a corto plazo y a menudo incompleta. Sin embargo, los riñones son más lentos para responder (2 a 4 días), pero la respuesta es a largo plazo y más completa. *Compensado completamente* implica que el pH ha vuelto al rango normal (se ha restaurado el cociente 20:1); *compensado parcialmente* implica que el pH está cercano a lo normal. La compensación puede volver con éxito al cociente normal 20:1, pero la anormalidad primaria no se corrige.

La acidosis se puede deber a una anormalidad (metabólica) no respiratoria primaria o a un problema respiratorio primario. En la acidosis no respiratoria primaria, hay una disminución del bicarbonato (<24 mmol/L), lo que lleva a un decremento en el pH como resultado de que la relación entre el componente no respiratorio y el respiratorio en la ecuación de Henderson-Hasselbalch es menor de 20:1:

$$\text{pH} \propto \frac{\downarrow \text{HCO}_3^-}{N(0.0307 \times \text{PCO}_2)} < \frac{20}{1} \quad (\text{Ec. 14-6})$$

donde N = el valor normal y $<$ indica un nivel disminuido.

La acidosis no respiratoria puede ser causada por la administración directa de una sustancia acidoprodutora, como el cloruro de amonio o el cloruro de calcio, o por excesiva formación de ácidos orgánicos como se ve con la cetoacidosis diabética o la inanición. En la acidosis no respiratoria también se ha observado una excreción reducida de ácidos, como en la acidosis tubular renal, y con pérdida excesiva de bicarbonato por diarrea o drenado con una fístula biliar, pancreática o intestinal.

El cuerpo compensa la acidosis no respiratoria mediante la *hiperventilación* que es un aumento en el grado o la profundidad de la respiración. Al “expirar” el CO_2 , la proporción base a ácido volverá a lo normal. La compensación secundaria ocurre cuando el órgano “original” (los riñones, en este caso) empieza a corregir la proporción reteniendo bicarbonatos.

La acidosis respiratoria primaria es el resultado de una disminución en la ventilación alveolar (*hipoventilación*), causando una eliminación disminuida de CO_2 por los pulmones:

$$\text{pH} \propto \frac{N\text{HCO}_3^-}{\uparrow (0.0307 \times \text{PCO}_2)} < \frac{20}{1} \quad (\text{Ec. 14-7})$$

La respiración se regula en la médula del cerebro. Los quimiorreceptores presentes en el arco de la aorta y el seno carotídeo responden a los niveles de H^+ (pH), O_2 y CO_2 en la sangre y líquido cerebroespinal. Hay varias situaciones, incluidas muchas enfermedades pulmonares, en que el CO_2 no se elimina efectivamente de la sangre. En ciertos pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), por ejemplo, cambios destructivos en las vías aéreas y las paredes alveolares incrementan el tamaño de los espacios aéreos alveolares, con la reducción resultante del área superficial pulmonar disponible para el intercambio de gas. Como resultado, el CO_2 es retenido en la sangre,

causando hipercarbia crónica (PCO_2 elevado). En la bronconeumonía, el intercambio de gases se impide debido a secreciones, glóbulos blancos, bacterias y fibrina en los alvéolos. La hipoventilación causada por fármacos como barbitúricos, morfina o alcohol aumentará los niveles de PCO_2 sanguíneos, además de la obstrucción mecánica o la asfixia (estrangulación o aspiración). La reducción en el rendimiento cardíaco, como se ha visto en la cardiopatía congestiva, también producirá el envío de menos sangre a los pulmones para el intercambio de gases y, por lo tanto, un PCO_2 elevado.

En la acidosis respiratoria primaria, la compensación ocurre mediante procesos no respiratorios. Los riñones aumentan la excreción de H^+ y la recuperación de HCO_3^- . Aunque la compensación renal comienza de inmediato, se lleva días a semanas para que la compensación máxima ocurra. Cuando el HCO_3^- en la sangre aumenta como resultado de la acción de los riñones, se alterará el cociente base a ácido y el pH volverá a la normalidad.

La alcalosis no respiratoria primaria es producto de un aumento en el HCO_3^- , causando un aumento en el componente y un aumento en el pH:

$$\text{pH} \propto \frac{\uparrow \text{HCO}_3^-}{N(0.0307 \times \text{PCO}_2)} > \frac{20}{1} \quad (\text{Ec. 14-8})$$

Esta condición es resultado de la administración excesiva de bicarbonato de sodio o a través de la ingesta de sales productoras de bicarbonato, como lactato de sodio, citrato, o acetato. La pérdida excesiva de ácido debida a vómito, succión nasogástrica o uso prolongado de diuréticos que aumenta la excreción renal de H^+ , puede producir un aumento evidente de HCO_3^- . El cuerpo responde deprimiendo el centro respiratorio. La hipoventilación resultante aumenta la retención del CO_2 .

La alcalosis respiratoria primaria debida a una tasa aumentada de la ventilación alveolar causa la eliminación excesiva del CO_2 por los pulmones:

$$\text{pH} \propto \frac{N\text{HCO}_3^-}{\downarrow (0.0307 \times \text{PCO}_2)} > \frac{20}{1} \quad (\text{Ec. 14-9})$$

Entre las causas de la alcalosis respiratoria se incluyen *hipoxemia*; estímulo químico del centro respiratorio por fármacos, como salicilatos; aumento en la temperatura ambiental; fiebre; histeria (hiperventilación); embolia pulmonar; y fibrosis pulmonar. Los riñones compensan excretando HCO_3^- en la orina y recuperando H^+ para la sangre. El tratamiento popular para la hiperventilación histérica (respiración dentro de una bolsa de papel), se explica por sí solo.

INTERCAMBIO DE OXÍGENO Y GAS

Oxígeno y bióxido de carbono

La función del oxígeno en el metabolismo es crucial para toda la vida. En la mitocondria de la célula, los pares de electrones de la oxidación del NADH y FADH_2 se transfieren al oxígeno molecular, lo que causa la liberación de la

ESTUDIO DE CASO 14-3

Se lleva a un estudiante graduado de 24 años a urgencias en estado comatoso, después de que se le encontró inconsciente en su cuarto. Sobre su cama había una botella de secobarbital. No respondía a estímulos dolorosos, su respiración era apenas perceptible y su pulso era débil. Se obtuvieron los gases en sangre y arrojaron los resultados siguientes:

pH = 7.10
 PCO_2 = 70 mmHg
 PO_2 = 58 mmHg
 HCO_3^- = 20 mmol/L
 O_2Hb = 80% (rango de referencia, >95%)

Preguntas

1. ¿Cuál es el estado acidobase del paciente?
2. ¿Qué causó la hipoventilación profunda?
3. Una vez que el componente respiratorio vuelva a la normalidad, ¿cuál será el estado acidobase esperado del paciente?

energía usada para sintetizar ATP a partir de la fosforilación de ADP. Aunque la medida del O_2 intracelular no es factible con la tecnología actual, la evaluación del estado de oxígeno del paciente es posible usando la presión parcial de oxígeno (PO_2) medida con el pH y PCO_2 en el análisis de gas en la sangre.

Para la oxigenación tisular adecuada, son necesarias las siguientes siete condiciones: a) oxígeno atmosférico disponible, b) ventilación adecuada, c) intercambio de gas entre los pulmones y la sangre arterial, d) carga del O_2 en la hemoglobina, e) hemoglobina adecuada, f) transporte adecuado (ritmo cardíaco) y g) liberación de O_2 en tejido. Cualquier alteración de estas condiciones puede dar lugar a la mala oxigenación del tejido.

La cantidad de O_2 disponible en aire atmosférico depende de la presión barométrica (PB). A nivel del mar, la PB es 760 mmHg. (En el Sistema Internacional de Unidades, 1 mmHg = 0.133 kPa, donde 1 Pa = 1 N/m².) La ley de Dal-

ton establece que la presión atmosférica total es la suma de las presiones de los gases individuales. Una atmósfera ejerce 760 mmHg de presión y se compone de O_2 (20.93%), CO_2 (0.03%), nitrógeno (78.1%), y gases inertes (alrededor de 1%). El porcentaje de cada gas es igual en todas las altitudes; la presión parcial de cada gas en la atmósfera es igual a la PB a una altitud particular manteniendo el porcentaje apropiado para cada gas. La presión del vapor de agua (47 mmHg a 37°C) debe tomarse en cuenta al calcular la presión parcial de los gases individuales (fig. 14-3). En el cuerpo, estos gases siempre están por completo saturados con agua. Por ejemplo,

Presión parcial del O_2 a nivel del mar (en el cuerpo) = (760 mmHg – 47 mmHg) \times 20.93% = 149 mmHg (a 37°C)

Presión parcial del CO_2 a nivel del mar (en el cuerpo) = (760 mmHg – 47 mmHg) \times 0.03% = 0.2 mmHg (a 37°C)

ESTUDIO DE CASO 14-4

Se aceptó a un hombre himalayano de 24 años en una universidad estadounidense. Antes de salir de su país, se le hizo un examen físico extenso que incluyó varios análisis de sangre. Cuando el personal médico de la universidad de Estados Unidos revisó su expediente médico, se observó que todos los resultados de la prueba eran normales excepto el HCO_3^- , que era de 15 mmol/L (rango de referencia, 22 a 26 mmol/L). El HCO_3^- se hizo por separado en una muestra de suero. No fue parte de un panel de gas en sangre. Para descartar la acidosis no respiratoria, el médico de la universidad solicitó repetir el HCO_3^- . El valor repetido fue 24 mmol/L.

Preguntas

1. ¿Fue válida la suposición inicial de una acidosis no respiratoria?
2. ¿Cuál sería la mejor descripción del disturbio de acidobase?
3. ¿Por qué, en la repetición de la prueba, el HCO_3^- volvió a ser normal?

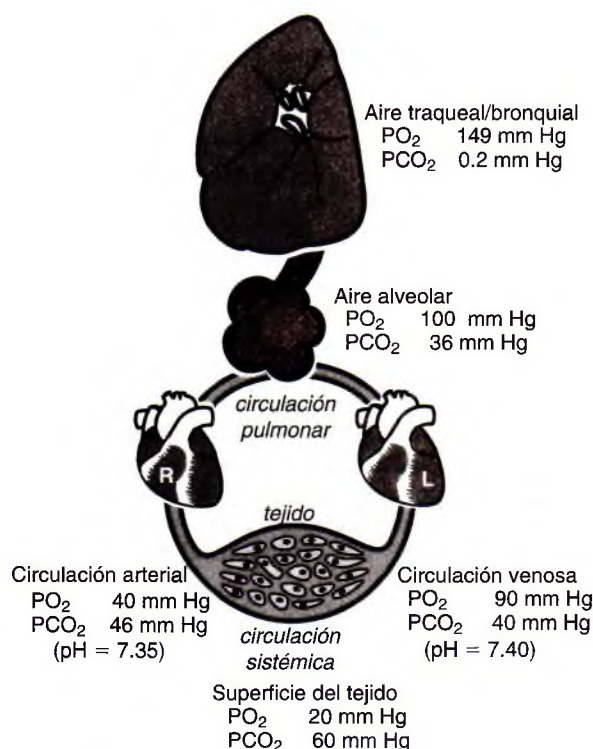


FIGURA 14-3. Contenido de gas en pulmones y circulación pulmonar y sistémica.

El aire es introducido a los pulmones mediante la expansión de la cavidad torácica, que crea un gradiente temporal de presión negativa, causando que el aire se introduzca en las numerosas ramas traqueales y los alvéolos. Al principio de la inspiración, estas vías aéreas todavía están llenas de aire (gas) retenido de la espiración previa. Este aire, llamado *aire del espacio muerto*, diluye el aire recién inspirado. Éste, además de ser diluido en cierto sentido, se calienta a 37°C y se satura por completo con el vapor de agua. El PO_2 en los alvéolos promedia cerca de 110 mmHg en vez del potencial de 150 mmHg (esperado sin la dilución del aire del espacio muerto y sin tenerlo en cuenta para la presión de vapor del agua). Tres factores más influyen en el PO_2 de los alvéolos: *a)* el porcentaje del O_2 en el aire inspirado puede aumentar respirando mezclas del gas hasta el 100% de O_2 , y cuanto más alta sea la concentración de O_2 suplementario inspirado, más alta será la fracción del oxígeno inspirado (FiO_2); *b)* la cantidad de PCO_2 en el aire espirado diluye el aire inspirado de modo que un paciente con metabolismo incrementado (p. ej., hipertermia) puede producir más CO_2 que puede ser eliminado, aumentando el PCO_2 en la sangre del gas espirado; y *c)* la proporción del volumen de aire inspirado entre el volumen de aire del espacio muerto. El volumen de espacio muerto (en las vías aéreas) es por lo general constante porque está controlado por la anatomía; las personas con respiración poco profunda tienen menos aire “fresco” entrando en los pulmones que quienes respiran profundo.

Muchos factores influyen en la cantidad de O_2 que pasa de los alvéolos a la sangre y después al tejido. Entre los más comunes están:

- La destrucción de los alvéolos. El área superficial normal de los alvéolos es tan grande como una cancha de tenis. Cuando el área superficial se destruye a un valor críticamente bajo debido a enfermedades como enfisema, O_2 insuficiente pasará a la sangre.
- Edema pulmonar. El gas se difunde de los alvéolos a los capilares a través de un espacio pequeño. Con el edema pulmonar, los líquidos “se filtran” en este espacio, aumentando la distancia entre los alvéolos y las paredes capilares, causando una barrera para la difusión.
- Obstrucción de las vías respiratorias. Las vías respiratorias pueden ser obstruidas, evitando que el aire de la atmósfera entre a los alvéolos. El asma y la bronquitis son las causas más comunes de este problema.
- Suministro inadecuado de la sangre. Cuando el suministro de sangre al pulmón es inadecuado, la cantidad de O_2 que se incorpora a la sangre es suficiente, pero no se está llevando la sangre suficiente al tejido donde es necesaria. Ésta puede ser la consecuencia de una obstrucción en un vaso sanguíneo pulmonar (embolia pulmonar), hipertensión pulmonar, o una cardiopatía.
- Difusión de CO_2 y O_2 . Debido a que el O_2 se difunde 20 veces más lento que el CO_2 , es más sensible a los problemas de difusión. Las alteraciones estructurales o fisiológicas del cauce alveolar-capilar deterioran la captura de O_2 con una alteración mínima de la excreción de CO_2 . Este tipo de hipoxemia se trata por lo general con O_2 suplementario. Es posible aumentar el porcentaje de O_2 de manera temporal cuando se necesite; sin embargo, las concentraciones de O_2 de 60% o más altas deben usarse con precaución porque pueden ser tóxicas para los pulmones.

Transporte de oxígeno

La hemoglobina transporta casi todo el O_2 de la sangre arterial al tejido. Cada molécula de hemoglobina (A_1) de un adulto puede combinarse de manera reversible con un máximo de cuatro moléculas de O_2 . La cantidad real de O_2 transportado por la hemoglobina depende de la disponibilidad de O_2 ; la concentración y el tipo de hemoglobina presente; la presencia de sustancias que interfieren, como monóxido de carbono (CO); el pH; la temperatura de la sangre; y los niveles de PCO_2 y de 2,3-DPG. Con el adecuado O_2 atmosférico y alveolar disponible, y con la difusión normal del O_2 en la sangre arterial, más de 95% de la hemoglobina “funcional” (hemoglobina capaz de combinarse de manera reversible con O_2) se combina con O_2 . Si se incrementa la disponibilidad del O_2 satura aún más la hemoglobina. Sin embargo, una vez que la hemoglobina se ha saturado a 100%, un aumento en el O_2 en los alvéolos sólo sirve para incrementar la concentración del O_2 disuelto (dO_2) en la sangre arterial. Esto ofrece un aumento mínimo en la liberación de oxígeno. La administración prolongada de altas concentraciones de O_2 puede causar toxicidad por oxígeno y, en algunos casos, ventilación

disminuida que lleva a la hipercarbia. La capacidad de la hemoglobina de transportar O_2 puede ser afectada de forma significativa por otras moléculas. Por lo general la hemoglobina de la sangre está presente en una de estas cuatro condiciones:

1. Oxihemoglobina (O_2Hb), en que el oxígeno está combinado de manera reversible con la hemoglobina.
2. Desoxihemoglobina (HHb; hemoglobina reducida), que es hemoglobina no enlazada al O_2 pero capaz de formar un enlace cuando el O_2 está disponible.
3. Carboxihemoglobina (COHb), que es hemoglobina unida al CO. El enlace entre el CO y Hb es reversible, pero es casi 200 veces más fuerte que el enlace entre el O_2 y la Hb.
4. Metahemoglobina (MetHb), es la hemoglobina incapaz de enlazarse al O_2 porque el hierro (Fe) está en un estado más oxidado que reducido. La enzima reductasa de la hemoglobina, que se encuentra en los glóbulos rojos, puede reducir el Fe^{3+} .

Los espectrofotómetros indicados (cooxímetros), que se discuten más adelante en este capítulo, se utilizan para determinar las concentraciones relativas (en relación con la hemoglobina total) de cada uno de estas formas de la hemoglobina.

Cantidades relacionadas con la evaluación del estado de oxigenación del paciente

Los cuatro parámetros que suelen usarse para evaluar el estado de oxigenación del paciente son la saturación de oxígeno (SO_2); oxihemoglobina fraccional medida (porcentual) (FO_2Hb); tendencias en la saturación de O_2 evaluado por vía transcutánea, valoración de oximetría de pulso (SpO_2); y la cantidad de O_2 disuelto en el plasma (PO_2).

La *saturación del oxígeno* (SO_2) representa el cociente de O_2 que está unido a la proteína transportadora, la hemoglobina, comparada con la cantidad total de hemoglobina capaz de unirse al O_2 .²

$$SO_2 = \frac{cO_2Hb}{(cO_2Hb + cHHb)} \times 100 \quad (\text{Ec. 14-10})$$

El símbolo c representa la concentración. El software incluido en los instrumentos del gas sanguíneo puede calcular el SO_2 a partir del PO_2 , pH y temperatura de la muestra. Sin embargo, estos resultados calculados pueden diferir de forma significativa de los determinados por la medición directa debido a la suposición de que sólo la hemoglobina de un adulto está presente y la curva de la disociación de la oxihemoglobina tiene una forma y una localización específicas. Estos algoritmos para el cálculo no explican las otras formas de la hemoglobina, como COHb y MetHb, que son incapaces de unirse de manera reversible al O_2 . Debido al potencial para generar la información errónea, el SO_2 calculado no se debe utilizar para evaluar el estado de oxigenación.^{2,3}

Oxihemoglobina fraccional (o porcentual) (FO_2Hb) es la proporción de la concentración de oxihemoglobina entre la de la hemoglobina total (ctHb),

$$FO_2Hb = \frac{cO_2Hb}{ctHb} = \frac{cO_2Hb}{cO_2Hb + cHHb + dysHb} \quad (\text{Ec. 14-11})$$

donde $cdysHb$ representa derivados de la hemoglobina, como COHb, que no pueden unirse de manera reversible con el O_2 , pero aún son la parte fija de la medida de la hemoglobina "total".

Estos dos términos, SO_2 y FO_2Hb , pueden ser confusos porque, en la mayoría de los individuos sanos (y aun individuos con algunos estados de enfermedad), los valores numéricos para la SO_2 están cerca a los de FO_2Hb . Sin embargo, los valores para FO_2Hb y SO_2 se desviarán cuando las dishemoglobinas están presentes e incluso cuando el paciente es fumador, debido al enlace preferente del CO con la hemoglobina y a la pérdida resultante de hemoglobina unida al O_2 .

La *presión parcial del oxígeno disuelto en el plasma* (PO_2) es responsable de parte de las reservas de O_2 en el cuerpo. Un adulto sano que respira aire en una habitación tendrá un PO_2 de 90 a 95 mmHg. En el caso del volumen de sangre de un adulto de 5 L, sólo 13.5 ml de O_2 estarán disponibles a partir del PO_2 en plasma, en comparación con más de 1 000 ml de O_2 transportado como O_2Hb .

Las mediciones no invasivas para seguir las "tendencias" en la oxigenación se logran con la *oximetría de pulso* (SpO_2). Estos dispositivos pasan luz de dos o más longitudes de onda a través del tejido de los dedos del pie, o del oído. El oxímetro de pulso distingue entre la absorción de la luz como resultado de la oxihemoglobina y la dioxihemoglobina en el cauce capilar, y calcula la saturación de la oxihemoglobina. Debido a que SpO_2 no mide la COHb o algunas otras dishemoglobinas, se sobrestima la oxigenación cuando están presentes una o más. Además, la exactitud de la oximetría de pulso se ve comprometida por muchos factores, incluido el pulso disminuido como resultado de una mala perfusión y de anemia grave.

La cantidad máxima de O_2 que puede ser transportada por la hemoglobina en una cantidad dada de sangre es la *capacidad de oxigenación de la hemoglobina (combinación)*. El peso molecular del tetrámero de hemoglobina es 64.458 g/mol. Un mol de un gas perfecto ocupa 22.414 ml. Por tanto, cada gramo de hemoglobina transporta 1.39 ml de O_2 :

$$\frac{22.414 \text{ ml/mol}}{64.458 \text{ g/mol}} = 1.39 \text{ ml/g} \quad (\text{Ec. 14-12})$$

Cuando la hemoglobina total (tHb) es 15 g/dl y la hemoglobina está 100% saturada con O_2 , la capacidad de O_2 es:

$$15 \text{ g/100 ml} \times 1.39 \text{ ml/g} = 20.8 \text{ ml } O_2 / 100 \text{ ml de sangre} \quad (\text{Ec. 14-13})$$

El *contenido de oxígeno* es el O_2 total en sangre y es la suma del O_2 combinado con la hemoglobina (O_2Hb) y la cantidad disuelta en el plasma (PO_2). (Debido a que PO_2 y

PCO_2 son sólo índices de la eficiencia del intercambio de gas en los pulmones, no revelan el *contenido* de cualquier gas en la sangre.) Para cada mmHg de PO_2 , 0.00314 ml de O_2 estarán disueltos en 100 ml de plasma a 37°C. Por ejemplo, si el PO_2 es de 100 mmHg, 0.3 ml de O_2 estarán disueltos en cada 100 ml de plasma sanguíneo. Por lo general, la cantidad de O_2 disuelto no es clínicamente significativa. Sin embargo, con un tHb bajo o en condiciones hiperbáricas, es una fuente significativa de O_2 para el tejido. Por lo general, de 98 a 99% de la hemoglobina disponible está saturada con el O_2 . Suponiendo un tHb de 15 g/dl, el contenido de O_2 por cada 100 ml de plasma sanguíneo sería

$$0.3 \text{ ml} + (20.8 \text{ ml} \times 0.97) = 20.5 \text{ ml}$$

(Ec. 14-14)

Disociación hemoglobina-oxígeno

Además de la ventilación adecuada y el intercambio de gas con la circulación pulmonar, el O_2 del gas se debe liberar en los tejidos. La hemoglobina transporta el O_2 . El aumento en la concentración de H^+ y en los niveles de PCO_2 en el tejido debido al metabolismo celular cambia la configuración molecular de O_2Hb , facilitando la liberación de O_2 .

El oxígeno se disocia de la hemoglobina de un adulto (A_1) de una manera característica. Si esta disociación se representa gráficamente (fig. 14-4) con PO_2 en el eje x y el porcentaje de SO_2 en el eje y, la curva que resulta es sigmoidea, o con una ligera forma de S. La hemoglobina “se sujeta” al O_2 hasta que la tensión del O_2 en el tejido se reduce alrededor de 60 mmHg. Por debajo de esta tensión, el O_2 se libera rápido. La posición de la curva de la disociación del oxígeno refleja la *afinidad* que la hemoglobina tiene por el O_2 y afecta el ritmo de esta disociación.

La actividad del ion hidrógeno, los niveles de PO_2 y CO , la temperatura del cuerpo, y 2,3-DPG pueden afectar la posición y la forma de la curva de disociación del

oxígeno, además de la afinidad de la hemoglobina por el O_2 . En el tejido con metabolismo activo, las condiciones en el microambiente promueven la liberación de oxígeno. El metabolismo oxidativo aumenta la temperatura, el H^+ , el O_2 y las concentraciones de 2,3-DPG en el tejido, lo que da lugar a un cambio a la derecha de la curva de la disociación. Esta afinidad disminuida de la hemoglobina por el O_2 promueve la liberación del oxígeno al tejido y permite que los pacientes, aun los que tienen niveles bajos de PO_2 y hemoglobina, se beneficien con el O_2 liberado. En los pulmones, la temperatura, el H^+ , el PCO_2 , y 2,3-DPG disminuyen en relación con los niveles del tejido, desplazando la curva de disociación de oxígeno de forma ligera a la izquierda. Esto aumenta el O_2 combinado con la hemoglobina y mejora la captura de O_2 . El subproducto metabólico, 2,3-DPG, también participa en dos adaptaciones sin relación aparente con condiciones en potencia hipóxicas. Cuando las cadenas β de la molécula de hemoglobina se enlazan con el 2,3-DPG, la disociación de la oxihemoglobina cambia a la derecha, con el aumento de la liberación de oxígeno. Muchos pacientes con ligeros síntomas de anemia muestran niveles elevados de 2,3-DPG, lo que explica, en parte, por qué pueden funcionar los pacientes con valores en extremo bajos de hemoglobina. Además, los niveles de 2,3-DPG aumentan como adaptación a una altitud elevada.

La hemoglobina es una molécula notable. Su estructura única permite que actúe como amortiguador acidobase y de O_2 . Como la hemoglobina recorre el cuerpo, su exposición a varios microambientes promueve la asociación y la disociación apropiadas de O_2 , CO_2 , y H^+ . En tejido, la exposición a CO_2 y H^+ lleva a una liberación mejorada de oxígeno (amortiguación de oxígeno). Esta liberación del oxígeno de la hemoglobina acelera la captura de CO_2 y H^+ por parte de la hemoglobina (amortiguación acidobase). En los pulmones, el microambiente promueve la captura de O_2 y la liberación del CO_2 .

Las dishemoglobinas, como la carboxihemoglobina (COHb) o metahemoglobina (MetHb), también afectan la disociación de la oxihemoglobina. Una elevación en el CO ocasionada por la exposición al humo de cigarrillo o al monóxido de carbono causa que la curva se desplace a la izquierda. Cuando el porcentaje de COHb se incrementa, la forma de la curva pierde algunas de sus características sigmoideas y se desplaza a la izquierda, dificultando aún más la liberación del O_2 unido a la hemoglobina.

La discusión anterior se refiere a la hemoglobina de un adulto normal (A_1). En pacientes con hemoglobinopatías y en recién nacidos, el patrón de la disociación puede diferir. Por ejemplo, la hemoglobina fetal causa un desplazamiento a la izquierda, pero con pequeño cambio en la forma sigmoidea.

MEDICIÓN

Determinación espectrofotométrica (cooxímetro) de la saturación del oxígeno

El *porcentaje real de la oxihemoglobina* (O_2Hb) se determina por espectrofotometría usando un cooxímetro diseñado

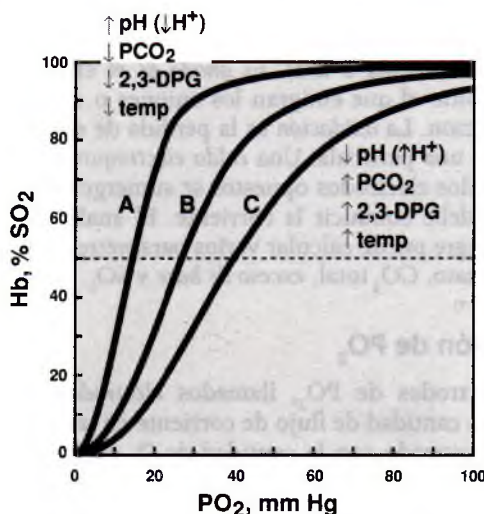


FIGURA 14-4. Curvas de disociación del oxígeno. La curva B es la curva humana normal. Las curvas A y C son de la sangre con afinidad incrementada y afinidad disminuida, respectivamente.

para medir de forma directa las diversas especies de hemoglobina. Cada especie tiene una curva de absorbencia característica (fig. 14-5). El número de especies de hemoglobina medidas dependerá del número y las longitudes de onda específicas incorporados en la instrumentación. Por ejemplo, los sistemas de instrumentos con dos longitudes de onda sólo pueden medir dos especies de hemoglobina (O_2Hb y HHb), que se expresan como una fracción o porcentaje de la hemoglobina total.

Los instrumentos, como mínimo, deben tener cuatro longitudes de onda para las mediciones de HHb , O_2Hb y las dos dishemoglobinas más comunes, $COHb$ y $MetHb$. Los instrumentos con más de cuatro longitudes de onda pueden reconocer tintas y pigmentos, turbiedad, otras especies de la hemoglobina y proteínas anormales. Los microprocesadores controlan la secuencia de múltiples longitudes de onda de la luz a través de la muestra y aplican las ecuaciones de matriz necesarias después de que se han hecho las lecturas de absorbencia para calcular el porcentaje de la especie de hemoglobina:

$$\begin{aligned} O_2Hb &= a_1A_1 + a_2A_2 + \dots + a_nA_n \\ HHb &= b_1A_1 + b_2A_2 + \dots + b_nA_n \\ COHb &= c_1A_1 + c_2A_2 + \dots + c_nA_n \\ MetHb &= d_1A_1 + d_2A_2 + \dots + d_nA_n \end{aligned} \quad (\text{Ec. 14-15})$$

donde a_1 , a_n , b_n , etc., son coeficientes que son análogos de la constante de absorción a que se derivan de métodos establecidos, y A_1 , A_2 , son las absorbencias de la muestra. Las ecuaciones de matriz cambiarán dependiendo del número de longitudes de onda de la luz (que es específico del fabricante) que pasan a través de la muestra. (El "cálculo" hecho con estos instrumentos no se debe confundir con el SO_2 calculado mediante un analizador de gas sanguíneo, que en realidad *estima* el valor a partir de un PO_2 medido y una ecuación empírica para la localización y forma de la curva de disociación oxígeno-hemoglobina.) Sólo los valores de O_2Hb reflejan el estado verdadero del paciente, porque el SO_2 calculado y los valores de O_2Hb serán muy diferentes en la presencia de dishemoglobinas. Por ejemplo, en el envenenamiento con CO , tal vez el

SO_2 será normal con un valor de O_2Hb significativamente disminuido.

Como en cualquier medida espectrofotométrica, existen fuentes de error, incluidas las fallas en la calibración del instrumento y las sustancias que interfieren en el espectro. La presencia de cualquier sustancia que absorbe la luz en las longitudes de onda usadas en la medición de cualquier pigmento de la hemoglobina puede ser una fuente de error. Deben consultarse las especificaciones de instrumentos para interferencias específicas.

Debido a que el principal objetivo para determinar O_2Hb es evaluar el transporte de oxígeno desde los pulmones, es mejor estabilizar el estado de la ventilación del paciente antes de tomar la muestra de sangre. Después de los cambios en el O_2 suplementario o la ventilación mecánica debe darse un periodo de espera apropiado antes de volver a tomar la muestra. Todas las muestras de sangre deben tomarse bajo condiciones anaerobias y mezclarse de inmediato con heparina u otro anticoagulante apropiado. Si el análisis de gas en la sangre no se realiza en la misma muestra, puede usarse ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como anticoagulante. Todas las muestras se deben analizar rápido para evitar cambios en la saturación como resultado del uso de oxígeno por parte de las células metabolizantes.^{2,4}

Analizadores de gas en la sangre: pH, PCO_2 y PO_2

Los analizadores de gas en la sangre utilizan electrodos (sensores macroelectroquímicos o microelectroquímicos) como dispositivos de detección para medir PO_2 , PCO_2 y pH. La medición de PO_2 es amperométrica, lo que significa que la cantidad de flujo de corriente es una indicación de la presencia de oxígeno. Las mediciones de PCO_2 y pH son potenciométricas; en ellas, un cambio en voltaje indica la actividad de cada analito.

El *cátodo* se puede definir por lo menos de tres maneras: a) el electrodo negativo, b) un sitio por el cual los cationes tienden a viajar o c) un sitio en que ocurre la reducción. La *reducción* es la ganancia de electrones por una partícula (átomo, molécula o ion). El *ánodo* es el electrodo positivo, el sitio al que emigran los aniones o en que ocurre la oxidación. La *oxidación* es la pérdida de electrones por parte de una partícula. Una *celda electroquímica* se forma cuando dos electrodos opuestos se sumergen en un líquido que debe conducir la corriente. El analizador de gas en la sangre puede calcular varios parámetros adicionales: bicarbonato, CO_2 total, *exceso de base* y SO_2 .

Medición de PO_2

Los electrodos de PO_2 , llamados *electrodos de Clarke*, miden la cantidad de flujo de corriente en un circuito que está relacionado con la cantidad de O_2 que se reduce en el cátodo. Una membrana permeable al gas que cubre la extremidad del electrodo permite selectivamente que el O_2 se difunda dentro de un electrolito y entre en contacto con el cátodo. Los electrones son atraídos de la superficie del ánodo a la del cátodo para reducir el O_2 . Un pequeño

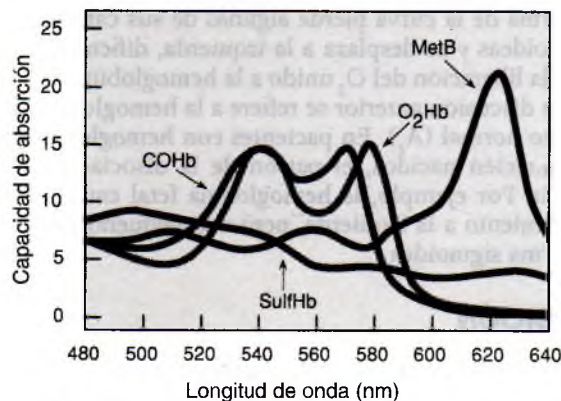


FIGURA 14-5. Absorción óptica de las fracciones de hemoglobina. (Reproducida con el permiso de Clin Chem News 1990 (enero).)

ESTUDIO DE CASO 14-5

Se admitió en urgencias a un hombre de 37 años. Le faltaba respiración, estaba mareado, sonrojado (hiperemia), sudaba mucho (diaforético) y sentía náuseas. Poco después de ser admitido, se obtuvieron los gases en sangre:

pH = 7.48
 PCO_2 = 32 mm Hg
 PO_2 = 96 mm Hg
 HCO_3^- = 24 mmol/L
 SO_2 = 98% (calculado)
 SpO_2 = 99% (saturación de oxígeno por oximetría de pulso)

Después de algunas horas, los síntomas del paciente se aliviaron y fue dado de alta. Dos semanas después, admitieron en urgencias al mismo paciente con los mismos síntomas. Esta vez, se obtuvo sangre arterial para las mediciones de gases en sangre y cooximetría, los resultados fueron los siguientes:

pH = 7.49
 PCO_2 = 33 mm Hg
 PO_2 = 95 mm Hg
 HCO_3^- = 23 mmol/L
 SO_2 = 98% (calculado) (rango de referencia, >95%)
 SpO_2 = 99% (saturación de oxígeno por oximetría de pulso) (rango de referencia, >95%)

Medición espectrofotométrica (cooxímetro) de las especies de la hemoglobina:

tHb = 13.5 g/L
 O_2Hb = 73% (rango de referencia, >95%)
 COHb = 22% (rango de referencia, <2%; más elevado en fumadores)
 MetHb = 1% (rango de referencia, <1.5%)

Preguntas

1. ¿El paciente estaba hipóxico en la primera admisión?
2. ¿Considerando los nuevos datos del laboratorio, este paciente está hipóxico en la segunda admisión a urgencias?
3. ¿Por qué hay una discrepancia entre el SO_2 calculado, SpO_2 , y O_2Hb ?
4. ¿Cuál es una causa posible de la falta de respiración del paciente y de la O_2Hb baja?

potencial de polarización constante (por lo general, -0.65 V) es aplicado entre el ánodo y el cátodo. Un micrómetro colocado en el circuito entre el ánodo y el cátodo mide el movimiento de los electrones (corriente). Cuatro electrones son atraídos por cada mol de O_2 reducido, lo que permite determinar PO_2 . La membrana semipermeable también permitirá que otros gases pasen, por ejemplo el CO_2 y el N_2 , pero estos gases no se reducirán en el cátodo si el voltaje polarizante se controla de manera firme.

La principal fuente de error para la medición de PO_2 se relaciona con la acumulación de material proteico en la superficie de la membrana. Esta acumulación retarda la difusión y la respuesta del electrodo. La contaminación bacteriana dentro del compartimiento medidor, aunque poco frecuente, consumirá el O_2 y causará valores bajos y vagos. Otros errores se relacionan por lo general con un mal funcionamiento del sistema, como la calibración incorrecta.

Las consideraciones no analíticas, incluidas la recolección y el manejo de muestras, se tratarán más adelante en este capítulo. Sin embargo, es muy importante que la muestra no se exponga al aire ambiente cuando se recolecta, transporta y se realizan mediciones de O_2 . La contaminación de la muestra con aire ambiente (PO_2 = 150

mmHg) puede dar lugar a un error significativo. Incluso después de la toma de la muestra, los leucocitos siguen metabolizando el O_2 . A menos que la muestra se analice de inmediato después de obtenerla, podrían verse valores bajos de PO_2 con altas cuentas de glóbulos blancos.

También es posible hacer mediciones continuas de PO_2 usando *electrodos transcutáneos* (TC) colocados de forma directa en la piel. La medida depende del oxígeno que se difunde de los capilares a través del tejido al electrodo. Aunque suele utilizarse en recién nacidos y niños pequeños, este método no invasivo no está libre de problemas. El grueso de piel y la perfusión del tejido con sangre arterial afectan los resultados de manera significativa. El calentamiento del electrodo colocado en la piel puede acelerar la difusión del O_2 al electrodo; sin embargo, pueden producirse quemaduras, a menos que los electrodos se muevan con regularidad. Aunque el PO_2 medido por estos electrodos refleja el PO_2 arterial, estos dos valores no son equivalentes. El consumo de oxígeno por parte del tejido en el sitio del electrodo, los efectos de calor en el tejido y la posible hipoperfusión ocasionada por inestabilidad cardiovascular contribuyen, en conjunto, a que el gradiente del O_2 tisular arterial sea impredecible.

ESTUDIO DE CASO 14-6

Se admitió en urgencias a un hombre de 48 años con diabetes e historial de abuso de alcohol. Tenía un ritmo cardíaco elevado (taquicardia) y experimentaba falta extrema de la respiración. Se obtuvo sangre para glucosa y gases en sangre, y se recolectó orina para cetonas:

Glucosa	= 570 mg/dl
Cetonas urinarias	= Gran cantidad (rango de referencia, negativo)
pH	= 7.00
PCO ₂	= 48 mm Hg
PO ₂	= 68 mm Hg
HCO ₃ ⁻	= 12 mmol/L
SO ₂	= 81% (calculado)
tHb	= 10 g/dl

Preguntas

1. ¿Es la acidemia del paciente resultado de disturbios respiratorios, no respiratorios, o una combinación de ambos?
2. ¿Si el paciente no tuviera problemas respiratorios, cómo clasificaría el disturbio acidobase?
3. ¿Cuál es el significado de la falta de respiración, de la taquicardia y del PCO₂ elevado?
4. ¿Cuál es el significado de las cetonas urinarias resultantes en relación con la identificación del tipo de diabetes?

Mediciones de pH y PCO₂

Para entender las mediciones potenciométricas, es útil pensar que átomos y iones tienen una energía química. Una concentración o *actividad* incrementada de los iones conduce a un aumento en la fuerza ejercida por esos iones.

Para medir cuánta fuerza (energía o potencial) posee un ion específico, se requieren ciertos elementos en el aparato de medición; es decir, dos electrodos (el electrodo de medición que responde al ion que se estudió y el electrodo de referencia) y un voltímetro, que mide la diferencia de potencial (ΔE) entre los dos electrodos. La diferencia de potencial está relacionada con la concentración del ion bajo estudio mediante la ecuación de Nernst:

$$\Delta E = \Delta E^\circ + \frac{0.05916}{n} \log a_i \quad \text{a } 25^\circ\text{C}$$

(Ec. 14-16)

donde ΔE° = potencial estándar de la celda electroquímica, n = carga del ion analito i , y a_i = actividad del ion analito i .

Para medir el pH, una membrana de cristal sensible a los H⁺ se coloca alrededor de un electrodo interno de Ag–AgCl para formar un electrodo medidor. El potencial que se desarrolla en la membrana de cristal como resultado de los H⁺ provenientes de la disolución desconocida que se difunden en la superficie de la membrana es proporcional a la diferencia en cH⁺ entre la muestra desconocida y la disolución reguladora dentro del electrodo. Para que el potencial desarrollado en la membrana de cristal pueda ser medido, debe introducirse un electrodo de la referencia en la disolución y ambos electrodos deben conectarse a un medidor de pH (volt). El electrodo de referencia (por lo general un calomel [Hg–HgCl] o una media celda de Ag–AgCl) mantiene un voltaje de referencia constante contra el que se comparan los cambios de voltaje del

electrodo medidor. El medidor de pH refleja la diferencia de potencial entre los dos electrodos.

En el caso de la celda descrita, la ecuación de Nernst predice que un cambio de + 59.16 mV, a 25°C, es el resultado de un aumento de diez veces en la actividad de los H⁺ o una disminución de una unidad de pH entera (p. ej., pH 7.0 a 6.0). El cambio en la temperatura afecta la respuesta. A 37°C, un cambio de 1 unidad de pH provoca un cambio a 61.5 mV. La membrana de cristal del electrodo medidor debe mantenerse libre de acumulación de proteína porque el recubrimiento de la membrana causa respuestas inactivas o erráticas.

El PCO₂ se determina con un electrodo de pH modificado, al que se le llama *electrodo de Severinghaus*. Una membrana semipermeable externa que permite que el CO₂ se difunda en una capa del electrólito, por lo general un amortiguador del bicarbonato, cubre al electrodo de pH de cristal. El CO₂ que se difunde a través de la membrana reacciona con el amortiguador, formando el *ácido carbónico*, que luego se disocia en bicarbonato más H⁺. El cambio en la actividad de los H⁺ se mide con el electrodo de pH y se relaciona con el PCO₂.

Como con los otros electrodos, la acumulación de material de proteína en la membrana afectará la difusión y causará errores. Los electrodos de PCO₂ son los más lentos para responder, debido a la reacción química que debe terminarse. Otras fuentes de error incluyen la calibración errónea causada por materiales de calibración incorrectos o contaminados.

Tipos de sensores electroquímicos

Los *sensores de macroelectrodos* se han utilizado en instrumentos para gas sanguíneo desde los inicios de la medición clínica de este gas. Se han modificado con el tiempo en un esfuerzo por simplificar su uso y reducir el volumen de la

ESTUDIO DE CASO 14-7

Una mujer de 64 de años con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) fue admitida en urgencias con falla respiratoria extrema. Tenía un color azulado que era muy pronunciado en sus labios y en la base de las uñas, y exhibía una tos débil y persistente con sonidos respiratorios disminuidos pero golpeantes. La automedicación incluía broncodilatadores, esteroides, Lasix (un diurético que no conserva el potasio del plasma), y digital. Signos vitales: ritmo cardíaco, 148; presión arterial, 100/88; temperatura, 37; y ritmo respiratorio, 38. Los resultados iniciales de gas en sangre realizados en presencia de aire ambiente fueron:

pH = 7.289
 PCO_2 = 91 mm Hg
 PO_2 = 53 mm Hg
 HCO_3^- = 43 mmol/L

Preguntas

1. ¿Cuál es el estado acidobase del paciente?
2. ¿El pH sería normal si el paciente pudiera reducir su PCO_2 a 50 mm Hg?
3. ¿Además de la EPOC, qué condición contribuyó probablemente a su pobre intercambio de gas (hipercarbia e hipoxemia)?

Se le trató con un bolo de Lasix intravenoso y dos tratamientos respiratorios con albuterol (broncodilatador). Sus signos vitales mejoraron: ritmo cardíaco, 124; presión arterial, 120/80; y ritmo respiratorio, 22. Los gases en la sangre fueron repetidos con el paciente respirando O_2 al 28% ($\text{FiO}_2 = 0.28$):

pH = 7.306
 PCO_2 = 75 mm Hg
 PO_2 = 78 mm Hg
 HCO_3^- = 36 mmol/L

Preguntas

1. ¿Se debe administrar más oxígeno a este paciente?
2. ¿Cómo beneficiaron al paciente la administración de Lasix y el tratamiento respiratorio?
3. ¿Qué electrólito crítico se debe supervisar de cerca en el manejo de este caso?

muestra y el mantenimiento requeridos. Los *microelectrodos* son, en esencia, macroelectrodos miniaturizados. La miniaturización llegó a ser posible con las mejores posibilidades de fabricación y con el desarrollo de la electrónica sofisticada requerida para manejar cambios minúsculos en señales.

La *tecnología de película gruesa y fina* es otra modificación de los sensores electroquímicos. Aunque el principio de medición es idéntico, los sensores se reducen a alambres minúsculos ensamblados en una tarjeta de circuito impreso. La tarjeta especial tiene surcos grabados para separar los componentes. Un material de goma especial que contiene los componentes requeridos (de función similar a los electrólitos de los macroelectrodos) está extendida sobre los sensores. Para reducir el volumen de muestra requerido, se colocan varios sensores en una sola tarjeta pequeña. Estos sensores son desechables y su fabricación resulta menos costosa, lo que reduce el mantenimiento.

Sensores ópticos

Otra tecnología para las mediciones de gas en la sangre se basa en el hecho de que ciertos tintes fluorescentes reaccionan predeciblemente con productos químicos específicos, como O_2 , CO_2 y H^+ . El tinte está separado de la muestra

por una membrana, como en el caso de los electrodos, y el analito se difunde en la tinta, lo que causa un aumento o una atenuación de la fluorescencia proporcional a la cantidad de analito. La calibración se utiliza para establecer la relación entre la concentración y la fluorescencia. Por lo general, una sola calibración será suficiente por períodos largos porque esta tecnología no está sujeta a las desviaciones vistas en la tecnología electroquímica.

La tecnología óptica se ha aplicado a los sistemas de gas en la sangre internados en un órgano. Los paquetes fibroópticos llevan la luz a sensores colocados en la punta de catéteres y otros paquetes regresan la luz, permitiendo que los cambios en la fluorescencia se midan en un catéter dentro del sistema arterial del paciente. El desarrollo comercial de sistemas internos ha estado limitado por la probabilidad creciente de trombogénesis y acumulación de proteína en la membrana, al separar la muestra de los tintes fluorescentes. Esta acumulación impide la difusión libre de la muestra en el compartimiento medidor.

Calibración

La temperatura es un factor importante en la medición de pH y gases en sangre. La ecuación de Nernst especifica la salida del voltaje esperada de una celda electroquímica a

una temperatura dada. Si la temperatura del sistema de medición cambia, la salida (voltaje) cambiará. La solubilidad de gases en un medio líquido también depende de la temperatura: a medida que baja la temperatura, la solubilidad del gas aumenta. Debido a que las mediciones de pH y de gas en la sangre son demasiado sensibles a la temperatura, es fundamental que el electrodo del compartimiento de la muestra se mantenga a una temperatura constante para todas las mediciones. Todos los analizadores de gas en la sangre tienen compartimientos del electrodo controlados por termostato a $37^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}$.

El electrodo de pH suele calibrarse con dos disoluciones amortiguadoras trazable a los estándares preparados por el *National Institute of Standards and Technology (NIST)*. *Trazable* significa por lo general que el valor real del calibrador se ha determinado usando un estándar del NIST como referencia. Por lo común, un calibrador está cerca de 6.8 y el otro de 7.38 porque la mayor parte de los electrodos del pH producen un voltaje de "0" en este punto. Los calibradores se deben almacenar a la temperatura indicada y no exponer al aire ambiente debido a los cambios del pH con la absorción del CO_2 .

La calibración de cualquier analizador de gas en la sangre puede variar dependiendo del fabricante. Por lo general, dos mezclas de gas se utilizan para PCO_2 y PO_2 . Un gas no tiene O_2 para fijar el punto cero del electrodo de O_2 (que suele ser un punto estable). El mismo gas debe tener casi 5% de CO_2 porque éste es (potencial cero y estable) el punto nulo para el electrodo de CO_2 . El otro gas establece la ganancia (es decir, la variación en la señal del electrodo relacionada con el cambio del analito). El gas puede tener cualquier valor.

Casi todos los instrumentos se calibran por sí solos (calibración automática a intervalos especificados) y están programados para indicar un error en la calibración si la señal electrónica del electrodo es inconsistente con el valor previamente programado. Por ejemplo, si el valor o los valores obtenidos durante la calibración exceden un límite de tolerancia programado, se marcará un error de *desplazamiento* a la hora de la calibración, y deberán tomarse acciones correctivas antes de que se analicen las muestras del paciente.

Parámetros calculados

Es posible calcular varios parámetros acidobase a partir de las mediciones de pH y PCO_2 . Los fabricantes de los instrumentos de gas en la sangre incluyen algoritmos para realizar los cálculos. Ningún parámetro calculado tiene uso universal; muchos médicos tienen parámetros "preferidos" para la identificación de varias patologías.

El cálculo de HCO_3^- se basa en la ecuación de Henderson-Hasselbalch. Puede calcularse cuando el pH y el PCO_2 son conocidos. Una suposición básica es que el pK' del sistema amortiguador de bicarbonato en plasma a 37°C es 6.1.

La concentración de *ácido carbónico* se puede calcular usando el coeficiente de solubilidad del CO_2 en plasma a 37°C . La solubilidad constante para convertir PCO_2 a

milimoles por litro de H_2CO_2 es 0.0307. Si la temperatura o la composición del plasma cambia (p. ej., un aumento en lípidos, en que los gases son más solubles), la constante debe cambiar.

El *contenido total de bióxido de carbono* (ctCO_2) es el bicarbonato más el CO_2 disuelto (ácido carbónico) más el CO_2 relacionado con proteínas (carbamatos). Un analizador de gas en sangre se aproxima a ctCO_2 sumando los valores del bicarbonato y el ácido carbónico ($\text{ctCO}_2 = \text{HCO}_3^- + [0.0307 \times \text{PCO}_2]$).

Algunos clínicos usan *exceso de base* para determinar el componente (metabólico) no respiratorio de un desorden acidobase del paciente. El exceso de base se calcula con un algoritmo que utiliza el pH, el PCO_2 y la hemoglobina del paciente. Un valor positivo (exceso de base) indica un exceso de bicarbonato o un déficit relativo de ácido no carbónico y sugiere *alcalosis (metabólica) no respiratoria*. Un valor negativo (déficit de base) indica un déficit de bicarbonato o exceso relativo de ácidos no carbónicos y sugiere *acidosis (metabólica) no respiratoria*. Sin embargo, la alcalosis o la acidosis no respiratoria indicadas pueden ser resultado de alteraciones primarias o de mecanismos compensatorios. Por lo tanto, no deben usarse valores de exceso de base en la evaluación del estado acidobase del paciente.

Corrección de la temperatura

Los valores de pH, PCO_2 y PO_2 son dependientes de la temperatura. Por conveniencia, todas estas mediciones se realizan a 37°C . La pregunta sería: "Cuando la temperatura corporal del paciente difiere de 37°C , ¿los valores de gas en la sangre deben 'corregirse' a la temperatura real del paciente?". Aunque el software del instrumento de gas en la sangre puede realizar de manera fácil la corrección, los datos pueden ser confusos porque se deben utilizar los rangos de referencia apropiados *para la temperatura del paciente* para la interpretación adecuada. Como referencia, los resultados suelen informarse a 37°C cuando los valores también se dan a la temperatura real del paciente.

ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Consideraciones preanalíticas

Las mediciones de gas en sangre, como todas las mediciones del laboratorio, están sujetas a errores preanalíticos, analíticos, y posanalíticos. Sin embargo, unas cuantas mediciones adicionales que son afectadas por errores preanalíticos: las introducidas durante la recolección y el transporte de las muestras antes del análisis.^{2,4}

En la figura 14-6 se describe el ciclo del aseguramiento de la calidad. Los pasos incluidos en el área analítica están bajo control directo del laboratorio. Debido a que gran parte del ciclo del aseguramiento de la calidad se encuentra fuera del laboratorio, el laboratorista debe tener un papel activo en la educación de *toda* la gente involucrada en el desarrollo de políticas y procedimientos para controlar todos los procesos del ciclo para asegurar la calidad.

Sólo el personal que tiene experiencia con el equipo y la técnica de obtención, y que cuenta con conocimientos

ESTUDIO DE CASO 14-8

Una mujer de 23 años con un historial de asma es llevada a urgencias en una ambulancia. Su respiración era en extremo corta. Su nivel de conciencia estaba gravemente disminuido, y sólo podía responder a las preguntas asintiendo con una sola palabra. Tenía una tos débil, con sonidos respiratorios casi nulos. Después de obtener los gases de sangre, le proporcionaron oxígeno suplementario. Signos vitales: ritmo cardíaco, 160; presión arterial, 120/84; temperatura, 37; y ritmo respiratorio, 36. Sus resultados de gas en la sangre inicial y de hemoglobina total fueron:

pH = 7.330
 PCO_2 = 25 mm Hg
 PO_2 = 58 mm Hg
 HCO_3^- = 13 mmol/L
 tHb = 12.4 g/L

de las posibles fuentes de error puede manejar las muestras para el análisis del pH y de gas en la sangre. Debido a que la toma de muestra puede ser dolorosa y ocasionar la hiperventilación en el paciente, lo que baja el PCO_2 y aumenta el pH, la capacidad de tranquilizar al paciente es esencial. La elección del lugar (arteria radial, braquial, femoral o temporal) suele ser una costumbre dentro de una institución, dependiendo de la población de pacientes predominantes (p. ej., pacientes pediátricos, con quemadura, externos, etc.). La publicación *Procedures for the Collection of Arterial Blood Specimens* del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) es una referencia excelente.⁴

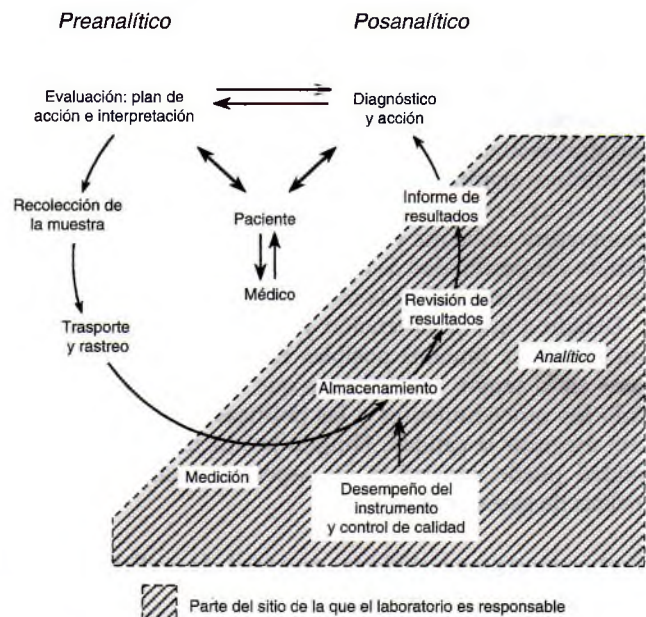
Se recomienda el uso de muestras arteriales para los estudios de pH y gas en la sangre. Sin embargo, pueden usarse muestras de venas periféricas si no se están evaluando la función pulmonar o el transporte de O_2 . En el caso de las muestras venosas, la fuente debe identificarse de manera clara y deben incluirse los rangos de referencia (venosos) apropiados para la interpretación de datos con los resultados. Dependiendo del paciente, tal vez deba usarse la sangre capilar en la medición de pH y PCO_2 . Aunque la correlación con la sangre arterial es buena para el pH y PCO_2 , los valores de PO_2 capilar, aun con calentamiento de la piel antes de obtener la muestra, no se correlacionan bien con los valores arteriales de PO_2 como resultado de la exposición de la muestra al aire ambiente. Se deben obtener muestras de sangre venosa central (arteria pulmonar) para determinar el consumo de O_2 , que se calcula de la diferencia entre el contenido de O_2 de la sangre arterial y la sangre arterial pulmonar multiplicada por el rendimiento cardíaco.

Entra las fuentes de error en la recolección y el manejo de muestras de gas en la sangre se incluyen el dispositivo recolector, la forma y concentración de la heparina, la velocidad del llenado de la jeringa, el mantenimiento del ambiente anaeróbico, la mezcla de la muestra para asegu-

Preguntas

1. ¿Cuál es el estado acidobase y de oxigenación del paciente?
2. ¿Cuál es la causa del disturbio acidobase?
3. ¿Podría el pH ser normal si el PCO_2 del paciente aumentó a 40 mm Hg?
4. ¿El asma suele presentarse de este modo?
5. ¿Qué resultados clínicos son los más indicativos de este deterioro inminente del paciente?

Ciclo de aseguramiento de la calidad del análisis de gas en sangre



© Robert F. Moran

FIGURA 14-6. Ciclo de aseguramiento de la calidad del análisis de gas en la sangre. (Reproducido con permiso de Robert F. Moran.)

rar la disolución y la distribución del anticoagulante de la heparina, y el transporte y el tiempo de almacenamiento antes del análisis. Para la interpretación apropiada de los resultados del gas en la sangre, se debe documentar el estado del paciente cuando se toma la muestra en términos de la ventilación (en el aire ambiente o el O_2 suplementario), la temperatura y la postura.

El dispositivo recomendado para la toma de muestras de sangre arterial es una jeringa plástica preheparinizada. Los tubos de recolección evacuados no son apropiados para gases en la sangre. Las formas seca y líquida de la heparina son anticoagulantes aceptables. Sin embargo, debido al potencial para la dilución de la muestra cuando se usan cantidades excesivas y posible contaminación de la heparina con aire ambiente, no se recomienda la heparina líquida.^{2,4} La sangre en la jeringa debe mezclarse con la heparina seca para evitar que se formen coágulos. Otra vez es importante realizar la mezcla adecuada de inmediato antes de que se inyecte o aspire la muestra dentro del analizador de gas en la sangre. Aunque se recomiendan las sales del sodio y de litio de la heparina para el análisis del pH y gas en la sangre, existen otras formas: amonio, cinc, electrólito balanceado y calcio titulado. La selección del tipo apropiado de heparina resulta en especial importante con los instrumentos que combinan análisis de gas en la sangre y electrólito. Es importante consultar la información del producto por parte del fabricante.

El llenado lento de la jeringa puede ser causado por un defecto en la unión de la jeringa con la aguja. Aunque una aguja demasiado pequeña reduce el dolor y, por lo tanto, la probabilidad de arteriospasma y hematoma, puede producir burbujas que afectan los valores de PCO_2 y PO_2 , además de la hemólisis, que es importante cuando el potasio se mide junto con el pH y los gases en la sangre. El mantenimiento de un entorno anaeróbico es crítico para obtener resultados correctos.

El tiempo de transporte de la muestra debe ser mínimo. Debido a que el enfriamiento en agua helada de las muestras contenidas en las jeringas de plástico puede causar cambios significativos en los valores de PO_2 , las pautas de la NCCLS recomiendan que las muestras se guarden a temperatura ambiente y se analicen en menos de 30 min.² Debido a la posibilidad de error preanalítico, la mejor práctica consiste en analizar la muestra lo más rápido posible.

Debido a que la obtención y el manejo de la muestra son fuente de muchos posibles errores en el análisis de gases en la sangre, es necesario que se elaboren con cuidado los procedimientos y las políticas, y que se vigilen para asegurar la calidad. Ningún producto de control de calidad puede supervisar los aspectos preanalíticos del análisis de gases en la sangre.

Evaluaciones analíticas: control de calidad y prueba de eficiencia

El control de calidad para los sistemas de sangre sólo evalúa la fase analítica del proceso de prueba. Aunque un laboratorio trate de elegir un material de control que imite lo más posible a las muestras de pacientes reales, esto es imposible para los gases de la sangre. Por tradición, el control de calidad para los gases de la sangre ha incluido el análisis de controles líquidos comerciales, muestras para medir por tono, y duplicado de muestras de pacientes.² Todos estos métodos tienen limitaciones. El método ideal incluiría cierta combinación de las tres.

Los materiales comerciales de control líquido son la base de casi todas las prácticas del control de calidad.⁵ Por lo

general, se venden en ampolletas de cristal selladas que contienen soluciones equilibradas con gases. El analista puede estudiarlas, o pueden colocarse en un dispositivo para que el instrumento realice el análisis automático en los intervalos programados. Algunos fabricantes ahora almacenan los mismos niveles de material de control líquido en una bolsa sellada que se coloca en el analizador para el análisis automático. Lo ideal sería que tales materiales resultaran estables y tuvieran una variación mínima.

Hay controles líquidos disponibles en por lo menos tres niveles, correspondientes a los valores bajo, esperado o "normal" y elevado para cada uno de los analitos medidos, que pueden incluir analitos adicionales, como sodio, potasio, cloruro, lactato, calcio ionizado y magnesio, y glucosa. La estabilidad de los materiales es variable, y éstos son susceptibles a la variación de la temperatura en el almacenamiento y la manipulación. Cada uno se debe usar de la manera descrita por el fabricante para eliminar errores de precisión causados por el manejo incorrecto del material. Debido a que los materiales de control líquido tienen matrices significativamente diferentes a la sangre fresca, el laboratorista debe estar consciente de que tal vez no detecte los problemas que afectan las muestras de los pacientes, o que podría detectar errores originados por el manejo incorrecto de los controles comerciales. Los controles acuosos, los materiales de control de calidad más usados, tienen una solubilidad baja de O_2 , lo que los hace sensibles a los factores que afectan la determinación de PO_2 . Los controles acuosos deben estar a temperatura ambiente para el análisis. Las recomendaciones del fabricante deben seguirse de cerca o tal vez los valores de PO_2 no serán confiables. Los controles con contenido de hemoglobina y los basados en emulsión tienen una solubilidad de O_2 incrementada y resisten mejor los cambios en el O_2 .

La *tonometría* es el equilibrio de un líquido con los gases de concentración conocida y bajo condiciones controladas, como temperatura constante, presión barométrica, humidificación.² Es una manera relativamente económica de comprobar la precisión y la exactitud de las mediciones de PCO_2 y PO_2 cuando la sangre entera o materiales acuosos se miden por tonos. Cuando se utiliza sangre entera, a ésta se le considera la referencia del procedimiento para establecer la exactitud para el PCO_2 y el PO_2 ; sin embargo, se han documentado muchos problemas, que ocasiona que los laboratorios consideren a la medición por tonos demasiado incómoda y tardada.

Otro método son los *ensayos duplicados* que usan dos o más instrumentos para el análisis simultáneo de una muestra del paciente. Las *comprobaciones delta*, o la diferencia en los valores obtenidos en los dos instrumentos, a menudo detectan los problemas que podrían pasarse por alto con la rutina del control de calidad. Sin embargo, debe aplicarse un cuidado extremo para expeler el aire durante la réplica del análisis para asegurar valores confiables de PO_2 . La diferencia permisible en la realización duplicada en muestras de pacientes divididas debería ser más estrecha que la observada con controles de líquidos comerciales. Las discrepancias entre los resultados no proporcionan indicios sobre cuál punto de datos es incorrecto

o cuál instrumento está funcionando de manera incorrecta. Aunque es improbable que dos instrumentos tengan de forma simultánea el mismo error, esto no siempre es verdad. Por lo tanto, el método de los ensayos duplicados no puede usarse como único método de control de calidad. Utilizado junto con controles líquidos o tonometría, puede ser una técnica útil para detectar errores, y también para detectar y solucionar fallas en los instrumentos.

Otro método, en especial para dispositivos de prueba pequeños usados en el punto de interés, es el control de calidad electrónico, que incluye la sustitución de una revisión electrónica para evaluar la lectura del instrumento, su electrónica, o ambas, en lugar del análisis de una muestra de control. Aunque la comprobación de la electrónica del instrumento es esencial, ésta no es suficiente para asegurar que todo el proceso analítico está funcionando de forma correcta. Es necesario usar el control de calidad electrónico junto con otros procedimientos para monitorear la calidad del proceso de prueba total.

Un esquema eficaz de control de calidad también incluye la revisión por parte de colegas y el análisis duplicado de la muestra (en el mismo instrumento) para reducir al mínimo las insuficiencias de los controles comerciales que no son idénticas a la sangre. La revisión de colegas la proporciona el fabricante de los controles. La exactitud se estima al comparar el valor medio del laboratorio obtenido en un lote de controles al valor promedio (la media de las medias) obtenido por muchos laboratorios en el mismo lote. La información es similar a la prueba de eficiencia pero se hace de manera continua. Además de la desviación estándar y del coeficiente de variación calculados de datos acumulados de control de calidad, la imprecisión se puede estimar por el análisis duplicado de las muestras del paciente elaboradas a través de los días laborables. Los cambios en el funcionamiento del instrumento que puedan afectar la atención del paciente se detectan rápido usando este esquema.

Sin importar el método que se use, las necesidades del control de calidad del laboratorio de gas en la sangre contrastan de forma fuerte con las de un laboratorio general, que analiza muchas muestras de pacientes como un grupo e incluye muestras de control múltiple en cada corrida. En el laboratorio de gas en la sangre, la naturaleza crítica de las mediciones o el volumen de la muestra del paciente no permiten siempre la repetición del análisis, si existen problemas. Por lo tanto, el laboratorio de gases en la sangre debe realizar control de calidad *prospectivo* porque los instrumentos deben estar *precalificados* para asegurar su funcionamiento adecuado, antes de que la muestra del paciente llegue para su análisis.

La participación en encuestas externas, entre laboratorios o los programas de prueba de eficiencia ayudan en la identificación y el monitoreo de problemas de exactitud.⁶ Comparaciones continuas de resultados por medio de exámenes de competencia aseguran que los errores sistemáticos (exactitud) no aumenten poco a poco y no pasen desapercibidos por procedimientos internos de control de calidad. Un riguroso programa interno de control de

calidad asegura la consistencia interna. El buen funcionamiento de un programa de pruebas de eficiencia asegura la ausencia de sesgo significativo en relación con otros laboratorios, y confirma la validez de los resultados de laboratorio del paciente. Si un analizador individual no produce los resultados de prueba de eficiencia consistentes con los de otros laboratorios similares (que usan el mismo método e instrumentos) o si las diferencias entre los valores cambian con el tiempo, la sospecha del funcionamiento del instrumento está garantizada.

Interpretación de los resultados

Los laboratoristas profesionales necesitan ciertos conocimientos, actitudes y habilidades para obtener y analizar las muestras para pH y gases en la sangre. Aunque el médico del paciente asimila todos los resultados (de laboratorio, radiología, medicina nuclear, resultados quirúrgicos de la patología, etc., junto con la historia clínica del paciente) el personal del laboratorio debe evaluar de inmediato los resultados de los pacientes y hacer juicios preliminares sobre su pertinencia (es decir, ¿los resultados tienen sentido?) La evaluación simple de los datos puede revelar un problema del instrumento (posible burbuja en el compartimiento de la muestra o el enchufe de fibrina) o un posible problema en el manejo de la muestra (PO_2 inconsistente con resultados anteriores y los niveles inspirados actuales de FiO_2). El uso del conocimiento ahorra tiempo. La capacidad de correlacionar datos reduce rápido la pérdida de tiempo y previene errores.

RESUMEN

Las mediciones arteriales de pH y gas en la sangre se ordenan para facilitar el cuidado y el tratamiento de pacientes en estado crítico. El cuerpo mantiene el balance acidobase a través de varios sistemas amortiguadores. En el laboratorio, el sistema amortiguador bicarbonato-ácido carbónico, que trabaja en conjunto con los otros sistemas amortiguadores del cuerpo y que refleja el estado de éstos, se utiliza para evaluar el estado acidobase. Las mediciones de pH y PCO_2 evalúan el estado acidobase del paciente. Para diferenciar las condiciones metabólicas (no respiratorias) de las respiratorias, a menudo es útil evaluar parámetros calculados, como HCO_3^- y exceso de base.

La medición de PO_2 también es importante. En sangre arterial, evalúa de manera directa la capacidad de los pulmones de oxigenar la sangre. Se utiliza como una medición indirecta del estado de la oxigenación del tejido del cuerpo. Sin embargo, esta sola medición puede ser engañosa. Por ejemplo, un paciente anémico tendrá contenido y capacidad de O_2 disminuidos y un PO_2 normal, siempre y cuando los sistemas cardiovasculares y pulmonares estén intactos. Por lo tanto, se utilizan otros parámetros en conjunto con PO_2 . Éstos incluyen FO_2Hb , la identificación de dishemoglobinas y los parámetros calculados de contenido y capacidad de O_2 .

PREGUNTAS DE REPASO

- La presencia de dishemoglobinas hará que un porcentaje calculado de SO_2 esté falsamente (elevado, disminuido) y un valor de porcentaje de SpO_2 por oxímetro de pulso esté falsamente (elevado, disminuido):
 - Elevado, elevado.
 - Disminuido, disminuido.
 - Elevado, disminuido.
 - Disminuido, elevado.
- El anticoagulante de elección para las mediciones de gas en la sangre arterial es _____ en estado _____.
 - EDTA; seco.
 - Oxalato de potasio; líquido.
 - Citrato de sodio; seco.
 - Litio heparina; seco.
- A un pH de 7.10, la concentración de H^+ es igual a:
 - 20 nmol/L.
 - 40 nmol/L.
 - 60 nmol/L.
 - 80 nmol/L.
- Los riñones compensan la alcalosis respiratoria por (excreción, retención) de bicarbonato y excreción de NaH_2PO_4 (incrementada, disminuida).
 - Excreción, incrementada.
 - Retención, incrementada.
 - Ejecución, disminuida.
 - Retención, disminuida.
- La relación normal de ácido carbónico a bicarbonato en sangre arterial es:
 - 7.4:6.1.
 - 1:20.
 - 0.003:1.39.
 - 20:1.
- Cuando la sangre arterial de un paciente normal se expone al aire ambiente:
 - PCO_2 decrece; PO_2 aumenta.
 - PCO_2 aumenta; PO_2 decrece.
 - PCO_2 decrece; PO_2 decrece.
 - PCO_2 aumenta; PO_2 aumenta.
- Los resultados de gas en la sangre de un paciente son: pH, 7.37; PCO_2 , 75 mmHg; HCO_3^- , 37 mmol/L. Estos valores son consistentes con:
 - Acidosis respiratoria compensada.
 - Acidosis no respiratoria compensada.
 - Alcalosis respiratoria no compensada.
 - Alcalosis no respiratoria no compensada.
- Los resultados de gas en la sangre de un paciente son: pH, 7.48; PCO_2 , 54 mmHg; HCO_3^- , 38 mmol/L. Estos valores son constantes con:
 - Alcalosis respiratoria compensada.
 - Alcalosis no respiratoria compensada.
 - Alcalosis respiratoria no compensada.
 - Alcalosis no respiratoria no compensada.
- En el sistema circulatorio, el bicarbonato deja los glóbulos rojos y entra al plasma a través de un mecanismo de intercambio con _____ para mantener la electroneutralidad.
 - Ácido carbónico.
 - Lactato.
 - Cloruro.
 - Sodio.
- La hipoventilación puede compensarse por:
 - Alcalosis mezclada.
 - Acidosis mezclada.
 - Acidosis no respiratoria.
 - Alcalosis no respiratoria.
- La capacidad del enlace oxígeno hemoglobina para una muestra que está 100% saturada con O_2 y tiene un valor total de hemoglobina de 12 g/dl es casi:
 - 4 ml de O_2 /dl.
 - 8 ml de O_2 /dl.
 - 17 ml de O_2 /dl.
 - 34 ml de O_2 /dl.
- La concentración del ácido carbónico en plasma sanguíneo es igual a:
 - El pK aparente del ácido carbónico, 6.1, más el valor de la PCO_2 en mmHg.
 - 0.0307 mmol $^{-1}$ veces el valor de PCO_2 en mmHg.
 - El valor de PCO_2 en mmHg más el valor de HCO_3^- en mmHg.
 - La concentración del bicarbonato dividida por el valor de PCO_2 en mmHg.
- El contenido de oxígeno en sangre refleja:
 - O_2Hb solamente.
 - O_2 disuelto en plasma sanguíneo.
 - El valor de PO_2 .
 - El valor de hemoglobina total del paciente.
 - Todas las anteriores.

REFERENCIAS

1. Weisberg HF. Water, Electrolyte, and Acid-Base Balance, 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1962.
2. Burnett RW, Ehrmeyer SS, Moran, RF, VanKessel AL. Blood Gas and pH Analysis and Related Measurements (C46A). Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2001.
3. Ehrmeyer S, Ancy J, Laessig R. Oxygenation: measure the right thing. *Respir Ther* 1998;11(3):25–28.
4. Blonshine S, Alberti R, Olesinski RL. Procedures for the Collection of Arterial Blood Specimens (H11A3). Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
5. Westgard JO, et al. Statistical Quality Control for Quantitative Measurements: Principles and Definitions (C24A2). Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
6. Laessig RH, Ehrmeyer SS. Lab 2000: fundamental features—proficiency testing—then, now and the future. *Clin Chem News* 1999;25:18–20.

Oligoelementos

John G. Toffaletti

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- CONSIDERACIONES GENERALES DE LA RECOLECCIÓN, EL PROCESAMIENTO Y LA DETERMINACIÓN EN LABORATORIO DE LOS OLIGOELEMENTOS
- HIERRO
 - Distribución del hierro
 - Requisitos dietéticos de hierro
 - Absorción del hierro
 - Transporte del hierro
 - Excreción del hierro
 - Funciones bioquímicas del hierro
 - Trastornos clínicos de la deficiencia de hierro
 - Trastornos clínicos del exceso de hierro
 - Papel del hierro en el daño tisular
 - Evaluación en laboratorio del estado de hierro
 - Contenido de hierro total (hierro sérico)
 - Capacidad total de fijación del hierro
 - Saturación porcentual
 - Transferrina y ferritina
- COBRE
 - Requerimientos dietéticos de cobre
 - Absorción, transporte y excreción de cobre
 - Funciones bioquímicas del cobre
 - Deficiencia de cobre
 - Exceso de cobre
 - Evaluación en laboratorio del estado de cobre
- CINC
 - Requisitos dietéticos de cinc
 - Absorción, transporte y excreción del cinc
 - Funciones bioquímicas del cinc
 - Deficiencia y toxicidad del cinc
 - Evaluación en laboratorio del estado de cinc
- COBALTO
- CROMO
- FLÚOR
- MANGANESO
- MOLIBDENO
- SELENIO
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Definir los conceptos de metaloproteína, metaloenzima, cofactor, estado de oxidación, oligoelemento esencial y ultraoligoelementos.
- Describir la absorción, el transporte y la excreción de los oligoelementos esenciales.
- Indicar las funciones biológicas de los oligoelementos esenciales.
- Analizar la importancia clínica de los oligoelementos y las consecuencias de los estados de deficiencia.
- Examinar consideraciones de la recolección de muestras y determinación en laboratorio.

TÉRMINOS CLAVE

Capacidad total de fijación del hierro (CTFH)
Cofactor

Metaloenzima
Metaloproteína
Oligoelementos

Oligoelementos esenciales
Prooxidante
Quelato

Transferrina
Ultraoligoelementos

Los oligoelementos que se analizan en este capítulo poseen cierta importancia bioquímica, sea menor o mayor. Por lo general, se relacionan con una enzima (*metaloenzima*) u otra proteína (*metalo proteína*) como componente esencial o *cofactor*. A menudo las deficiencias deterioran una o más funciones bioquímicas y las concentraciones excesivas se vinculan cuando menos con cierto grado de toxicidad (cuadro 15-1). Los *oligoelementos*, como el hierro, cobre y cinc, se encuentran en concentraciones de mg/L. Por su parte, los *ultraoligoelementos*, como el selenio, cromo y manganeso, aparecen en concentraciones menores a µg/L. A un elemento se le considera esencial si la deficiencia del mismo altera un proceso bioquímico o funcional y su reemplazo corrige dicha alteración. La ingesta baja, la absorción defectuosa, el aumento de la excreción y las anormalidades genéticas son ejemplos de afecciones que tal vez conduzcan a la deficiencia de oligoelementos. La Organización Mundial de la Salud estableció los requerimientos dietéticos de los nutrientes como la cantidad mínima de nutriente requerida para conservar el funcionamiento y la salud óptimos.

En este capítulo se muestra información sobre los oligoelementos en relación con la absorción, el transporte, la distribución y la eliminación. Se describirán las funcio-

nes bioquímicas y su importancia clínica en los estados de enfermedad o la toxicidad. Por último, se analizan el uso y las técnicas para la determinación en laboratorio. En el cuadro 15-2 se resume una parte de esta información sobre *oligoelementos esenciales*.

CUADRO 15-1. OLIGOELEMENTOS ESENCIALES EN QUÍMICA CLÍNICA

	ESENCIALES COMPROBADOS	ESENCIALES PROBABLES	NO ESENCIALES HASTA LA FECHA
Oligoelemento	Hierro Cinc Cobre		
Ultraoligoelemento	Manganeso Cobalto Selenio Molibdeno Cromo Yodo	Níquel Vanadio Estaño	Aluminio Arsénico Cadmio Flúor Oro Plomo Mercurio Silicio

CUADRO 15-2. FUNCIONES DE LOS OLIGOELEMENTOS Y ANORMALIDADES

METALES	VALORES DE REFERENCIA	FUNCIONES BIOQUÍMICAS	CARACTERÍSTICAS DE LA DEFICIENCIA	CARACTERÍSTICAS DE TOXICIDAD
Hierro	Suero 50 a 160 µg/dl, hombres 45 a 150 µg/dl, mujeres	Transporte de oxígeno Respiración (citocromos) Procesos oxidativos	Anemia	Falla hepática Cardiomiopatía Neuropatía periférica
Cinc	Suero 66 a 110 µg/dl	Síntesis de la hemoglobina Metabolismo del colágeno Desarrollo del hueso Crecimiento y reproducción	Alteración de la cicatrización de heridas Retraso del crecimiento Anormalidades esqueléticas Impotencia masculina	Ataxia Pancreatitis Anemia, fiebre Náusea, vómito
Cobre	Suero 70 a 150 µg/dl, hombres 80 a 155 µg/dl, mujeres	Trastornos de pigmentación Desarrollo del hueso Transporte de oxígeno Síntesis de ácido nucleico Síntesis de proteína	Náusea, vómito Retraso del crecimiento Anemia en niños Enfermedad de Wilson Síndrome de Menkes	Necrosis hepática Anemia hemolítica Disfunción renal Disfunción neurológica
Manganeso	Suero 0.4 a 0.8 µg/L	Reproducción y desarrollo Fosforilación oxidativa Metabolismo del colesterol	Trastornos en la espermatogénesis Anormalidades del hueso Trastornos hemorrágicos	Alteraciones neurológicas Psicosis Trastornos del habla
Cobalto	Suero 0.11 a 0.45 µg/L	Función de la vitamina B ₁₂ Metabolismo de la metionina	Anemia megaloblástica	Función gastrointestinal Cardiomiopatía
Selenio	Sangre completa 46 a 143 µg/L	Metabolismo del oxígeno Protección de radical libre	Enfermedad cardiovascular Degeneración muscular Carcinogénesis	Neurotoxicidad Hepatotoxicidad
Molibdeno	Suero 0.1 a 3.0 µg/L	Metabolismo de la xantina	Alteraciones mentales Cáncer esofágico	Hiperuricemia
Cromo	Suero 0.05 a 0.15 µg/L	Captación de insulina Metabolismo de la glucosa	Reducción de la tolerancia a la glucosa	Falla renal Cáncer pulmonar

CONSIDERACIONES GENERALES DE LA RECOLECCIÓN, EL PROCESAMIENTO Y LA DETERMINACIÓN EN LABORATORIO DE LOS OLIGOELEMENTOS

Las muestras para el análisis de oligoelementos deben recolectarse con atención escrupulosa en detalles como el anticoagulante, los aparatos para la recolección y el tipo de muestra (suero, plasma o sangre). Debido a la baja concentración de las muestras biológicas y la presencia ubicua en el medio ambiente, se requieren medidas extraordinarias para prevenir la contaminación de la muestra. Esto incluye el uso de dispositivos especiales de muestreo y recolección, cristalería limpiada para la ocasión, y agua y reactivos de elevada pureza. Es necesario evaluar con gran cuidado la selección de agujas, tubos de recolección de sangre evacuada, anticoagulantes y otros aditivos, agua y otros reactivos, pipetas y tazas de muestra para su uso en análisis de oligoelementos y ultraoligoelementos.

La metodología e instrumentación deben contar con sensibilidad y especificidad analíticas importantes debido a las concentraciones extremadamente bajas de los oligoelementos encontrados en líquidos corporales y la semejanza fisicoquímica de algunos de ellos. Durante muchos años, el instrumento utilizado con mayor frecuencia en los análisis de oligoelementos ha sido el espectrómetro de absorción atómica, a menudo con atomización sin flama.

En el cuadro 15-2 se enumeran los rangos de referencia de oligoelementos y ultraoligoelementos.

HIERRO

Distribución del hierro

De los 3 a 5 g de hierro que se observan en el cuerpo, entre 2 y 2.5 se encuentran en la hemoglobina, contenida sobre todo en los glóbulos rojos tanto de la sangre como de precursores de la médula. Una cantidad moderada de hierro (alrededor de 130 mg) está en la mioglobina, la proteína transportadora de oxígeno del músculo. Una cantidad pequeña (8 mg) pero muy importante se encuentra en el tejido, donde el hierro se combina con varias enzimas que requieren el hierro para realizar su actividad completa. Estas incluyen peroxidases, citocromos y muchas enzimas del ciclo de Krebs. El hierro se almacena, también, como ferritina y hemosiderina, en especial en la médula, el bazo y el hígado. Esta concentración crítica de hierro tal vez sea la primera que comenzará a disminuir en estados de deficiencia de hierro.¹ Sólo 3 a 5 mg de hierro se encuentran en el plasma relacionado con transferrina, albúmina y hemoglobina libre.²

Requisitos dietéticos de hierro

En un hombre adulto, la pérdida media de 1 mg de hierro por día se reemplazará con las fuentes de la dieta.³ Las mujeres embarazadas o premenopáusicas y los niños tienen mayores requerimientos de hierro, que a menudo se obtienen a través de los suplementos dietéticos. En este sentido, la Administración de Fármacos y Alimentos de Estados Unidos emitió sus estándares para los suplementos alimenticios. Sin embargo, ya que la población en gene-

ral abarca tanto individuos con deficiencia de hierro como aquellos con estado adecuado, existe debate en torno a si los suplementos dietéticos contribuyen al exceso de hierro en personas con concentraciones adecuadas.^{4,5}

Absorción del hierro

La absorción de hierro del intestino es el medio principal para regular la cantidad que se encuentra dentro del cuerpo. De hecho, suele absorberse sólo cerca de 10% de 1 g/día de hierro dietético. La absorción del hierro se controla en varios sitios. Para que las células intestinales lo absorban, es necesario que se encuentre en estado de oxidación ⁺² (ferroso) y unido a la proteína. El Fe⁺³ constituye la forma predominante de hierro en los alimentos. Por tanto, en primer lugar debe reducirse a Fe⁺² a través de agentes como la vitamina C para absorberlo. En la célula mucosal intestinal, el Fe⁺² es enlazado por la apoferritina, y luego se oxida por la ceruloplasmina para que el Fe⁺³ se una a la ferritina. De allí, el hierro se absorbe en la sangre por la apotransferrina, que se convierte en transferrina mientras se encuentra unida a dos iones Fe⁺³. En plasma, la transferrina transporta y libera el Fe a la médula, donde se incorpora a la hemoglobina de los glóbulos rojos. Después de alrededor de cuatro meses en la circulación, los glóbulos rojos se degradan por el bazo, el hígado y los macrófagos, que devuelven el Fe a la circulación, donde se une y transporta por la transferrina para la reutilización (fig. 15-1).

Es posible ajustar la absorción del hierro para cumplir con las necesidades actuales. La absorción y la capacidad de transporte del hierro tal vez aumente en afecciones como deficiencia de hierro, anemia o hipoxia. En la célula mucosal de un individuo con concentración adecuada de hierro en plasma, el hierro se aísla por la ferritina. El breve período de vida de una célula mucosal intestinal da como resultado pérdida de ferritina cuando la célula se libera.³

Transporte del hierro

Cuando la concentración de hierro intracelular es baja, una proteína reguladora inhibe la síntesis de apoferritina y promueve la síntesis del receptor de transferrina.^{6,7} El hierro recién absorbido, o hierro liberado de la ferritina, pasa de Fe⁺² a Fe⁺³ por la ceruloplasmina, transferido a la apotransferrina en la célula, y luego se libera a la circulación como transferrina.³ En condiciones normales, tanto la ferritina intracelular como la transferrina circulatoria se saturan sólo de manera parcial. La cantidad pequeña de ferritina circulatoria consta, en su mayor parte, de apoferritina que contiene poco hierro.⁹ La transferrina libera hierro a tejido, como la médula, para la síntesis de hemo por eritrocitos. En la ubicación tisular, los receptores de transferrina proporcionan sitios de reconocimiento para la unión y el transporte dentro de la célula.

Excreción del hierro

La mayor parte de la pequeña cantidad de hierro que se suele perder cada día está contenida en las células epiteliales y rojas excretadas en la orina o liberadas en las heces. Con cada ciclo menstrual, las mujeres pierden alrededor de 20 a 40 mg de hierro.

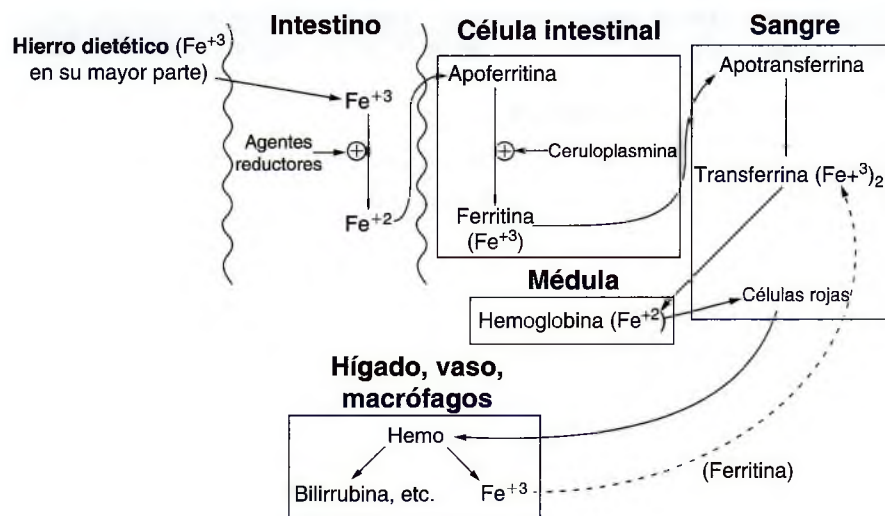


FIGURA 15-1. Rutas para el transporte y uso del hierro en tejidos, células y sangre. Nótese que (1) los agentes reductores promueven la conversión de Fe^{+3} a Fe^{+2} , y los promotores de la ceruloplasmina la oxidación de Fe^{+2} a Fe^{+3} y (2) las células rojas se degradan luego de alrededor de cuatro meses en la circulación sanguínea y se metabolizan por los macrófagos, el bazo y el hígado.

Funciones bioquímicas del hierro

El Fe^{+2} es un componente esencial de la hemoglobina. Permite que ésta se una de manera reversible con el oxígeno en el pulmón y que lo libere al tejido. A medida que el oxígeno se libera en el tejido, la hemoglobina se enlaza al bióxido de carbono y luego lo libera al pulmón, donde se expulsa por ventilación. El hierro debe permanecer en estado Fe^{+2} para que la hemoglobina transporte el oxígeno. Si el hierro se oxida a Fe^{+3} , la hemoglobina se vuelve metahemoglobina no funcional. Es posible que el Fe^{+3} pase de nuevo a Fe^{+2} por la reductasa de la metahemoglobina. La mioglobina proporciona mayor acidez (iones de H^{+}) y PCO_2 en el entorno tisular para mejorar la liberación de oxígeno de la hemoglobina. Además, facilita la difusión del oxígeno en el tejido porque se une al oxígeno con mayor afinidad que la hemoglobina. La disminución de mioglobina causada por deficiencia de hierro tal vez reduzca la difusión del oxígeno dentro del tejido.⁵

Los citocromos son esenciales para el transporte de electrones en la cadena respiratoria, con el ciclo reversible de Fe^{+3} a Fe^{+2} , lo que al final da como resultado la produc-

ción de energía como ATP^{3} . La peroxidasa y la catalasa son enzimas que contienen hierro. Éstas convierten al potencialmente peligroso peróxido de hidrógeno en agua. La tiroperoxidasa incorpora el yoduro dentro de precursores de hormona en la glándula tiroides.

Trastornos clínicos de la deficiencia de hierro

La deficiencia de hierro representa uno de los trastornos más frecuentes que se conocen: 15% de la población mundial la padece. Entre los individuos con mayor riesgo que el promedio de anemia por deficiencia de hierro se incluyen embarazadas, niños y adolescentes, y mujeres en edad reproductiva.^{3,10} El aumento de la pérdida de sangre, la disminución del consumo de hierro en la dieta o el descenso en la liberación de ferritina tal vez conduzca a deficiencia de hierro. Por lo general, la reducción de las reservas de hierro precede tanto a la reducción en el hierro circulante como a la anemia, según se demuestra por una menor cifra de glóbulos rojos, concentración media de hemoglobina corpuscular y glóbulos rojos microcíticos (cuadro 15-3).³

CUADRO 15-3. MARCADORES DE LABORATORIO DE ESTADO DE HIERRO EN PRESENCIA DE VARIOS TRASTORNOS

TRASTORNO	HIERRO SÉRICO (50 A 160 $\mu\text{G/DL}$)	TRANSFERRINA (200 A 400 MG/DL)	% DE SATURACIÓN (20 A 55)	FERRITINA (20 A 250 $\mu\text{G/DL}$)
Deficiencia de hierro	Reducido	Elevada	Reducido	Reducida
Envenenamiento/ sobredosis de hierro	Elevado	Reducida	Elevado	Elevada
Hematocromatosis	Elevado	Reducida	Elevado	Elevada
Desnutrición	Reducido	Reducida	Variable	Reducida
Malignidad	Reducido	Reducida	Reducido	Elevada
Infección crónica	Reducido	Reducida	Reducido	Elevada
Hepatitis viral	Elevado	Elevada	Normal/elevado	Elevada
Anemia de enfermedad crónica	Reducido	Normal/reducida	Reducido	Normal/elevada
Anemia sideroblástica	Elevado	Normal/reducida	Elevado	Elevada

ESTUDIO DE CASO 15-1

Un paciente con talasemia estuvo bajo tratamiento con deferoxamina. Al no seguir de manera adecuada las instrucciones con respecto al uso concurrente de vitamina C, desarrolló cardiopatía y murió cuatro horas después de ingerir una gran cantidad de ácido ascórbico.

Preguntas

1. ¿Cuál es el papel de la deferoxamina en el tratamiento?
2. ¿Cómo interactúa la vitamina C con el hierro?

La disminución del hierro sérico y el aumento de transferrina/CTFH son indicios clásicos de deficiencia de hierro. Sin embargo, la concentración de ferritina sérica se ha vuelto la prueba más sensible y confiable para confirmar esta afección.

Trastornos clínicos del exceso de hierro

Por lo general, la sobrecarga de hierro se origina por una absorción excesiva anormal proveniente de una dieta normal. En conjunto, a los estados de sobrecarga de hierro se les agrupa como hemocromatosis, con o sin daño tisular. La hemosiderosis se utiliza para designar de manera específica un problema de exceso de hierro, según se demuestra por el aumento de hierro sérico y CTFH o transferrina, pero sin daño tisular comprobable. La hemocromatosis hereditaria se debe a un defecto genético que causa acumulación de hierro en el tejido, afecta la función hepática y a menudo conduce a hiperpigmentación de la piel. Aunque la elevación del hierro sérico y la transferrina es característica de las etapas iniciales de hemocromatosis, la ferritina sérica aumenta de manera constante con la progresión de la enfermedad, a menudo a niveles tan elevados que el trastorno se vuelve grave. Algunas afecciones relacionadas con hemocromatosis grave incluyen diabetes mellitus, artritis, arritmia cardíaca o cardiopatía, cirrosis, hipotiroidismo, impotencia y cáncer de hígado. El tratamiento abarca flebotomía terapéutica o administración de *quelatos*, como la deferoxamina. En el caso de atransferrinemia, es posible administrar transferrina.¹¹

Papel del hierro en el daño tisular

El hierro llega a desempeñar un papel de *prooxidante* al contribuir a la peroxidación de lípidos,^{12,13} aterosclero-

sis,^{13,14} daño al ácido desoxirribonucleico (DNA),^{12,15} carcinogénesis^{16,17} y enfermedades neurodegenerativas.^{18,19} El Fe^{+3} , liberado de las proteínas de unión, tal vez aumente la producción de radicales libres para ocasionar daño oxidativo. En individuos con exceso de hierro y talasemia que se tratan con quelatos para unir y movilizar el hierro, el consumo de ácido ascórbico quizá promueva en realidad la generación de radicales libres.²⁰

Evaluación en laboratorio del estado de hierro

Es posible evaluar los trastornos del metabolismo del hierro a través de las siguientes mediciones: volumen celular empacado, hemoglobina, concentración e índices de glóbulos rojos, hierro total y CTFH, saturación porcentual, transferrina y ferritina. Los resultados esperados se esbozan en los cuadros 15-3 y 15-4.

Una prueba de laboratorio reciente para evaluar el estado de hierro es la medición de los receptores de transferrina séricos (TrfR culatorios). En caso de deficiencia de hierro, la cantidad de estos receptores aumenta; en caso de exceso, disminuye.²¹ Aunque algunos manifiestan la elevada confiabilidad de esta prueba en la detección de la deficiencia de hierro, otros encuentran que es menos sensible que la ferritina sérica.¹

Contenido de hierro total (hierro sérico)

La medición de la concentración de hierro sérico se refiere de manera específica al Fe^{+3} unido a la transferrina, no al hierro que circula como hemoglobina libre en el suero. La muestra se puede recolectar como suero sin anticoagulante o como plasma con heparina. Oxalato, citrato o ácido etilendiaminotetraacéticos se unen a iones de Fe y son anticoagulantes

CUADRO 15-4. RANGOS DE REFERENCIA DE PARÁMETROS USADOS PARA EVALUAR EL ESTADO DEL HIERRO^{1,21}

POBLACIÓN DE PACIENTES	HIERRO SÉRICO (μg/dl)	TRANSFERRINA (μg/dl)	FERRITINA (μg/dl)	% DE SATURACIÓN	CTFH (μg/dl)
Adultos, hombres	50 a 160	200 a 380	20 a 250	20 a 55	250 a 425
Mujeres, 16 a 40 años	45 a 150	200 a 380	10 a 120	15 a 50	250 a 425
Mujeres, >40 años					10 a 250
Recién nacidos	100 a 250	130 a 275	25 a 200	12 a 50	100 a 400
Lactantes	40 a 100	200 a 360	200 a 600	12 a 50	100 a 400
Niños	50 a 120	200 a 360	7 a 140	12 a 50	100 a 400

inaceptables. Se prefiere el muestreo temprano matutino debido a la variación diurna en la concentración de hierro. Se deben rechazar las muestras con hemólisis visible.

A las determinaciones espectrofotométricas se les adaptó el análisis automatizado. Por lo general, estos procedimientos siguen los siguientes pasos: el Fe^{+3} se libera de las proteínas de unión por acidificación, se reduce a Fe^{+2} por ascorbato o un agente reductor similar y se complementa con un reactivo de color, como ferrocina, fereno o batofenanolina.

Capacidad total de fijación del hierro

La *capacidad total de fijación del hierro* (CTFH) se refiere a la cantidad de hierro que se une por transferrina saturada y otras proteínas menores de enlace de hierro presentes en la muestra de suero o de plasma. Por lo general, cerca de una tercera parte de los sitios de unión de hierro en transferrina están saturados. La CTFH se calcula a partir de la medición directa de la transferrina sérica mediante la siguiente ecuación:

$$\text{CTFH } (\mu\text{g/dl}) = \text{transferrina sérica } (\text{mg/dl}) \times 1.25^{21}$$

(Ec. 15-1)

Una pequeña proporción de hierro sérico se enlaza por otras proteínas. Por tanto, en esta ecuación se tiende a subestimar un poco la CTFH. Esta diferencia es de poca o nula importancia clínica.

La CTFH se determina al agregar suficiente Fe^{+3} para saturar los sitios de unión en la transferrina, con el exceso de hierro eliminado al añadir MgCO_3 , para precipitar cualquier Fe^{+3} remanente en la solución. Después de la centrifugación para separar el Fe^{+3} precipitado, se analiza la solución flotante que contiene el hierro soluble ligado a las proteínas para determinar el contenido de hierro total. Éste es la CTFH, que va de alrededor de 250 a 425 $\mu\text{g/dl}$.

Saturación porcentual

La saturación porcentual, a la que también se le denomina saturación de transferrina, es la proporción de hierro sérico en la CTFH, que se calcula de la siguiente manera:

$$\% \text{ de saturación} = \text{hierro total } (\mu\text{g/dl}) / \text{CTFH } (\mu\text{g/dl}) \times 100\%$$

(Ec. 15-2)

Su rango normal es de alrededor de 20 a 50%, pero varía con la edad y el sexo (cuadro 15-4).

Transferrina y ferritina

La transferrina se mide a través de métodos inmunoquímicos, como la nefelometría. En caso de deficiencia de hierro, la transferrina o CTFH aumenta; en caso de exceso y hemocromatosis, disminuye. Además, la transferrina (CTFH) disminuye en presencia de infecciones crónicas y malignidades (cuadro 15-3). A la transferrina se le valora sobre todo como indicador del estado nutricional. Al igual que una proteína en fase aguda negativa, su concentración disminuye en afecciones inflamatorias.

La ferritina se mide en suero a través de métodos inmunoquímicos, como IRMA, ELISA y técnicas quimioluminiscentes. Varios fabricantes proporcionan equipos para medir la ferritina sérica, sea por medios manuales o automatizados. En caso de anemia por deficiencia de hierro, la ferritina disminuye; en caso de exceso y hemocromatosis, aumenta. Con frecuencia la ferritina se eleva en muchos otros trastornos, como infecciones crónicas, malignidad y hepatitis viral.

COBRE

Requerimientos dietéticos de cobre

Las fuentes importantes de cobre incluyen mariscos, hígado, nueces y legumbres.²² Al parecer la ingesta adecuada de cobre se encuentra en el rango de 1.5 a 3.0 mg/dl en adultos, aunque la mayor parte de las dietas contiene una menor cantidad.²³

Absorción, transporte y excreción de cobre

Los intestinos desempeñan un papel importante en la regulación del cobre, con absorción modulada por la necesidad, lo que da como resultado un índice de absorción de 55 a 75%. Tanto el cinc como el hierro compiten con el cobre en la absorción intestinal.^{22,24} El cobre absorbido se une con la albúmina o forma complejo con los residuos de histidina a medida que se transporta al hígado, donde se almacena en forma de cuproproteínas. Aunque una cantidad pequeña de cobre circulante se une a la albúmina y transcupreínas, la mayor parte se incorpora dentro de ceruloplasmina. Ésta se sintetiza en el hígado y tiene actividad ferroxidasa, que convierte Fe^{+2} a Fe^{+3} a medida que se incorpora a la transferrina.^{25,26} Además, la ceruloplasmina es un reactivo de fase aguda, por lo que las concentraciones elevadas rescatan radicales de oxígeno.²⁷

El cobre se elimina sobre todo por excreción fecal como cobre dietético sin absorber y cobre contenido en secreciones biliares e intestinales. Menos de 3% del cobre de la dieta se pierde en orina y sudor.²⁵

Funciones bioquímicas del cobre

Una función importante del cobre es como componente de las enzimas implicadas en reacciones redox, con varias reacciones que implican oxígeno. Estas metaloenzimas constan de ceruloplasmina, oxidasa del citocromo c, superóxido dismutasa, dopamino- β -hidroxilasa, tirosinasa y oxidasa de ascorbato. La ceruloplasmina, como ya se mencionó, tiene actividad de ferroxidasa (fig. 15-1). La oxidasa de citocromo c contiene dos grupos hemo y dos átomos de cobre y cataliza la reducción del oxígeno a agua en el último eslabón de la cadena de transporte de electrones. El superóxido dismutasa (SOD), que contiene cobre y cinc, juega una función clave de defensa antioxidante al convertir los radicales O_2^- altamente reactivos a O_2 y H_2O_2 . La tirosinasa participa en la producción de melanina. La dopamino- β -hidroxilasa es importante en el metabolismo de la catecolamina.²²

Deficiencia de cobre

La deficiencia de cobre es poco frecuente. Sin embargo, ciertas circunstancias promueven su ocurrencia, como la desnutrición y la malabsorción. El cinc compete con el cobre por la absorción en el intestino. Por tanto, el aumento en la ingesta del cinc causaría deficiencia de cobre. La deficiencia de cobre produce anemia microcítica e hipocrómica vinculada con concentraciones bajas de ceruloplasmina. Una característica temprana de la deficiencia de cobre es la neutropenia, que se relaciona con la disminución de la actividad de la enzima antioxidante SOD conteniendo cobre. Esto acorta la vida de los eritrocitos y de los neutrófilos.^{28,29}

La deficiencia grave de cobre se vincula con síntomas neurológicos, disminución de la pigmentación y otros trastornos (véase el cuadro 15-2).²² Además, tanto la cardiopatía coronaria causada por arritmia e hiperlipidemia como los aneurismas producidos por defectos del vaso sanguíneo son más probables en presencia de deficiencia de cobre grave.²²

El síndrome de Menkes se origina por un defecto genético X recesivo en el transporte y almacenamiento de cobre. Aunque el cobre se absorbe de manera normal por las células mucosales intestinales, se acumula debido al transporte defectuoso de las células mucosales y da como resultado síndrome de deficiencia de cobre. Entre las características de esta enfermedad se encuentran deterioro mental, falla para prosperar, disminución de las actividades de enzimas que contienen cobre, anomalías del tejido conectivo, cabello rizado y muerte temprana.²² Si se comienza de manera oportuna, es posible tratar la afección con cobre-histidina.³⁰

Exceso de cobre

El exceso de cobre se presenta sobre todo por la ingestión accidental de soluciones de este metal, uso de dispositivos intrauterinos que contienen cobre o exposición a los fungicidas que entre sus ingredientes llevan cobre. La toxicidad aguda se relaciona con náusea, vómito y dolor epigástrico.³¹ El exceso de cobre, al igual que el de hierro, llega a causar producción y daño de radicales libres.³²

La enfermedad de Wilson, o degeneración hepatolenticular, se vincula con la acumulación de cobre en hígado, cerebro, riñón y córnea. En esta enfermedad, el cobre se transporta de manera normal del intestino al hígado, pero no del hígado a la bilis.²² Los pacientes desarrollan sobrecarga de cobre en el cerebro e hígado,²² lo que da como resultado cirrosis del hígado y lesiones cerebrales. Debido a que el hígado sintetiza menos ceruloplasmina, una menor cantidad de cobre sérico se transporta por la ceruloplasmina, lo que por lo general origina concentración baja de cobre sérico. Entre las características de la enfermedad de Wilson se encuentran concentración baja de cobre sérico (<20 µg/dl), disminución de la ceruloplasmina y aumento en la excreción urinaria de cobre.²² Además, en ocasiones se observan depósitos de cobre de la córnea (anillos de Kayser-Fleischer). El tratamiento incluye administración de cinc para reducir la absorción de cobre²² o la administración de dimercaprol (BAL), penicilamina o tetratiomolibdato de amonio para quelar el cobre e incrementar la excreción urinaria. Aunque el tratamiento con penicilami-

na y BAL tiene efectos adversos nocivos, el tetratiomolibdato de amonio bloquea la absorción de cobre en tanto preserve la función neurológica.³⁴ El diagnóstico temprano de la enfermedad de Wilson es importante porque la terapia de quelación es eficaz en la prevención de complicaciones.

Evaluación en laboratorio del estado de cobre

Aunque por lo general la medición del cobre en suero o plasma está disponible como prueba de laboratorio rutinaria, las concentraciones de cobre circulante representan un índice insensible del estado de cobre total. En condiciones normales, la disminución del cobre del plasma indica escasez grave de cobre. Además, las concentraciones de cobre circulante muestran una variación diurna, donde las más elevadas se observan en las mañanas; aumentan debido a inflamación y embarazo; y disminuyen por las hormonas esteroides. El método habitual para la medición del cobre en suero u orina es mediante espectroscopia de absorción atómica, aunque también se utilizan los métodos basados en espectroscopia de emisión de plasma.

Además, la ceruloplasmina, relacionada con alrededor del 95% de cobre sérico, también constituye un índice del estado de cobre. Es posible medir la ceruloplasmina sérica por métodos inmunoquímicos o por mediciones de la actividad de la enzima oxidasa. Algunos sugieren que el análisis enzimático es preferible para determinar el estado de cobre. Sin embargo, en un estudio reciente se sugiere que la proporción ceruloplasmina enzimática/ceruloplasmina inmunoquímica tal vez sea un índice más sensible del estado de cobre que cualquier prueba.²³

CINC

Requisitos dietéticos de cinc

Entre las fuentes ricas en cinc se incluyen la carne, el pescado y los productos lácteos.²⁴ En las dietas típicas se proporcionan de 10 a 15 mg de cinc por día, lo que está cerca del requerimiento dietético recomendado (RDR) de 15 mg/día. Se debe asegurar una dieta adecuada de cinc sobre todo en mujeres embarazadas y niños.

Absorción, transporte y excreción del cinc

La absorción del cinc se realiza de manera primordial en el intestino delgado. Se trata de un proceso activo y dependiente de la energía, que desempeña un papel importante en la regulación del cinc. Alrededor del 65% de cinc se transporta hacia la circulación por la albúmina y cerca del 35% por α_2 -macroglobulina.^{24,25} La principal ruta de excreción es por las heces; alrededor de 25%, por secreciones pancreáticas.³⁶ La orina y el sudor constituyen dos fuentes relativamente pequeñas de pérdida de cinc.

Funciones bioquímicas del cinc

El cinc es, junto con el hierro, el oligoelemento más abundante, con alrededor de 2 g en el cuerpo de un adulto. Además del magnesio, el cinc es el cofactor metal que se encuentra con mayor frecuencia en la actividad enzi-

mática, siendo esencial para más de 300 enzimas. Por lo general, es un componente integral del sitio activo de la enzima. La fosfatasa alcalina, la deshidrogenasa del alcohol y la anhidrasa carbónica requieren cinc. Debido a que la actividad de la anhidrasa carbónica es alta en eritrocitos, el agotamiento del cinc conduce a menudo a la disminución tanto de la actividad de esta enzima como de los niveles de cinc en los eritrocitos. Las polimerasas del DNA y del RNA que requieren cinc y sus iones son esenciales para mantener la conformación estructural apropiada del DNA. Entre las otras funciones importantes, las enzimas del cinc son esenciales para el crecimiento, la curación de heridas, la integridad del tejido conectivo, la función reproductiva, el sistema inmunitario y la protección contra los daños por radicales libres.^{24,37}

Deficiencia y toxicidad del cinc

Al parecer la dieta escasa de cinc constituye la causa principal de deficiencia de cinc en todo el mundo, aunque las dietas altas en fibra o fosfato también están relacionadas con dicha deficiencia.²⁴ Es posible que la administración de esteroides o agentes quelantes de metal conduzca a deficiencia de cinc. Otras causas probables son los síndromes de malabsorción GI y la pérdida urinaria por varios trastornos. A menudo las concentraciones de cinc en plasma no cambian de manera importante hasta que la deficiencia de cinc es pronunciada.³⁶ Entre los síntomas de deficiencia del cinc se incluyen retraso en el crecimiento, lesiones de la piel, curación lenta de heridas, diarrea, impotencia, enanismo, alteraciones sensoriales y susceptibilidad a la infección por descenso de la función inmune de células T.^{24,36} Los efectos clínicos se revierten con frecuencia al aumentar la ingesta dietética del cinc a 30-40 mg/día. El cinc es relativamente no tóxico y el exceso del mismo es raro.

Evaluación en laboratorio del estado de cinc

Se deben valorar tanto las variaciones diurnas como las posprandiales, con los valores más elevados por la mañana al ayunar.³⁹ Además, los valores del suero son alrededor de 10% mayores que los de plasma como resultado de los cambios osmóticos causados por los anticoagulantes.²³ Resulta notable el hecho de que la concentración de cinc en eritrocitos es cerca de 10 veces mayor que en plasma.

La disminución en el nivel de cinc en plasma o suero quizá indique deficiencia de éste. Sin embargo, también llega a relacionarse con disminución de albúmina. Además, el cinc en plasma tiene una variación diurna y en ocasiones se reduce con la inflamación. Al parecer la medición del cinc en células rojas y las actividades funcionales de enzimas que lo contienen se correlaciona con su deficiencia y tal vez proporcionen información útil en la evaluación de su estado total. Por lo general, el cinc urinario también se vincula con deficiencia de éste.²³

El método más confiable para la medición del cinc en plasma, suero u orina que es apropiado para uso rutinario en el laboratorio clínico es la espectroscopia de absorción atómica. Otros métodos disponibles son la espectrofotometría y la espectroscopia de emisión. Las actividades de

las enzimas fosfatasa alcalina y anhidrasa carbónica también son indicadores útiles del estado del cinc.

COBALTO

La única función esencial conocida del cobalto es como constituyente de la vitamina B₁₂, que está implicada en el metabolismo del folato y la eritropoyesis. Aunque es posible absorber las sales del cobalto por el mismo mecanismo que el hierro, aún existen muchas preguntas sobre su metabolismo y utilización. Al igual que con muchos otros oligoelementos, el cobalto tiene efectos tóxicos a dosis elevadas.²⁴ El método más frecuente de medición es la absorción atómica.

CROMO

Debido a su amplio uso industrial en aleaciones metálicas, galvanoplastia metálica, tintas y curtido de cuero, el cromo es habitual en el medio ambiente. Se presenta tanto de manera natural como en desperdicios industriales. Aunque llega a existir en una cantidad grande poco habitual de estados de oxidación, sólo los iones ⁺³ y ⁺⁶ están presentes en sistemas vivos. El ion ⁺⁶ es mucho más tóxico que el ⁺³.

Las carnes y los granos son fuentes relativamente ricas en cromo. Sin embargo, la dieta típica es baja en cromo.⁴⁰ Al parecer, a partir de 50 a 200 µg/día constituye una ingesta adecuada. El cromo debe presentarse en concentraciones mucho más elevadas para tener efectos tóxicos.⁴¹ Una vez que se absorbe el cromo, se transporta al tejido por la transferrina, que tiene una afinidad equivalente aproximada para el ion Cr⁺³ y para el Fe⁺³.⁴²

El cromo es importante en el metabolismo de la glucosa como activador esencial de la insulina. Al parecer un complejo de peso molecular bajo de Cr⁺³ con ácido nicotínico y otros compuestos orgánicos es el factor que activa la insulina. La deficiencia de cromo está relacionada con resistencia a la insulina.²³ Está demostrado que los suplementos de cromo mejoran la tolerancia a la glucosa, reducen las concentraciones de insulina y disminuyen el colesterol total en la diabetes tipo 2.⁴¹

Los métodos más frecuentes para la medición del cromo se basan en la absorción atómica sin flama.²³

FLÚOR

La importancia del flúor es bien conocida por su papel en la prevención de caries dentales. Aunque la ingesta excesiva se relaciona con manchas en los dientes y calcificaciones en tejido blando,²⁴ el flúor también llega a reducir al máximo la pérdida del hueso o incluso estimula la formación ósea.²³ El flúor se incorpora dentro del cristal del hueso, con lo que aumenta la masa ósea en las vértebras. La administración de vitamina D, junto con administración periódica de flúor, tal vez mejore la formación del hueso, corrija deficiencia de calcio y disminuya la ocurrencia de fracturas.^{43,44}

El flúor se absorbe con facilidad por el intestino y se distribuye casi por completo al hueso y a los dientes. La excreción renal constituye la ruta principal para eliminar flúor del cuerpo.

ESTUDIO DE CASO 15-2⁴¹

Una mujer de 45 años de edad, que recibió tratamiento para diabetes tipo 2 durante dos años, comunica a su médico un incumplimiento continuo de las restricciones dietéticas y el régimen sugerido de ejercicio. Después de obtener un informe de laboratorio (glucosa en sangre en ayuno, 138 mg/dl; colesterol total, 289 mg/dl), el médico prescribe un suplemento de picolinato de cromo (500 µg, dos veces al día). Después de cuatro meses, su glucosa en sangre en ayuno disminuye a 102 mg/dl y su colesterol total desciende a 243 mg/dl.

Preguntas

1. ¿Cuál es el efecto que tiene el cromo en el metabolismo de carbohidratos y lípidos?
2. ¿Están relacionadas la forma y la dosis del cromo administrado con su actividad biológica?
3. ¿Es tóxico el Cr^{+3} ? ¿Es más tóxico que el Cr^{+6} o menos?

La concentración de flúor es de alrededor de 10 a 200 µg/L en suero, 450 µg/L en eritrocitos y 0.2 a 3.2 µg/L en orina.²³ Se han desarrollado electrodos selectivos de iones para la medición de flúor.⁴⁵

MANGANESO

Los iones de manganeso +2 y +3 están presentes en los sistemas biológicos, en gran parte como iones unidos a proteínas. El manganeso es un activador de varias enzimas, como la arginasa, la carboxilasa de piruvato y la superóxido dismutasa. Resulta notorio que muchos otros iones de metal (como magnesio, cobre o hierro) sustituyen al magnesio como activador de estas enzimas, lo que llega a ocultar una deficiencia de manganeso.

La ingesta de manganeso debe ser de 2 a 5 mg/día en adultos.²³ El índice de absorción del manganeso es bajo y disminuye por fosfato, fitato, calcio y hierro. El manganeso se transporta en plasma por la albúmina, α_2 -macroglobulina y transferrina⁴⁶, y se excreta en la bilis y en las secreciones pancreáticas.

Muchas enzimas requieren manganeso para su actividad, como la carboxilasa de piruvato, superóxido dismutasa mitocondrial, arginasa y glucocinasa. El efecto de la deficiencia de manganeso se reduce por la sustitución de otros iones similares en enzimas; por tanto, los síntomas

de deficiencia del manganeso son raros. En niños, dicha deficiencia se relaciona con convulsiones y quizá epilepsia. Las dosis elevadas, excepto por inhalación, no son tóxicas.²⁴ En informes recientes, la deposición del manganeso en el cerebro se vincula con síntomas neurológicos en personas con exposición a los agentes de manganeso y pacientes con enfermedad hepática colestática.^{46, 47}

La concentración de manganeso en la sangre entera, los glóbulos rojos o los linfocitos tal vez sea más confiable que la concentración en suero o plasma para evaluar las reservas de manganeso en el tejido. Aunque las concentraciones informadas varían en gran medida debido a las diferencias en la recolección de la muestra, el procesamiento y la metodología, al parecer los rangos de referencia son de 0.4 a 0.8 µg/L en plasma y 7.7 a 12 µg/L en sangre entera.²³ El método de laboratorio clínico más práctico para la medición de manganeso es la absorción atómica sin flama con quelación y extracción selectivas.⁴⁸

MOLIBDENO

El molibdeno es importante como cofactor esencial de varias enzimas oxidasas: deshidrogenasa de xantina/oxidasa de xantina, aldehído oxidasa y oxidasa de sulfito. La oxidasa de xantina convierte la hipoxantina en ácido úrico, la aldehído oxidasa cataliza la conversión de acetyl-CoA

ESTUDIO DE CASO 15-3⁴³

Una mujer de 74 años de edad se fracturó en fecha reciente su fémur izquierdo. Después de tratar la osteoporosis con estrógeno, calcio, vitamina D y flúor durante dos años antes de la fractura, las mediciones seriales de la densidad ósea de la paciente demuestran aumento continuo en la densidad. Al momento de la hospitalización, su producción de salida de calcio urinario fue de 0.9 mg/día (reducida).

Preguntas

1. ¿Cuál es el papel del flúor en el tratamiento de la osteoporosis?
2. ¿El tratamiento con flúor está relacionado con mayor incidencia de fracturas?
3. ¿Por qué la salida de calcio de esta paciente era muy baja?

ESTUDIO DE CASO 15-4

Una mujer de 65 años de edad con antecedente de diabetes acudió a visitar a su médico para una revisión por pérdida de peso, anorexia y fatiga general. Como parte del examen físico, se observaron pigmentación “bronce” de la piel (hiperpigmentación) e inflamación del hígado. Su panel inicial de química mostró los siguientes resultados relevantes:

Albumina	3.7 g/dl (3.8 a 5.0)
ALP	180 U/L (30 a 135)
ALT	200 U/L (10 a 60)
Bilirrubina total	2.5 mg/dl (0.2 a 1.2)
Hierro sérico	180 µg/dl (45 a 150)

En pruebas adicionales de hierro elevado se encontró lo siguiente:

Hierro sérico	170 µg/dl (45 a 150)
Transferrina	210 mg/dl (200 a 380)
Ferritina	300 µg/L (10 a 250)
% de saturación de transferrina	80

A la paciente se le diagnosticó hemocromatosis que causó sobrecarga de hierro.

Preguntas

1. ¿Qué sucede con la ferritina sérica en este trastorno?
2. ¿Estos trastornos y síntomas del paciente son típicos de hemocromatosis?
3. ¿Cuál es plan del tratamiento para la sobrecarga del hierro y cuál es el objetivo principal?

a acetato y la oxidasa de sulfito convierte el sulfito en sulfato.²⁴ Además, la oxidasa de xantina y la aldehído oxidasa producen radicales de oxígeno, como sucede durante la reperfusión que sigue a la isquemia.^{40,50}

El molibdeno de la dieta se absorbe de manera primordial en el estómago e intestino delgado. Tanto el cobre como el hierro inhiben la absorción de molibdeno. Aunque al hígado toma la mayor parte del molibdeno, éste se libera y excreta tanto en la orina como en la bilis.

Aunque el molibdeno es relativamente no tóxico, la exposición excesiva llega a causar la inhibición de las enzimas dependientes del cobre, como la ceruloplasmina y la oxidasa de citocromo. La formación del complejo cobre-molibdeno es la base de un tratamiento para la enfermedad de Wilson, como se analizó en la sección sobre el cobre de este mismo capítulo.³⁴ A la exposición elevada al molibdeno se le vincula con aumento del ácido úrico y gota.²³

Los rangos de referencia para el molibdeno en adultos son de alrededor de 0.1 a 3.0 µg/L en suero o plasma, 0.8 a 33 µg/L en sangre entera y 18 µg/L en glóbulos rojos. La excreción urinaria varía de 8 a 34 µg/L.

SELENIO

En seres humanos, el selenio tiene varias funciones esenciales: es cofactor en la peroxidasa de glutatión y en la diodinas yodotironina; la selenocisteína es un aminoácido esencial codificado por el DNA; la selenometionina puede sustituir a la metionina como aminoácido esencial en algunas proteínas.

Además, el selenio tiene propiedades antioxidantes y participa en el metabolismo de la hormona tiroidea.⁵¹

Debido a que el selenio se incorpora en proteínas como la peroxidasa de glutatión,²⁴ es posible que su actividad

refleje el estado de selenio. A la deficiencia de selenio se le vincula con cardiomiopatía y debilidad del músculo esquelético, osteoartritis y aumento de la incidencia de cáncer.⁵² Aunque se requiere más trabajo, en los estudios sobre los efectos de los micronutrientes en el riesgo de cáncer se demuestra que la suplementación de selenio se relaciona con menor riesgo de cáncer, en especial en el estómago, el pulmón y la próstata. Dichos riesgos se reducen con la ingesta concurrente de β-caroteno y α-tocoferol.⁵³

El selenio se determina por absorción atómica. Debido a la volatilidad de los compuestos de organoselenio, está demostrado que la generación del hidruro de selenio volátil con detección por absorción atómica es una técnica útil. Los rangos de referencia para el selenio en adultos son: 46 a 143 µg/L en plasma, 58 a 234 µg/L en sangre entera y 75 a 240 µg/L en glóbulos rojos.²³

RESUMEN

Los oligoelementos son importantes o esenciales para muchos procesos bioquímicos críticos. Sus concentraciones se regulan de manera eficaz en individuos sanos. Las deficiencias a menudo están relacionadas con disminución de las actividades de las enzimas que requieren oligoelementos para su actividad óptima. Por lo general, la función se restablece mediante reemplazo dietético, pero debe tenerse cuidado de no inducir toxicidad. La evaluación en el laboratorio del estado de los oligoelementos incluye determinación de las concentraciones de fluido corporal, así como de la actividad de enzimas relevantes. Aún se requiere mucha investigación para determinar la función de los oligoelementos en la salud y en la enfermedad y las pruebas más eficaces para el diagnóstico preciso.

ESTUDIO DE CASO 15-5

Un hombre de 36 años de edad se sometió a varias resecciones parciales del intestino delgado debido a enfermedad de Crohn. Después de la recuperación de la cirugía, se le ubicó en nutrición parenteral total (NPT). Después de la rehabilitación adecuada, lo dieron de alta bajo el cuidado a domicilio de una enfermera que lo visitaba tres veces a la semana para seguir su progreso total y revisar sus condiciones físicas y vitales. Se realizaron de manera periódica pruebas de laboratorio rutinarias para evaluar el estado nutricional. Aunque en los primeros meses después de la cirugía no se observaron datos relevantes, a la postre el paciente experimentó síntomas de debilidad, diarrea, malestar general y pérdida de pelo. Al visitar a su médico, éste realizó un chequeo completo y obtuvo los siguientes valores del laboratorio:

Na ⁺	147 mmol/L (135 a 145 mmol/L)
K ⁺	4.9 mmol/L (3.5 a 5.0 mmol/L)
Cl ⁻	118 mmol/L (98 a 106 mmol/L)
Glucosa	102 mg/dl (80 a 100 mg/dl)
Creatinina	0.6 mg/dl (0.6-1.2 mg/dl)

Calcio	7.9 mg/dl (8.4 a 10.2 mg/dl)
Hemoglobina	10.4 g/dl (13.3 a 17.7 g/dl)
Hematócrito	31% (40 a 52%)
Albumina	2.5 g/dl (3.5 a 5.5 g/dl)
Transferrina	112 mg/dl (200 a 380 mg/dl)
Cobre	38 µg/dl (70 a 150 µg/dl)
Cinc	46 µg/dl (66 a 110 µg/dl)

Preguntas

1. ¿Qué sugieren los estudios del laboratorio como causa posible del problema de este paciente?
2. ¿Cuál es el significado de los niveles bajos de cobre y de cinc? ¿Es posible que su dieta sea la causa subyacente de estas deficiencias?
3. ¿Cuál tratamiento médico se debe instituir en este paciente?

PREGUNTAS DE REPASO

1. El hierro tiene actividad fisiológica, sólo en la forma ferrosa en:
 - a) Citocromos.
 - b) Ferritina.
 - c) Hemoglobina.
 - d) Transferrina.
2. ¿Qué patrón representa con mayor probabilidad deficiencia de hierro?
 - a) Disminución de ferritina, aumento de transferrina, aumento de hierro sérico.
 - b) Aumento de ferritina, aumento de transferrina, aumento de hierro sérico.
 - c) Disminución de ferritina, aumento de transferrina, disminución de hierro sérico.
 - d) Disminución de ferritina, disminución de transferrina, disminución de hierro sérico.
3. ¿La deficiencia de cuál oligoelemento está relacionada con retraso en el crecimiento, dermatitis, disminución de la agudeza del gusto y deterioro de la curación de heridas?
 - a) Cobre.
 - b) Hierro.
 - c) Selenio.
 - d) Cinc.
4. ¿Cuáles de los siguientes metales son necesarios para la actividad óptima del superóxido dismutasa?
 - a) Hierro y cromo.
 - b) Cinc y selenio.
 - c) Magnesio y manganeso.
 - d) Cobre y cinc.
5. ¿La deficiencia de cuál de los siguientes metales llega a causar deficiencia de hierro?
 - a) Cobre.
 - b) Cromo.
 - c) Cobalto.
 - d) Cinc.
6. El término más adecuado para un ion del metal requerido para la actividad enzimática óptima es:
 - a) Acelerador.
 - b) Cofactor.
 - c) Coenzima.
 - d) Catalizador.
7. ¿Qué afirmación sobre el hierro NO es verdadera?
 - a) La CTFH se calcula a partir de la concentración de transferrina.
 - b) La mioglobina tiene mayor afinidad para el hierro que la hemoglobina.
 - c) La transferrina sérica suele estar 99% saturada con hierro.
 - d) El hierro sérico a menudo es más elevado en hombres que en mujeres.

8. ¿Qué oligoelemento está contenido en el factor de tolerancia a la glucosa?
 - a) Cromo.
 - b) Cobre.
 - c) Selenio.
 - d) Cinc.
9. El síndrome de Menkes se origina por acumulación en las células mucosales intestinales y está relacionado con bajas concentraciones en plasma de:
 - a) Hierro.
 - b) Cinc.
 - c) Cobre.
 - d) Manganeseo.
10. ¿Qué metal se utiliza como tratamiento para la enfermedad de Wilson?
 - a) Cobre.
 - b) Molibdeno.
 - c) Flúor
 - d) Cinc.
11. El oligoelemento que al parecer se relaciona con mejor formación ósea es:
 - a) Hierro.
 - b) Flúor.
 - c) Cobre.
 - d) Manganeseo.
12. El ion de metal esencial para la actividad de la oxidasa de xantina y de la deshidrogenasa de xantina es:
 - a) Hierro.
 - b) Cinc.
 - c) Molibdeno.
 - d) Manganeseo.

REFERENCIAS

1. Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical aspects of hematology. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999:1642–1710.
2. Kratz A, Lee-Lewandrowski E, Lewandrowski K. The plasma proteins. In: Lewandrowski K, ed. *Clinical Chemistry: Laboratory Management and Clinical Correlations*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002:531–560.
3. Beard J, Dawson B, Pinero D. Iron metabolism: a comprehensive review. *Nutr Rev* 1996;54(10):295–317.
4. Sullivan JL. Stored iron and ischemic heart disease—empirical support for a new paradigm. *Circulation* 1992;86:1036–1037.
5. Lauffer R. Preventive measures for the maintenance of low but adequate iron stores. In: Lauffer R, ed. *Iron and Human Disease*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1992.
6. Levine DS, Woods JW. Immunolocalization of transferrin-transferrin receptor in mouse small intestine absorptive cells. *Histochem Cytochem* 1996;38:851–858.
7. Pantopoulos K, Gray NK, Hentze MW. Differential regulation of two related RNA-binding proteins, iron regulatory protein (IRP) and IRP_B. *RNA* 1995;1:155–163.
8. Crichton R, Ward RJ. Iron metabolism—new perspectives in view. *Biochemistry* 1992;31:11255–11264.
9. Linder MC, Schaeffer KJ, Hazegh-Azam M, et al. Serum ferritin: does it differ from tissue ferritin? *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 11:1033–1036.
10. DeMaeyer E, Adiels-Tegman M. The prevalence of anaemia in the world. *World Health Stat Q* 1985;38:302–316.
11. Bottomly S. Secondary iron overload disorders. *Semin Hematol* 1998;35(1):77–86.
12. Meneghini R. Iron homeostasis, oxidative stress, and DNA damage. *Free Radic Biol Med* 1997;23(5):783–792.
13. Smith C, Mitchinson MJ, Aruoma OI, et al. Stimulation of lipid peroxidation and hydroxyl-radical generation by the contents of human atherosclerotic lesions. *Biochem J* 1992;286:901–915.
14. Schwartz CJ, Valente AJ, Sprague EA, et al. The pathogenesis of atherosclerosis: an overview. *Clin Cardiol* 1991;14:1–116.
15. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species: Its mechanism and measurement in mammalian system. *FEBS Lett* 1991;281:9–19.
16. Weinberg ED. Cellular iron metabolism in health and disease. *Drug Metab Rev* 1990;22:531–579.
17. Anghileri L. Iron, intracellular calcium ion, lipid peroxidation and carcinogenesis. *Anticancer Res* 1995;15:1395–1400.
18. Smith MA, Perry G. Free radical damage, iron, and Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 1995;134S:92–94.
19. McCord J. Iron, free radicals, and oxidative injury. *Sem Hematol* 1998;35(1):5–12.
20. Herbert V, Shaw S, Jayatilke E. Vitamin C-driven free radical generation from iron. *J Nutr* 1996;126:1213S–1220S.
21. Jacobs DS, Oxley DK, DeMott WR. *Jacobs & DeMott Laboratory Test Handbook*, 5th ed. Cleveland: Lexi-Comp, 2001.
22. Linder MC. *The Biochemistry of Copper*. New York: Plenum, 1991.
23. Milne DB. Trace elements. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999:1029–1055.
24. Linder MC. Nutrition and metabolism of trace elements. In: Linder MC, ed. *Nutritional Biochemistry and Metabolism*, 2nd ed. New York: Elsevier, 1991:215–276.
25. Sandstead H. Requirements and toxicity of essential trace elements, illustrated by zinc and copper. *Am J Clin Nutr* 1995; 61S:621S–624S.
26. Walshe JM. Copper: not too little, not too much, but just right. *J R Coll Physicians Lond* 1995;29(4):280–287.
27. Linder MC. Interactions between copper and iron in mammalian metabolism. In: Elsenhans BE, Forth W, Schumann K, eds. *Metal–Metal Interactions*. Gutersloh, Germany: Bertelsheim Foundation, 1994:11–41.
28. Percival, S. Neutropenia caused by copper deficiency: possible mechanisms of action. *Nutr Rev* 1995;53(3):59–66.
29. Hirase N, et al. Anemia and neutropenia in a case of copper deficiency: role of copper in normal hematopoiesis. *Acta Haematol* 1992;87:195–197.

30. Sakar B, Lingertat-Walsh K, Clarke JTR. Copper-histidine therapy for Menkes' disease. *J Pediatr* 1993;123:828-830.
31. Olivares, M. Limits of metabolic tolerance to copper and biological basis for present recommendations and regulations. *Am J Clin Nutr* 1996;63:846S-852S.
32. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr Rev* 1994;52:253-265.
33. Brewer GJ, Yuzbasiyan-Gurkan V. Wilson's disease. *Medicine* 1992;71:139-164.
34. Brewer G, et al. Treatment of Wilson's disease with ammonium tetrathiomolybdate. *Arch Neurol* 1996;53:1017-1025.
35. Parisi AF, Vallee BL. Isolation of a zinc alpha-2-macroglobulin from human serum. *Biochemistry* 1970;9:2421-2426.
36. King J. Assessment of zinc status. *J Nutr* 1990;120:1474-1479.
37. Cunningham-Rundles S. Zinc modulation of immune function: specificity and mechanism of interaction. *J Lab Clin Med* 1996;128:9-11.
38. Prasad AS, et al. Zinc metabolism in normals and patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, dwarfism, and hypogonadism. *J Lab Clin Med* 1963;61:531-537.
39. Pilch SM, Senti FR. Assessment of the zinc nutritional status of the US population based on data collected in the second national health and nutrition examination survey. FASEB FDA 223-223-83-2384. Bethesda, MD: Life Science Research Office, 1984.
40. Anderson RA, et al. Dietary chromium intake—freely chosen diets, institutional diets and individual foods. *Biol Trace Elem Res* 1992;117-121.
41. Anderson RA, et al. Elevated intakes of supplemental chromium improve glucose and insulin variables in individuals with type-2 diabetes. *Diabetes* 1997;46(11):1786-1791.
42. Anderson RA. Chromium as an essential nutrient for humans. *Regul Toxicol Pharmacol* 1997;26:S35-S41.
43. Dure-Smith BA, Farley SM, Linkhart SG, et al. Calcium deficiency in fluoride-treated osteoporotic patients despite calcium supplementation. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:269-275.
44. Pak CYC, et al. Slow-release sodium fluoride in the management of postmenopausal osteoporosis. *Ann Intern Med* 1994;120:625-632.
45. Blanke RV, Decker WJ. Analysis of toxic substances. In: Tietz NW, ed. *Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia: WB Saunders, 1986:1717-1719.
46. Misselwitz B, Muhler A, Weinmann H-J. A toxicologic risk for using manganese complexes? A literature survey of existing data through several medical specialties. *Invest Radiol* 1995;30(10):611-620.
47. Krieger D, et al. Manganese and chronic hepatic encephalopathy. *Lancet* 1995;346(8970):270-274.
48. Baruthio F, Guillard O, Arnaud J, et al. Determination of manganese in biological materials by electrothermal atomic absorption spectrometry: a review. *Clin Chem* 1988;34:227-234.
49. Repine JE. Oxidant—antioxidant balance: some observations from studies of ischemia-reperfusion in isolated perfused rat hearts. *Am J Med* 1991;91(3C):45S-53S.
50. Wright RM, Repine JE. The human molybdenum hydroxylase gene family: co-conspirators in metabolic free-radical generation and disease. *Biochem Soc Trans* 1997;25:799-804.
51. Gladyshev VN, Jeang KT, Stadtman TC. Selenocysteine, identified as the penultimate C-terminal residue in human T-cell thioredoxin reductase, corresponds to TGA in the human placental gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:6146-6151.
52. Mo DX. Pathology and selenium deficiency in Kashin-Beck disease. In: Combs GF, et al, eds. *Selenium in Biology and Medicine*. New York: Avi 1987:924-933.
53. Clark LC, et al. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. *JAMA* 1996;276:1957-1963.

Porfirinas y hemoglobina

Louann W. Lawrence y Larry A. Broussard

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

■ PORFIRINAS

Función de las porfirinas en el cuerpo
Química de las porfirinas
Síntesis de la porfirina
Significado clínico y correlación de la enfermedad
Métodos para el análisis de porfirinas

■ HEMOGLOBINA

Papel en el cuerpo
Estructura de la hemoglobina
Síntesis y degradación de la hemoglobina

Significado clínico y correlación de la enfermedad
Metodología
Tecnología del DNA

■ MIOGLOBINA

Estructura y función en el cuerpo
Significado clínico
Metodología

■ RESUMEN

■ PREGUNTAS DE REPASO

■ REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Describir la naturaleza y estructura químicas de las porfirinas y la hemoglobina.
- Establecer el papel de la porfirina en el cuerpo.
- Esbozar las rutas bioquímicas de la porfirina y síntesis de hemo.
- Analizar el significado clínico de las porfirias.
- Comparar y contrastar las porfirias con respecto a la deficiencia de la enzima, los síntomas clínicos y los datos del laboratorio clínico.

- Explicar los principios de las pruebas cualitativas y cuantitativas básicas de la porfirina, para incluir PBG, ALA, uroporfirina, coproporfirina y protoporfirina.
- Describir la degradación de la hemoglobina.
- Analizar el significado clínico y los datos de laboratorio relacionados con hemoglobinopatías y talasemias.
- Identificar las pruebas usadas en el diagnóstico de hemoglobinopatías y talasemias.
- Analizar la estructura y el significado clínico de la mioglobina en el cuerpo.

TÉRMINOS CLAVE

Citocromo
Hemoglobinopatía
Mioglobina

Pirrol
Porfiria

Porfirina
Porfirinógeno

Porfirinuria
Talasemia

En este capítulo se analizan las porfirinas, la hemoglobina y la mioglobina debido a sus semejanzas químicas. Estos compuestos contienen un anillo de porfirina, que abarca cuatro grupos de pirrol unidos por puentes de metano (fig. 16-1). Las porfirinas son capaces de quelar metales para formar grupos funcionales que participan en el metabolismo oxidante. El análisis de porfirinas en el laboratorio es útil en el diagnóstico de un grupo de trastornos que dan como resultado trastornos de la síntesis de hemo a las que se les denomina *porfirias*. Cada enzima defectuosa que causa porfiria se analiza a través de varios métodos. Las moléculas de hemoglobina están diseñadas de manera especial para unir, producir y liberar oxígeno. Los defectos cualitativos de la molécula de hemoglobina originan un grupo de trastornos denominados *hemoglobinopatías*, como la anemia falciforme. Los defectos cuantitativos en la producción de moléculas normales de hemoglobina conducen a otro grupo de trastornos denominados *talasemias*. Se analizan los métodos analíticos para diagnosticar estos trastornos. La *mioglobina* es una proteína hemo simple que se encuentra sólo en el músculo esquelético y cardíaco, se analiza para ayudar en el diagnóstico de infarto al miocardio agudo.

PORFIRINAS

Función de las porfirinas en el cuerpo

Las *porfirinas* son los intermediarios químicos en la síntesis de la hemoglobina, mioglobina y otros pigmentos respiratorios denominados *citocromos*. También forman parte de las enzimas peroxidasa y catalasa, que contribuyen a la eficiencia de la respiración interna. El hierro es quelado dentro de las porfirinas para formar hemo. Luego éste se incorpora dentro de las proteínas para convertirse en hemoproteínas con función biológica. Las porfirinas se analizan en química clínica para ayudar al diagnóstico de *porfirias*, que se originan por trastornos en la síntesis de hemo. Las cantidades excesivas de estos compuestos intermedios en orina, heces o sangre indican bloqueo metabólico de la síntesis de hemo.

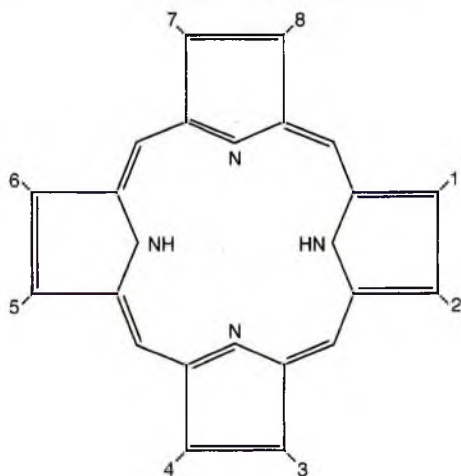


FIGURA 16-1. Estructura básica de las porfirinas.

Química de las porfirinas

Las porfirinas encontradas en la naturaleza son compuestos en los que las cadenas laterales se sustituyen por los ocho átomos de hidrógeno localizados en los cuatro anillos de *pirrol* que forman la porfirina (fig. 16-1). Debido a la amplia gama de sustituciones, se han observado muchas porfirinas en la naturaleza. La clorofila es una porfirina de magnesio y es esencial para que las plantas utilicen la energía de la luz para sintetizar los carbohidratos. Existen cuatro isómeros básicos para cada compuesto de porfirina; sin embargo, sólo los tipos I y III se presentan en la naturaleza. La diferencia entre los isómeros tipos I y III radica en la disposición de las cadenas laterales. Sólo los isómeros tipo III forman hemo. Sin embargo, en algunos trastornos, tal vez los isómeros tipo I sin función se encuentren en exceso en el tejido. Las porfirinas son compuestos estables, de color rojo-violeta a rojo marrón, que despiden fluorescencia roja cuando son excitadas por la luz cerca de 400 nm. Sólo tres compuestos de porfirina son importantes desde el punto de vista clínico en seres humanos: protoporfirina (PROTO), uroporfirina (URO) y coproporfirina (COPRO). Su presencia en exceso en los líquidos biológicos constituye un signo clínico de la síntesis anormal de hemo. Los tres compuestos poseen diferentes propiedades de solubilidad y distintos grados de ionización determinados por la adición de varios grupos carboxilo a la estructura básica de la porfirina. Esto permite el análisis por separado de cada uno. La URO se excreta sobre todo en la orina, la PROTO en las heces y la COPRO en ambas, lo que depende del índice de formación de la orina y de su pH.

A las formas reducidas de porfirinas se les denomina *porfirinógenos*, la forma funcional del compuesto que debe utilizarse en la síntesis de hemo. Los porfirinógenos son bastante inestables, incoloros y sin fluorescencia, lo que hace que sean más difíciles de analizar. Con la luz, el oxígeno, o agentes oxidantes, y los porfirinógenos se oxidan con facilidad a la correspondiente forma de porfirina. Por tanto, la forma de porfirina se analiza de manera rutinaria en los laboratorios clínicos como resultado del aumento de la estabilidad y fácil detección por varios sistemas clínicos comunes de laboratorio.

Síntesis de la porfirina

Todas las células contienen hemoproteínas y sintetizan hemo. Sin embargo, la médula ósea y el hígado son los sitios principales. En la figura 16-2 se esboza la serie de reacciones irreversibles. Algunos pasos ocurren en la mitocondria de la célula y otros en el citoplasma. El transporte de sustratos a través de la membrana mitocondrial constituye un proceso complejo y momento potencial para las interrupciones en la síntesis del hemo.

El control del índice de la síntesis del hemo en las células del hígado se logra en gran medida con la regulación de la enzima ácido δ -aminolevulínico (ALA) sintasa. El mecanismo principal es la represión de la síntesis de una nueva enzima. Ocurre un mecanismo de retroalimentación negativo en el que el aumento de la

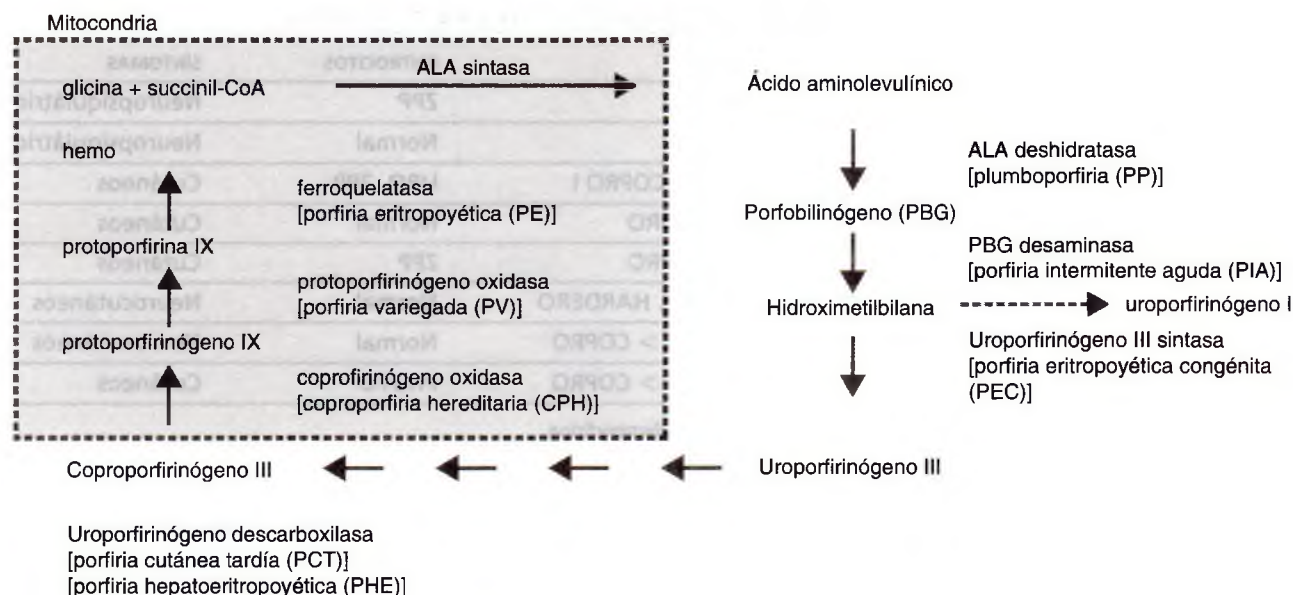


FIGURA 16-2. Síntesis de hemo. Dentro de los corchetes se indican las enfermedades relacionadas con deficiencias de la enzima.

reserva de hemo hepático disminuye la producción de ALA sintasa. Por el contrario, la producción de la ALA sintasa se incrementa con la disminución de hemo. Es posible que el tamaño de la reserva regulatoria de hemo sea afectada por el requerimiento de hemoproteínas en el hígado. Al parecer las drogas y otros compuestos inducen la producción de la ALA sintasa a través de varios mecanismos diferentes, pero todos dan como resultado reducción de la reserva regulatoria de hemo. Por tanto, el índice de la síntesis de hemo es flexible y tal vez cambie con rapidez en respuesta a una amplia gama de estímulos externos. En los eritrocitos de la médula ósea, al parecer otras enzimas en el transcurso de la síntesis y el índice del consumo interno de hierro celular controlan el índice de la síntesis de hemo.¹

Significado clínico y correlación de la enfermedad

Las porfirias son deficiencias enzimáticas adquiridas o heredadas que dan lugar a la sobreproducción de los precursores del hemo en la médula ósea (porfirias eritropoyéticas) o el hígado (porfirias hepáticas). Están identificados los estados de la enfermedad que corresponden a las deficiencias de la enzima en cada paso de la síntesis del hemo, a excepción de la ALA sintasa. Algunos pacientes muestran una deficiencia de la enzima, pero no manifestaciones clínicas o bioquímicas de la porfiria. Esto indica que otros factores, como la demanda de incremento de la biosíntesis del hemo, también son importantes al causar la manifestación de la enfermedad. Un exceso de los precursores tempranos en la ruta de la síntesis del hemo (ALA, porfobilinógeno, o ambos) produce síntomas neuropsiquiátricos, incluyendo dolor abdominal, vómito, estreñimiento, taquicardia, hipertensión, síntomas psiquiátricos, fiebre, leucocitosis y parestesia. Entre las porfirias en esta cate-

goría se incluyen la porfiria por deficiencia (PDA) de ALA deshidratasa (ALAD) o plumboporfiria (PP) y la porfiria intermitente aguda (PIA). Los excesos de los intermediarios tardíos (URO, COPRO y PROTO) tal vez causen síntomas cutáneos, como fotosensibilidad, ampollas, exceso de pelo facial e hiperpigmentación. La porfiria cutánea tardía (PCT), porfiria hepatoeritropoyética (PHE), porfiria eritropoyética (PE) y porfiria eritropoyética congénita (PEC) se relacionan con síntomas cutáneos. La fotosensibilidad inducida por porfirina se manifiesta por mayor fragilidad de la piel expuesta a la luz, como en la PCT, o quemadura de la piel expuesta a la luz, como en la PE. Los efectos de la fotosensibilización de las porfirinas son atribuibles a la absorción de la luz. Además, es posible que existan excesos de intermediarios tempranos y tardíos, lo que origina síntomas neurocutáneos. La coproporfiria hereditaria (CPH) y porfiria variegada (PV) caen en esta categoría. Todas las porfirias se heredan como rasgos dominantes autosómicos que producen alrededor de una reducción de 50% en los niveles de la enzima, a excepción de la PDA y PEC, que son recesivos autosómicos.²

El diagnóstico de porfirias se establece por una combinación de los hallazgos del historial médico y físicos y de laboratorio. Las porfirias cutáneas son más fáciles de diagnosticar porque la fotosensibilidad suele ser el síntoma presente. El diagnóstico de laboratorio, si es que es necesario, se realiza por el análisis de las muestras apropiadas de los intermediarios en la síntesis del hemo (cuadro 16-1). La diferenciación de las porfirias neurológicas de otros trastornos es más difícil con base en el historial y la exploración física, y debe verificarse por los hallazgos en el laboratorio.

La PDA heredada es en extremo rara, con sólo cuatro casos informados.³ El ALA urinario se eleva de manera importante con la excreción normal del porfobilinógeno (PBG). El incremento de la coproporfirina urinaria III proporciona evidencia que apoya el diagnóstico, pero esto

CUADRO 16-1. METABOLITOS ENCONTRADOS EN EXCESO EN LAS PORFIRIAS

PORFIRIA	URINA	HECES	ERITROCITOS	SÍNTOMAS
PDA (PP)	ALA, COPRO III	Normal	ZPP	Neuropsiquiátricos
PIA	ALA, PBG, URO I	Normal	Normal	Neuropsiquiátricos
PEC	URO I, COPRO I	URO I, COPRO I	URO, ZPP	Cutáneos
PCT	URO I, ISOCOPRO	ISOCOPRO	Normal	Cutáneos
PHE	URO, COPRO	ISOCOPRO	ZPP	Cutáneos
CPH	*ALA, *PBG, *COPRO III	COPRO, HARDERO	Normal	Neurocutáneos
PV	*ALA, *PBG, *COPRO III	PROTO > COPRO	Normal	Neurocutáneos
PE	Normal	PROTO > COPRO	PROTO	Cutáneos

* Indicada durante ataques agudos; PBG, porfobilinógeno; HARDERO, harderoporfirina.

también ocurre en caso de envenenamiento por plomo, que es la causa más frecuente de la baja actividad de la ALAD y hay que descartarla antes de hacer un diagnóstico de la PDA. La PDA se distingue del envenenamiento por plomo por la adición *in vitro* del ditiotritol u otros reactivos sulfhidrilo. Esto produce la restauración de la actividad normal del eritrocito ALAD en pacientes con envenenamiento por plomo, pero ningún cambio en la reducción de la actividad de ALAD en pacientes con PDA.³

La PIA se origina por una deficiencia de la enzima PBG deaminasa (PBGD). En la mayor parte de los países desarrollados, la frecuencia estimada de ataques agudos de PIA es de uno a dos por cada 100 000, con una frecuencia más alta en países escandinavos.³ La PBGD se codifica en el cromosoma 11q23, con más de 100 mutaciones de este gen descritas.³ Aunque la herencia es dominante autosómica, sólo alrededor de 10% de los pacientes con la deficiencia sufren ataques de la enfermedad, de modo que otros factores etiológicos están implicados. Las drogas son la causa más habitual para la ocurrencia de la enfermedad, en especial barbitúricos y sulfamidas. Sin embargo, una amplia gama de drogas llegan a ser peligrosas. Esta enfermedad se caracteriza por varios síntomas neurológicos con dolorosos cólicos estomacales y, a veces, fiebre y vómito. Los hallazgos característicos de laboratorio constan de una elevación marcada de la ALA y el PBG en la orina, aunque estos resultados tal vez sean normales entre un ataque y otro. La orina de un paciente con manifestaciones clínicas de PIA tal vez se vuelva roja o café oscuro debido a la conversión no enzimática a uroporfirina I, un proceso que tal vez se retrase con la refrigeración, la protección contra luz y el ajuste alcalino a un pH de 8.0 a 9.0. Las anomalías electrolíticas, como la hiponatremia durante ataques agudos, contribuyen a realizar el diagnóstico.³ Se realiza medición de los niveles de eritrocito o de linfoblasto de la PBGD para confirmar el diagnóstico.⁴

La PEC, una deficiencia de la uroporfirinógeno cosintasa, es una de las porfirias más raras (menos de 200 casos informados). Por lo general, aparece poco después del nacimiento, con manifestaciones iniciales de manchas de color rojo marrón de la orina en los pañales y fotosensibilidad cutánea.⁴ También se conoce como *enfermedad de Günther*. En los dientes se observa fluorescencia roja bajo luz

ultravioleta y decoloración roja o pardusca bajo luz normal como resultado de depósitos de porfirina en el esmalte dental. Las porfirinas de orina y fecales, URO I y COPRO I, se elevan en gran medida. A menudo la orina es roja debido a la presencia de URO y COPRO. La fotosensibilidad representa un problema clínico principal, que ocasiona lesiones que llegan a infectarse y dejan al paciente con cicatrices o incidencias múltiples que tal vez produzcan la mutilación de oídos, nariz o dedos. Con frecuencia se observa crecimiento anormal de cabello en las áreas expuestas. Se piensa que las desfiguraciones de este trastorno y la tendencia a evitar la luz del día (de ahí que quienes lo padecen sólo salgan en la noche) dio origen a la leyenda de los hombres lobo.⁵ Además, los pacientes desarrollan anemia hemolítica y esplenomegalia con hemólisis que sirve como estímulo para aumentar la producción de porfirina en la médula ósea.⁶ El trasplante alogénico de médula ósea resultó curativo en pacientes con PEC. El uso de células madre para el tratamiento de pacientes con PEC está bajo investigación.³

En la PCT, la porfiria más frecuente, y en la más rara PHE, ocurre deficiencia de uroporfirinógeno descarboxilasa (UROD). La PCT se subdivide en dos tipos: el tipo I esporádico, en el que la actividad reducida de la UROD se restringe al hígado y no existe antecedente familiar de la enfermedad; y el tipo II familiar, caracterizado por deficiencia de UROD en todo el tejido y un patrón hereditario autonómico dominante. En estudios genéticos se demostró que la PCT no es un simple trastorno monogénico, sino más bien un grupo de enfermedades caracterizadas por diversas mutaciones en la codificación del gen (mapeo en el cromosoma 1p34) para UROD y tal vez en otros genes externos al sitio de la UROD.⁷ Por lo general, la PCT se presenta en la edad adulta con ampollas y fragilidad cutáneas en áreas expuestas a la luz, de manera típica las manos, junto con cierto crecimiento anormal de cabello. En las muestras de biopsia del hígado de estos pacientes se observa fluorescencia, hemosiderosis, infiltración de grasa y grados variables de necrosis y fibrosis. La PCT se diferencia del resto de las porfirias por tres características: a) relación de lesiones de la piel con deficiencia grave de la UROD, lo que da como resultado aumento de la excreción de uroporfirina, porfirina heptacarboxílica, isocopro-

porfirina y otras porfirinas; b) remisión seguida de dosis baja de cloroquina o disminución de hierro; y c) cierto grado de daño celular hepático en casi todos los pacientes.⁸ En sujetos con predisposición genética, la PCT se induce por varios factores, como el alcohol, el estrógeno, los hidrocarburos aromáticos halogenados (hexaclorobenceno y 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina), la infección por hepatitis C y el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), la talasemia, los tumores hepáticos, la hemodiálisis y el trasplante de la médula ósea.^{7,9} En las pruebas de laboratorio, la PCT se caracteriza por aumento de las concentraciones de URO urinario, COPRO, y 7-carboxil porfirina III, URO plasmática e isocoproporfirinas fecales (ISOCOPRO)⁴. Otro hallazgo de laboratorio que también se observa en esta enfermedad es elevación de hierro sérico, ferritina y enzimas hepáticas.

La PHE, una forma rara de la PCT, ocurre en individuos que padecen estados homocigóticos u heterocigóticos compuestos por mutaciones que producen deficiencia marcada de UROD.³ Las características clínicas son similares a las de la PEC, incluyendo fotosensibilidad que comienza en la niñez. Los pacientes son afectados de manera grave y desarrollan exceso de vello facial y cicatrices en las manos y la cara. La gravedad de la fotosensibilidad mejora un poco con la edad, pero la enfermedad hepática continúa. Los niveles de porfirina urinaria y fecal son similares a los encontrados en la PCT. Las concentraciones de la cinc protoporfirina (ZPP) del eritrocito aumentan en la PHE y son normales en la PCT.⁴

La CPH, una deficiencia de la coproporfinógeno oxidasa, es una afección muy leve con manifestaciones sobre todo neurológicas y fotosensibilidad cutánea en alrededor del 30% de los pacientes.⁴ Los ataques se precipitan por la exposición a ciertas drogas, hormonas y cambios alimenticios.³ La característica distintiva de la CPH es un aumento importante de la excreción de COPRO III en orina y heces y la presencia de harderoporfirina, una porfirina tres-carboxil en las heces. También ocurre un incremento de la COPRO en plasma. Durante ataques agudos, se eleva la excreción urinaria de COPRO III, ALA y PBG. La PV es frecuente en el sur de África y sus orígenes se remontan a una pareja que emigró de Holanda en 1688. La causa es una deficiencia de la actividad de la protoporfinógeno oxidasa. Las manifestaciones clínicas incluyen ataques agudos de disfunción neurológica (como los de la PIA) o fotodermatitis (como en la CPH y la PCT), o ambos. Los hallazgos característicos en laboratorio constan de aumento de los niveles de COPRO y PROTO en heces, con concentraciones de PROTO que exceden las de COPRO y de COPRO III más elevadas que las de COPRO I. Los complejos de porfirina-proteína específicos de la PV (X-porfirinas) están presentes en plasma.⁴ Durante ataques agudos, aumenta la excreción urinaria de ALA y PBG. Sin embargo, en sujetos asintomáticos, la excreción a menudo es normal.

La PE, la segunda porfiria mas frecuente, se produce por una deficiencia de la ferroquelatasa, la última enzima en la ruta del hemo. El principal síntoma clínico es la fotosensibilidad, que por lo general se presenta a partir de la infancia. Los pacientes se quejan de quemaduras, comezón

o dolor en la piel al exponerse a luz solar. Además, algunos padecen enfermedad hepática grave. El diagnóstico de PE se establece al demostrar aumento de los niveles de PROTO en eritrocitos, plasma y materia fecal, junto con porfirinas urinarias normales o aumento de COPRO I. En la PE se observan concentraciones elevadas de protoporfirina libre (no unida al cinc) en eritrocitos y plasma. La expresión clínica de la enfermedad varía en gran medida. En algunos individuos no se observan manifestaciones clínicas de la enfermedad, pero existe aumento de los niveles de PROTO-eritrocito. La herencia secundaria de una segunda mutación débil del gen de ferroquelatasa (además de las mutaciones primarias detectadas) tal vez explique las diferencias individuales importantes de la expresión clínica.³

El tratamiento de las porfirias hereditarias está destinado a modificar las anomalías bioquímicas que causan los síntomas clínicos. Las manifestaciones cutáneas se tratan al evitar la luz solar, usar bloqueadores y consumir β -caroteno por vía oral, que actúa como una trampa de oxígeno, para prevenir daño en la piel. La reducción de la carga de hemo se logra por flebotomía o al administrar desferrioxamina para quelar al hierro. Es posible utilizar la hematina intravenosa para contrarrestar los ataques agudos de la disfunción neurológica. La hematina, una enzima inhibidora, limita la síntesis de porfirinas en células de la médula ósea. El cese de factores precipitantes, como la ingestión de alcohol o de estrógenos, debe constituir la primera línea del tratamiento para la PCT.¹⁰ Al parecer la terapia de gen (la adición del gen normal a las células madre de la médula ósea del paciente, como añadir el gen normal de la ferroquelatasa a las células de un paciente con PE) constituye un tratamiento futuro factible para las porfirias.¹⁰

El término *porfirias secundarias*, o *porfirinurias*, se aplica a trastornos adquiridos en los que se observa un aumento leve a moderado en la excreción de porfirinas urinarias. En este caso, dichos trastornos no son resultado de un defecto bioquímico heredado en la síntesis del hemo, sino que se originan por otro trastorno, toxina o droga que interfiere con la síntesis del hemo. Los síntomas, en algunos casos, son similares a las porfirias heredadas. Varias anemias, enfermedades hepáticas y toxinas, como el plomo y alcohol, caen en esta categoría. El plomo inhibe la actividad de la PBG sintasa y la incorporación del hierro en el hemo. Las porfirias secundarias se distinguen de las verdaderas al medir los niveles de ALA y PBG urinarios. En la porfiria secundaria, las concentraciones de ALA aumentan en la orina, en tanto que la excreción de PBG a menudo permanece normal. En el envenenamiento por plomo también se suele observar un aumento de COPRO en orina y del eritrocito ZPP, así como elevación de ALA. Sin embargo, la determinación del plomo en sangre es el método más preciso para detectar envenenamiento por plomo.

Métodos para el análisis de porfirinas

Existen análisis enzimáticos individuales disponibles para cada enzima defectuosa que causa porfiria. Por lo general, estos procedimientos incluyen la adición del sustrato bajo condiciones cercanas al pH y temperatura fisiológicos, el

ESTUDIO DE CASO 16-1

Un hombre de 58 años de edad con antecedente de alcoholismo se queja de aumento de la fragilidad de la piel y formación de lesiones cutáneas en manos, frente, cuello y oídos durante exposición al sol. Además, en un examen físico se observó hiperpigmentación e hipertrichosis. En los hallazgos de laboratorio se mostró un aumento de la uroporfirina urinaria y ligero aumento de la coproporfirina, con niveles normales de ALA y porfobilinógeno. La isocoproporfirina fue elevada en heces. La ferritina y la transaminasa séricas aumentaron. Las concentraciones de la ZPP del eritrocito y FEP fueron normales.

Preguntas

1. ¿Cuál es el trastorno más probable?
2. ¿Qué prueba confirmativa se debe realizar?
3. ¿Cuál es el factor precipitante más probable?
4. ¿Cuáles son otras causas de casos adquiridos de este tipo de porfiria?
5. ¿Cómo se distingue este caso de la deficiencia de homocigos de esta enzima?
6. ¿Cómo se distingue este tipo de porfiria de otras que causan síntomas cutáneos?

cese de la reacción por la adición de agentes precipitantes de proteína y la separación (a menudo por HPLC), seguida por identificación y cuantificación fluorométrica, de los productos de la porfirina.⁴ Sin embargo, la mayor parte aún está limitada para su uso en laboratorios especializados y no se estudian aquí. Es posible realizar pruebas de valoración con facilidad, mismas que tal vez sean benéficas en situaciones de urgencia. Sin embargo, se debe poner atención en la interpretación por la ocurrencia de resultados falsos-negativos y falsos-positivos.¹¹⁻¹² En los análisis cuantitativos es necesario seguir todas las pruebas de investigación. Los análisis cuantitativos de las tres porfirinas (URO, PROTO y COPRO) y de los dos precursores de porfirina (ALA y PBG) sirven para clasificar la mayor parte de las porfirias.

Pruebas para el PBG y ALA urinarios

Las dos pruebas de valoración más frecuentes del PBG urinario son las de Watson-Schwartz y de Hoesch.^{4,13} Ambas pruebas se basan en el principio de que el PBG forma un

color rojo-anaranjado cuando se mezcla con el reactivo de Ehrlich (ácido *p*-dimetilaminobenzaldehído). En la prueba de Watson-Schwartz, se realiza una extracción con cloroformo o butanol para diferenciar al PBG de sustancias interferentes, como el urobilinógeno o el indol. Si permanece un color rojo cereza en la fase acuosa después de añadir cloroformo o butanol, esto indica una prueba positiva para PBG. El reactivo de la prueba de Hoesch no reacciona con el urobilinógeno; por tanto, a veces se utiliza para confirmar los resultados de la prueba de Watson-Schwartz. El porfobilinógeno y ALA se determinan de manera cuantitativa por separación sucesiva en dos columnas de intercambio iónico.⁴ Una alícuota de orina se carga en una columna de intercambio aniónico o de alúmina que retiene el PBG, en tanto el ALA pasa a través de ella. Después de lavarlo para quitar sustancias interferentes, el PBG se diluye con ácido acético y se mide de manera espectrofotométrica a través del reactivo de Ehrlich. El sobrenadante de la primera columna se carga en una columna de intercambio

ESTUDIO DE CASO 16-2

Días después de una laparotomía por "obstrucción intestinal", una joven enfermera del sur de África comenzó a padecer trastornos emocionales e histeria. Durante más de una semana antes de la operación, tomó cápsulas de barbitúrico para ayudar al sueño. Cuando se le revisó por primera vez, se quejó de dolor abdominal y muscular grave y de debilidad general. Se observó ausencia de los reflejos del tendón, además de vómito y estreñimiento. Su orina era de color oscuro sobre el estándar y emitió una fluorescencia rosa brillante cuando se le observó bajo luz ultravioleta. En un plazo de 24 horas, quedó paralizada por completo y a los dos días murió.

Preguntas

1. ¿Qué posible trastorno padecía esta joven, y por qué se manifestó en ese momento?
2. ¿Podrían algunos miembros de su familia tener una enfermedad similar?
3. ¿Qué defecto enzimático padecía?
4. ¿Qué otras pruebas confirmativas, si es que las hay, podrían realizarse?

catiónico para retener el ALA y luego es eluido con acetato de sodio. El ALA eluido actúa con el reactivo de Ehrlich después de condensarlo con acetilacetona para formar un pirrol y luego medirlo de manera espectrofotométrica.⁴

Pruebas para las porfirinas

Las pruebas de valoración y cuantitativas de porfirinas en orina, sangre (eritrocitos y plasma) y heces se basan en el aumento de la fluorescencia de estos compuestos en solución ácida. Por lo general, se extrae una alícuota de la muestra en un solvente orgánico y luego se vuelve a extraer en una capa acuosa acidificada. En procedimientos de valoración, las muestras que contienen porfirinas exhibirán fluorescencia rosada o roja en la capa acuosa cuando se observan bajo la lámpara de Wood (ultravioleta). Los procedimientos cuantitativos incluyen mediciones fluorométricas a menudo a una longitud de onda de excitación de 400 a 405 nm y longitud de onda de emisión de 594 a 598 nm. Las soluciones estándar de coproporfirina, uroporfirina y, tal vez, protoporfirina se utilizan para calcular las concentraciones de porfirina en las muestras. Cada porfirina exhibe diferentes longitudes de onda de excitación y de emisión (depende del solvente). En algunos procedimientos se utilizan longitudes de onda medias, en tanto que en otros se incluyen varias mediciones y cálculo de los niveles de cada porfirina. Para verificar resultados positivos y eliminar posibles interferencias, se recomienda comparar la tomografía de la fluorescencia con las tomografías de estándares. Los procedimientos fluorométricos son más sensibles que aquellos que miden la absorbancia de porfirinas.

En otras pruebas de porfirinas se utiliza la separación cromatográfica y cuantificación de las porfirinas individuales con espectrofotometría o fluorometría. La cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa (CLAR) separa las porfirinas, incluyendo los isómeros. La electroforesis de zona capilar (EZC), que separa compuestos con base en la proporción carga/masa (modificada por el ajuste del pH), constituye otra técnica cromatográfica usada para la cuantificación de porfirinas. Esta técnica es tan sensible como la CLAR en la detección de fluorescencia y tiene las ventajas de instrumentación más sencilla, uso mínimo de solvente orgánico y consumo de reactivo más bajo.⁴

La cinc protoporfirina, un metabolito normal formado por la quelación de cinc en lugar de hierro con protoporfirina durante la biosíntesis del hemo, es otra porfirina que debe medirse. El aumento en la formación de cinc protoporfirina ocurre durante períodos de insuficiencia de hierro o deterioro del uso del mismo. Desde el punto de vista clínico, se respalda el empleo de la ZPP como prueba valiosa para evaluar la nutrición y el metabolismo del hierro en varios contextos, incluyendo el pediátrico, obstétrico y de donación de sangre, así como prueba de valoración de anemia por deficiencia de hierro y exposición al plomo en adultos.¹⁴ Un método rápido de valoración de la determinación de ZPP incluye la medición de la fluorescencia de sangre entera y de eritrocitos lavados con un hematofluorómetro. Se recomienda que las concentraciones de

ZPP se informen como proporción con la concentración del hemo (por mol de hemo).¹⁴

Las técnicas de diagnóstico molecular comienzan a ser útiles en el diagnóstico de las porfirias.^{3,15} Están identificados la mayor parte de los genes que codifican las enzimas de la síntesis del hemo, y descubiertas las mutaciones que causan varias porfirias. El uso de estas técnicas para ayudar en el diagnóstico de porfirias tiene ciertas ventajas sobre los análisis bioquímicos tradicionales. La interpretación de las pruebas tradicionales se complica por el hecho de que los analitos que se miden tal vez sean normales, excepto durante ataque agudo. Además, la cantidad de porfirina excretada en los distintos trastornos es bastante variable, lo que produce traslape importante entre los pacientes afectados y los normales. Al valorar la mutación causante de la enfermedad, es posible superar estos problemas de variabilidad biológica y la actividad de la enfermedad. Sin embargo, quizá la aplicación más importante de la evaluación molecular radica en su uso para detectar portadores asintomáticos del gen, que no se identifican con facilidad en las pruebas estándar de laboratorio.¹⁵

HEMOGLOBINA

Papel en el cuerpo

La hemoglobina tiene muchas funciones importantes en el cuerpo. Su papel más importante es el transporte del oxígeno al tejido y del CO₂ de regreso a los pulmones. La molécula de la hemoglobina está diseñada para captar oxígeno en áreas de alta tensión de oxígeno y liberarlo en áreas de baja tensión. La hemoglobina se lleva a todos los tejidos del cuerpo por los eritrocitos. Además, la hemoglobina representa uno de los principales sistemas amortiguadores del cuerpo.

Estructura de la hemoglobina

La hemoglobina es una molécula proteica grande y compleja con peso molecular de alrededor de 64 000. Tiene forma casi esférica y consta de dos partes principales: el hemo, que comprende 3% de la molécula, y las proteínas globinas, que representan el 97% restante. La porción del hemo abarca un anillo de porfirina con el hierro quelado en el centro. El átomo de hierro es el sitio de unión reversible del oxígeno. La porción de proteína consta de dos pares de cadenas de globina que se tuercen juntas para que los grupos hemo queden expuestos en el exterior de la molécula (fig. 16-3). La molécula completa de hemoglobina contiene cuatro grupos hemo unidos a cada una de las cuatro cadenas de globina y transportan hasta cuatro moléculas de oxígeno. Cada cadena de globina contiene 141 o más aminoácidos.

La estructura de cada cadena es de cuatro pliegues. La estructura primaria consta de los aminoácidos individuales y sus secuencias. Éstas varían y son la base de la nomenclatura de la cadena: α , β , δ y γ . La estructura secundaria es la disposición tridimensional de los aminoácidos que componen la cadena del polipéptido. Regiones de aminoácidos forman hélices o una estructura plisada. La estructura

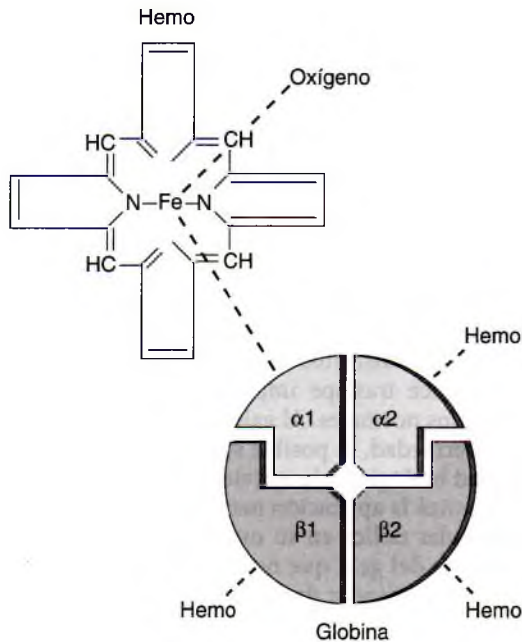


FIGURA 16-3. Hemoglobina A: estructura de la molécula de la hemoglobina.

terciaria es un pliegue más grande sobrepuesto sobre formas helicoidales o plisadas. Representa la posición que adopta cada cadena o subunidad en el espacio tridimensional. La estructura cuaternaria representa la relación de las cuatro subunidades entre sí, en particular en los puntos de contacto. Las mutaciones en puntos particulares de contacto dan lugar a alteraciones en las propiedades funcionales específicas de la molécula, como su afinidad por el oxígeno.

En adultos mayores, a la mayor parte de la hemoglobina se le designa como hemoglobina A, o A_1 , que contiene dos cadenas α y dos β (fig. 16-3). La hemoglobina A_2 , que consta de dos cadenas α y dos δ , comprende menos de 3% de la hemoglobina del adulto normal. El resto se compone de hemoglobina F, que contiene dos cadenas α y dos γ . La hemoglobina F es la hemoglobina principal durante la vida fetal y alrededor de 60% de la hemoglobina normal al nacer. Existe un cambio gradual de la producción de cadenas δ a β , y, alrededor de los 9 meses de edad, la hemoglobina F suele constituir menos de 1% de la hemoglobina total. La hemoglobina F tiene mayor afinidad para el oxígeno que la hemoglobina A; por tanto, se trata de un portador más eficiente de oxígeno para el feto. La hemoglobina F es más resistente al álcali que la hemoglobina A. Esta es la base de una prueba de laboratorio para diferenciar estos dos tipos de hemoglobina.

Otras dos cadenas de hemoglobina, denominadas ζ y ϵ , están presentes sólo en el embrión. La producción de estas cadenas cesa para la octava semana de gestación, y tiene lugar la producción de las cadenas γ . Las tres hemoglobinas embrionarias se identifican como Gower I, dos cadenas ζ y dos cadenas ϵ ; Gower II, dos cadenas α y dos cadenas ϵ ; y Portland I, dos cadenas ζ y dos cadenas γ .

El control genético de la síntesis de la hemoglobina ocurre en dos áreas: el control de la estructura y el control del índice y la cantidad de producción. Los defectos en la estructura producen un grupo de enfermedades denominadas *hemoglobinopatías*. Los defectos en el índice y la cantidad de producción conducen a trastornos denominados *talasemias*. Desde el punto de vista estructural, cada cadena de globina tiene su propio sitio genético; por lo tanto, son las cadenas individuales, no la molécula entera de hemoglobina, las que están bajo control genético. Los genes de las cadenas de la globina se dividen en dos grupos importantes: los genes α , situados en el cromosoma 16, y los genes no- α , en el cromosoma 11. En la mayoría de las personas, se duplica el sitio del gen α (hay dos genes de cadena α por cada conjunto haploide de cromosomas). El gen α y, por tanto, sus cadenas de polipéptido son idénticos en las hemoglobinas A, A_2 y F. Los genes no- α para las cadenas β , δ y γ son lo bastante parecidos en términos genéticos para ser sujetos a una combinación no homóloga, con la producción resultante de cadenas de globina fusionadas o híbridas, como las hemoglobinas Lepore (cadena δ - β -globina) y Kenia (cadena γ - β -globina).

De acuerdo con los aspectos genéticos de la producción de la cadena de globina, las anomalías estructurales se dividen en cuatro grupos:

1. Sustituciones de aminoácido (p. ej., hemoglobinas S, C, D, E, O y G).
2. Supresión de aminoácido: supresiones de tres o múltiplos de tres nucleótidos en el ácido desoxirribonucleico (DNA; p. ej., hemoglobina Gun Hill).
3. Cadenas alargadas de globina resultantes de terminación de la cadena, cambio en la secuencia u otras mutaciones (p. ej., hemoglobina Constant Spring).
4. Las cadenas fusionadas o híbridas que se originan por la combinación no homóloga (p. ej., hemoglobinas Lepore y Kenia).

Las sustituciones de aminoácido son las anomalías más frecuentes, con varios cientos descritos hasta ahora. Alrededor de dos terceras partes de las hemoglobinopatías poseen una cadena β afectada. Son silenciosas desde el punto de vista clínico o llegan a causar daño grave, como sucede con la hemoglobina S. Las sustituciones de aminoácido, en la mayor parte de los defectos, se producen por la sustitución de nucleótido de una sola base en el DNA.

Las talasemias, un grupo heterogéneo de trastornos hereditarios, se caracterizan por la ausencia o disminución de la síntesis de una de las cadenas del polipéptido de la hemoglobina humana. En la α -talasemia, la síntesis de la cadena α -globina está ausente o reducida; en la β -talasemia, la síntesis de la cadena β -globina está ausente (β^0 -thal) o parcialmente reducida (β^1 -thal).

Síntesis y degradación de la hemoglobina

La síntesis de la hemoglobina ocurre en los glóbulos rojos inmaduros de la médula ósea: 65% en las células nucleadas y 35% en los reticulocitos. La síntesis normal depende del suministro adecuado de hierro, así como de la síntesis nor-

mal de hemo y proteína para formar la porción de globina. El hemo se sintetiza en la mitocondria de las células. El hierro se transporta a los glóbulos rojos desarrollados por la transferrina, una proteína del plasma. El hierro atraviesa la membrana celular y la mitocondria, donde se inserta en el anillo de la PROTO para formar el hemo. La síntesis proteica de las cadenas de globina ocurre en los polirribosomas citoplásmicos. El hemo sale de la mitocondria y se une a las cadenas de globina en el citoplasma en la etapa final.

La hemoglobina se degrada por dos posibles rutas. A la vía normal se le denomina extravascular porque ocurre fuera del sistema circulatorio: en el sistema reticuloendotelial, o fagocito mononuclear. Dentro de las células fagocitarias esplénicas, o macrófagos, la hemoglobina cede su hierro a la transferrina, su carbón α se expira como CO, las cadenas de globina vuelven al grupo de aminoácidos y el resto de la molécula se convierte en bilirrubina, que experimenta metabolismo adicional. En condiciones normales, 90% de toda la hemoglobina se degrada de esta manera (fig. 16-4).

Por lo general, menos de 10% de la hemoglobina se libera de forma directa en la corriente sanguínea y se disocia en los dímeros α y β . Grandes cantidades se liberan durante episodios hemolíticos. Los dímeros se enlazan a la haptoglobina, que previene la excreción renal de la hemoglobina del plasma y estabiliza el enlace hemo-globina. Después, este complejo se elimina de la circulación por el hígado y se procesa de manera similar a la degradación extravascular. Cuando la cantidad de haptoglobina circulante disminuye, como sucede en un episodio hemolítico, los dímeros liberados pasan a través de los riñones, se les reabsorbe y el hierro se almacena como hemosiderina. Algunos dímeros de la hemoglobina se excretan por la orina, lo que da como resultado hemoglobinuria. Si se excede el límite de almacenamiento de los riñones, las células que

recubren los túbulos renales se liberan y aparecerá hemoglobina, metahemoglobina o hemosiderina libre, o una combinación de las anteriores, en la orina.¹⁶

La hemoglobina que no se une por completo a la haptoglobina o es procesada por los riñones se oxida a metahemoglobina. Los grupos hemo se liberan y se captan por la proteína hemopexina. El complejo hemo-hemopexina se cataboliza y degrada por el hígado. Luego los grupos hemo presentes en exceso de la capacidad de unión del complejo de hemopexina se combinan con la albúmina para formar metahemalbúmina y se retiene por esta proteína hasta que la hemopexina adicional queda disponible para transportarla al hígado (fig. 16-5). La medición en laboratorio de cualquiera de estos productos de la degradación de la hemoglobina contribuye a determinar el aumento de la destrucción de glóbulos rojos, como ocurre en una anemia hemolítica.

Significado clínico y correlación de la enfermedad

Defectos cualitativos de la hemoglobina: las hemoglobinopatías

Hemoglobina S. El defecto del aminoácido de la hemoglobina S se encuentra en la sexta posición sobre la cadena β , donde el ácido glutámico se sustituye por valina, lo que proporciona a la hemoglobina una carga menos negativa que la de hemoglobina A. En Estados Unidos, constituye la hemoglobinopatía más frecuente.

Los individuos presentan el rasgo de célula falciforme (HbAS, el estado heterocigótico) o anemia falciforme (HbSS, el estado homocigótico). La incidencia más elevada se observa en habitantes negros de África y afroestadounidenses: 1 de cada 500 niños padecen anemia falciforme y 8 a 10% porta el rasgo HbAS. También se le detecta en países

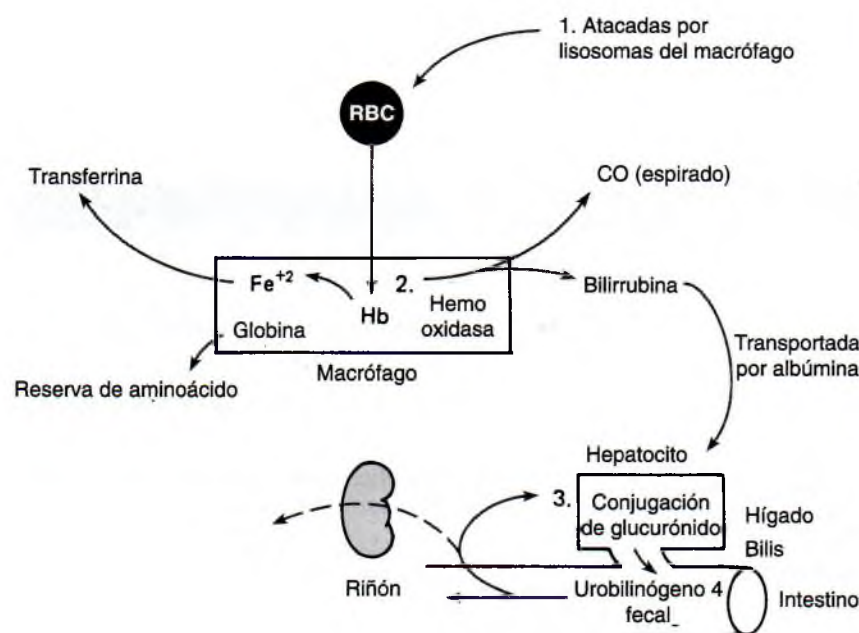


FIGURA 16-4. Degradación extravascular de la hemoglobina.

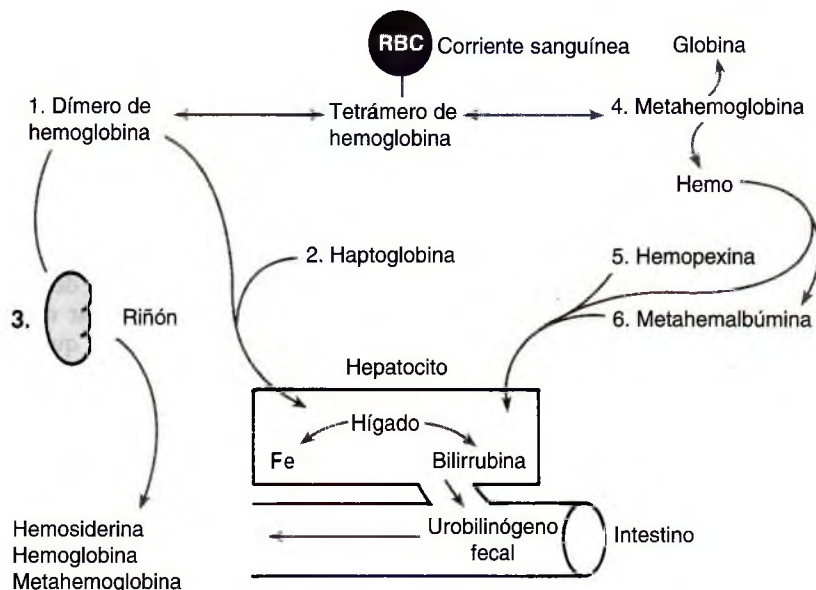


FIGURA 16-5. Degradación intravascular de la hemoglobina.

Degradación intravascular de hemoglobina <10%

mediterráneos, como Grecia, Italia e Israel, así como en Arabia Saudita y la India.

Debido a la mortalidad y morbilidad elevadas que se relacionan con la expresión homocigótica del gen, se esperaría que la frecuencia del gen mutante declinara en la reserva genética. Sin embargo, existe un fenómeno conocido como polimorfismo equilibrado, que indica que el estado heterocigótico (HbAS) tiene una ventaja selectiva sobre cualquiera de los estados homocigóticos (HbAA o HbSS). Al parecer la condición heterocigótica brinda protección contra parásitos, en particular *Plasmodium falciparum*, sobre todo en niños. Cuando padecen infección por *P. falciparum*, los niños con rasgo falciforme tienen menor concentración del parásito, la infección es más breve y la incidencia de muerte es baja. Se piensa que los glóbulos rojos infectados son de manera primordial falciformes y,

por tanto, destruidas de manera eficiente por las células fagocíticas.¹⁷

Cuando la hemoglobina S es desoxigenada *in vitro* bajo condiciones cercanas a las fisiológicas, se vuelve relativamente insoluble en comparación con la hemoglobina A y agregados en polímeros largos y rígidos denominados *tactoides*. Estas células aparecen como formas falciformes o de media luna sobre películas teñidas de sangre. En ocasiones las células falciformes regresan a su forma original cuando se oxigenan; sin embargo, después de varios episodios falciformes, ocurre daño irreversible en la membrana y las células son fagocitadas por macrófagos en el bazo, el hígado o la médula ósea, lo que causa anemia. La gravedad del proceso hemolítico se relaciona de forma directa con la cantidad de células dañadas en la circulación. Las células falciformes rígidas no se deforman ni circulan a tra-

ESTUDIO DE CASO 16-3

Una mujer afroestadounidense de 32 años de edad visitó la clínica de obstetricia y ginecología del hospital local porque se sentía un poco débil. En los glóbulos rojos se encontró hemoglobina de 9.9 g/dl, con VCM de 87 fl. El médico solicitó una electroforesis de la hemoglobina como complemento. El patrón de celulosa-acetato mostró una cifra máxima de 58% en la posición de la hemoglobina A, 35% en la posición de la hemoglobina S y 5% en la posición de la A₂. En estudios adicionales se indicó un resultado positivo de la prueba de solubilidad en ditionita y valor de la hemoglobina F de 1%.

Preguntas

1. ¿Cuál es el mejor diagnóstico posible para esta mujer?
2. ¿Este trastorno requiere seguimiento y tratamiento adicionales?
3. ¿Cuáles son las implicaciones que tiene esta enfermedad para su hijo aún no nacido?
4. ¿Son normales los valores para las hemoglobinas A₂ y F en este trastorno?

vés de pequeños tubos capilares, de modo que se produce obstrucción. Esto origina hipoxia del tejido, lo que causa dolor extremo y conduce a la muerte de éste. Los infartos en el bazo son frecuentes, lo que provoca necrosis excesiva y cicatrices, que conducen a pérdida de la función del bazo en la mayoría de los adultos con anemia falciforme. A esto se le conoce como *autoesplenectomía*. La cantidad de falciformes se relaciona con la cantidad de hemoglobina S en las células. El efecto inhibitor informado de las hemoglobinas A y F se debe a un efecto dilucional. Además, la tendencia de la hemoglobina F a copolimerizarse con la hemoglobina S es menor que con la hemoglobina A. Se considera que esto es responsable del efecto protector observado en presencia de niveles elevados de hemoglobina F en individuos con anemia falciforme.

En presencia de una enfermedad homocigótica, los hallazgos de laboratorio incluyen anemia normocítica y normocrómica, aumento de la concentración de reticulocitos y variación en el tamaño y la forma de los glóbulos rojos con células blanco y falciformes presentes. La policromatofilia y los glóbulos rojos nucleados son frecuentes. La enfermedad heterocigótica es asintomática desde el punto de vista clínico, y por lo general tiene una película normal de sangre. La prueba de solubilidad para hemoglobina S será positiva tanto en la forma homocigótica como en la heterocigótica, pero siempre debe confirmarse con electroforesis de hemoglobina. En electroforesis de acetato de celulosa a un pH alcalino, la hemoglobina S se mueve en una posición entre la hemoglobina A y A₂. De la hemoglobina total, 85 a 100% será hemoglobina S en estado homocigótico y a menudo menos de 50% en el heterocigótico. Las hemoglobinas D y G emigran en la misma posición que la hemoglobina S, pero ambas serían negativas en la prueba de solubilidad. La electroforesis sobre agar citrato a pH ácido es necesaria para separar estas hemoglobinas de la hemoglobina S (véase fig. 16-7).

Hemoglobina C. El ácido glutámico en la sexta posición de la cadena β se sustituye por lisina, lo que da como resultado una carga positiva neta. La hemoglobina C se encuentra en África occidental, en las cercanías del norte de Ghana en un 17 a 28% de la población, y en Estados Unidos en un 2 a 3% de afroestadounidenses.

La forma heterocigótica, la hemoglobina AC, es asintomática. La forma homocigótica suele causar anemia leve y compensada de manera adecuada que se caracteriza por dolor abdominal y esplenomegalia. La característica más prominente de laboratorio es la presencia de células blanco. Existe la tendencia a formar estructuras cristaloides grandes, oblongas y hexagonales dentro de la célula roja. Estas estructuras son más prominentes en pacientes a los que se somete a esplenectomía.

Se obtiene un diagnóstico diferencial por electroforesis sobre acetato de celulosa. La hemoglobina C se mueve con la hemoglobina A₂ y es negativa en la prueba de solubilidad. En la forma heterocigótica, la hemoglobina C cae en el rango de 35 a 48%. Las hemoglobinas E, O y C^{Harlem} emigran con la hemoglobina C. Estas variantes de la hemoglobina se distinguen con facilidad de la hemoglobina C por electroforesis sobre agar de citrato a un pH ácido.

Hemoglobina SC. La enfermedad de la hemoglobina SC es la *hemoglobinopatía* mezclada más frecuente. Un β -gen codifica para las cadenas β -S y el otro β -gen para las cadenas β -C, sin dejar cadenas β normales para producir hemoglobina A. Desde el punto de vista clínico, esta enfermedad es menos grave que la anemia falciforme homocigótica, pero tiene síntomas clínicos similares. En la película de sangre se observan de manera característica muchas células blanco y en ocasiones formas anormales que se asemejan a la célula falciforme o el cristal hexagonal de hemoglobina C, o una combinación de ambos. La prueba de solubilidad es positiva, en tanto que en la electroforesis sobre acetato de celulosa se observan cantidades casi iguales de hemoglobina S y C.

Hemoglobina E. Esta hemoglobina consta de una sustitución del aminoácido del lisina por ácido glutámico en la vigésimo sexta posición de la cadena β , lo que da como resultado una carga positiva neta. La hemoglobina E es algo inestable cuando está sometida a agentes oxidantes.

Se le encuentra en Asia y se estima que está presente en alrededor de 20 millones de personas, con 80% en el sudeste de Asia. En la forma homocigótica, hay anemia leve con microcitosis y células blanco. En la forma heterocigótica, el paciente es asintomático. El diagnóstico diferencial se obtiene por electroforesis. En acetato de celulosa, la hemoglobina E se mueve con A₂, C y O. Está presente en la forma heterocigótica en cantidades que varían de 30 a 45%, lo que constituye un porcentaje un poco más bajo que el de la hemoglobina C. Es probable que esto sea resultado de la naturaleza ligeramente inestable de la hemoglobina E. Sobre agar de citrato, la hemoglobina E emigra con la A. Es más frecuente encontrar este defecto en relación con α y β -talasemia. La ϵ - β -talasemia es un trastorno más grave, con anemia moderada y esplenomegalia.

Hemoglobina D. La letra D se aplica a cualquier variante de la hemoglobina con movilidad electroforética en acetato de celulosa similar a la de la hemoglobina S, pero que tiene prueba de solubilidad negativa. La hemoglobina D^{Los Angeles} y su variante idéntica, la hemoglobina D^{Punjab}, son las más habituales, con glicina sustituida por el ácido glutámico en la posición 121 de la cadena β . A la hemoglobina D^{Punjab} se le encuentra en el noroeste de la India, pero se le llega a observar en ingleses, portugueses y franceses debido a la cercana conexión histórica de estos países con la parte del este de la India. La hemoglobina D^{Los Angeles} se encuentra en el 0.02% de afroestadounidenses.

El estado homocigótico es raro. Hay anemia o esplenomegalia leve, o ambas, y sólo anisocitosis ligera. La afinidad por el oxígeno es más elevada que en la sangre normal. Los individuos heterocigóticos son asintomáticos. El diagnóstico diferencial se establece con electroforesis. Sobre el acetato de celulosa, la hemoglobina D emigra con la hemoglobina S en proporciones de 35 a 50%. Sobre agar citrato, la hemoglobina D emigra con A.

Defectos cuantitativos de la hemoglobina: las talasemias

Las talasemias son un grupo de enfermedades en las que ocurre un defecto en el índice de la síntesis de una o más de las cadenas de la hemoglobina, pero las cadenas son normales

ESTUDIO DE CASO 16-4

A una mujer afroestadounidense de 54 años de edad se le ingresó en el hospital con la queja principal de dolor en la parte izquierda de la cadera y letargo. Presentaba un largo historial de varias visitas a la sala de urgencias por el dolor de la cadera en busca de medicación. Antes se le encontró prueba de solubilidad positiva para la hemoglobina S, pero negó antecedente de anemia falciforme. Existían antecedentes familiares de rasgo de células falciformes. Diez años antes se le practicó mastectomía para cáncer de pecho. Los valores de ingreso en laboratorio fueron los siguientes:

Hemoglobina	5.3 g/dl
Hematócrito	17%
VCM	82 fl
MCHC	31 g/dl
Cuenta de glóbulos blancos	12 000/ μ l
Recuento de plaquetas	53 000/ μ l
Diferencial	Normal
Recuento de reticulocitos	6.4% (corregido, 2.4%)
Morfología de glóbulos rojos	Células blanco; esferocitos; esquistocitos; manchas basofílicas; y formas bizarras, incluyendo alargadas, en forma de bloque y células teñidas de manera más densa

Se solicitó electroforesis de hemoglobina. En la figura 16-4.1 de estudio de caso se muestran los patrones

de la electroforesis sobre acetato de celulosa y agar citrato. En la radiografía de rayos X del pecho se mostró infiltración en el lóbulo derecho inferior con congestión vascular pulmonar y bazo inflamado. El líquido aspirado del tubo nasogástrico fue positivo en sangre.

A la paciente se le administró medicamento para neumonía de aspiración, sangrado gastrointestinal y paro cardíaco congestivo. Se le proporcionaron glóbulos rojos empacados, plasma fresco congelado y plaquetas, pero su estado continuó empeorando. Seis horas más tarde, las pruebas de laboratorio confirmaron coagulación intravascular diseminada (CID). Se realizó una biopsia de la médula ósea, que reveló la necrosis extensa de los componentes de la médula. Tres horas más tarde, la paciente murió por un paro cardíaco.

Preguntas

1. ¿Qué hemoglobinopatía está indicada de acuerdo con los patrones de la electroforesis de la hemoglobina?
2. ¿Qué característica clínica de esta enfermedad difiere del cuadro típico de la anemia falciforme?
3. ¿Qué otras hemoglobinas interactúan con la hemoglobina S y cómo se diferencian de la hemoglobina C?
4. ¿La muerte de esta paciente se debió a la hemoglobinopatía? ¿Es poco habitual que la hemoglobina SC disminuya el tiempo de vida?

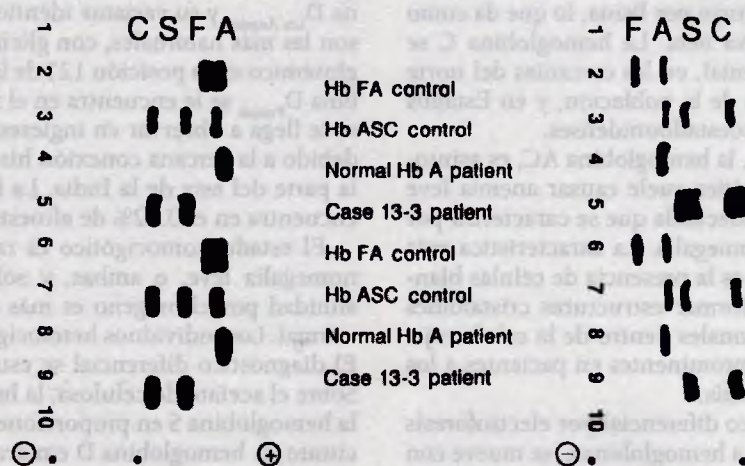


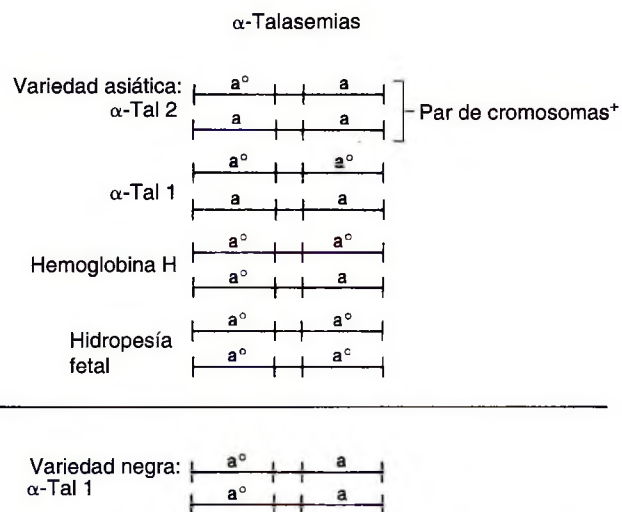
FIGURA 16-4.1 DE ESTUDIO DE CASO. Patrones electroforéticos de la hemoglobina. (A) Acetato de celulosa a pH 8.4. (B) Agar de citrato a pH 6.2. (Datos del estudio de caso cortesía de la Dra. Margaret Uthman, Facultad de Medicina de la Universidad de Texas en Houston.)

desde el punto de vista estructural. Las supresiones de gen o mutaciones de punto representan la causa para disminuir o suprimir la síntesis de la cadena.¹⁸ Los dos tipos más frecuentes son la α -talasemia, que se origina por defecto en la producción de cadenas α , y β -talasemia, por defecto en la producción de cadenas β . Se han descrito los defectos en la producción de las cadenas δ y γ , pero éstas no participan en la producción de hemoglobina A y, por tanto, no son significativas desde el punto de vista clínico. Rara vez las combinaciones de supresiones de gen, como δ y β , conducen a enfermedad clínica. Cualquier forma de producción desequilibrada de las cadenas de globina hace que los eritrocitos sean pequeños, hipocrómicos y algunas veces deformes. La acumulación intracelular de cadenas impares en los eritrocitos en desarrollo causa precipitación de las proteínas, lo que conduce a la destrucción celular en la médula ósea. Aunque se realice la eritropoyesis, ésta es ineficaz porque las células maduras no alcanzan la sangre periférica para transportar oxígeno.

La talasemia se hereda como trastorno dominante autosómico con expresión heterogénea de la enfermedad. Se trata de uno de los trastornos hereditarios más frecuentes, distribuido en todo el mundo. La prevalencia del gen de la talasemia se atribuye a la protección que ofrece contra el paludismo falciparum. El estado heterocigótico produce un trastorno denominado *talasemia menor*, que es asintomática desde el punto de vista clínico y se asemeja a la deficiencia de hierro. El estado homocigótico, *talasemia mayor*, es mortal antes del nacimiento o en la niñez.

α -Talasemias. La α -talasemia se presenta con gran frecuencia en poblaciones asiáticas, pero también se detecta en el África negra, afroestadounidenses, la India y el Medio Oriente. Se conocen cuatro tipos clínicos principales de diversa gravedad que se observan en la población. Estos cuatro tipos se explican, respectivamente, por supresiones de los sitios 4, 3, 2 o 1 del gen α -globina (fig. 16-6). El tipo de α -talasemia encontrado en africanos negros y afroestadounidenses también se relaciona con la supresión de los genes de α -globina, pero en un patrón diferente al observado en la población asiática (fig. 16-6). Los cuatro tipos clínicos de α -talasemia en orden de las mayores supresiones a las menores son los siguientes:

1. La hidropesía fetal es la forma clínica más grave de la α -talasemia debido a la ausencia total de la síntesis de la cadena α . La hemoglobina Bart, que es un tetrámero de cadenas γ , es la principal hemoglobina encontrada en las células rojas de los niños afectados. La hemoglobina de Bart tiene una afinidad bastante elevada por el O_2 y no permite casi ningún transporte del oxígeno al tejido. Estos niños nacen muertos o mueren de hipoxia poco después del nacimiento.
2. La enfermedad de la hemoglobina H tiene síntesis de la cadena α en cerca de una tercera parte de la cantidad de la síntesis de la cadena β . Como resultado, las cadenas β se acumulan y forman tetrámeros, a los que se le denomina *hemoglobina H*. Los precipitados de la cadena β (inclusiones de hemoglobina H) alteran la forma y capacidad de la célula de deformarse, lo que reduce en gran medida el período de vida de las células. Estos



a es cadena α normal (sitios de gen normal).
 a° es cadena α suprimida (sitios de gen α suprimidos).
 + note que un sitio se duplica en cada cromosoma.

FIGURA 16-6. Supresiones de los sitios del gen de α -globina en la α -talasemia.

individuos padecen anemia hemolítica moderada, con 5 a 30% de hemoglobina H, 1% de hemoglobina A_2 y el resto de hemoglobina A. Con tintura supravital, es posible ver las inclusiones de hemoglobina H en las células rojas. La sangre del cordón contiene 10 a 20% de hemoglobina de Bart.

3. El rasgo de α -talasemia (o α -talasemia menor) se origina por la supresión de dos genes, sea en el mismo cromosoma o en diferentes. La supresión en dos cromosomas separados es más frecuente en negros africanos y afroestadounidenses (fig. 16-6). Estos individuos tienen una anemia leve, microcítica e hipocrómica. En ocasiones, el exceso de cadenas β forma inclusiones de hemoglobina H. La sangre del cordón contiene 2 a 10% de hemoglobina de Bart; sin embargo, después de los 3 meses de edad, la electroforesis es normal.
4. Los portadores silenciosos pierden sólo un gen α . Los genes restantes dirigen la producción de suficientes cadenas α para la producción normal de hemoglobina. Este estado sólo es posible detectarlo por la expresión de 1 a 2% de la hemoglobina de Bart en un recién nacido. Después de los 3 meses, se detecta sólo por una prueba más especializada, como el mapeo del gen, la proporción de α : β -globina del ácido ribonucleico mensajero (RNAm) u otros métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (RCP).^{18,19} Se estima que la frecuencia de este trastorno genético alcanza hasta 27% en la población afroestadounidense.¹⁸

β -Talasemias. A diferencia de la α -talasemia, las supresiones del gen no suelen causar β -talasemia. Uno de los varios tipos de mutaciones en el gen β da como resultado falla para producir cantidades normales de cadenas de β -globina. En términos generales, implican la transcripción,

el procesamiento o la traducción defectuosa del RNAm del gen que dirige la producción de la cadena β .¹⁸ Por lo general, las β -talasemias se dividen en enfermedad homocigótica, denominada talasemia mayor o anemia de Cooley, y enfermedad heterocigótica, a la que se le conoce como talasemia menor. Sin embargo, la expresión clínica de la enfermedad es heterogénea, lo que depende del tipo de defecto genético y de la implicación con otros sitios del gen. La enfermedad se divide de manera amplia en dos subtipos principales de acuerdo con la expresión genética: β^1 , en el que las cadenas β se producen en cantidades reducidas, y β^0 , en el que están ausentes por completo las cadenas β .

La Talasemia β^1 es el tipo más frecuente. Existe cierta síntesis de las cadenas β -globina pero en cantidades bastante menores (5 a 30%) de lo normal. El defecto bioquímico muestra una deficiencia cuantitativa de β -globina RNAm. El patrón de la electroforesis de la hemoglobina y la cuantificación de hemoglobina F y A muestran alrededor de 2 a 8% de la hemoglobina A_2 , una cantidad elevada pero variable de hemoglobina F y el resto de hemoglobina A. El volumen celular medio (VCM) es bajo, con anemia grave, reticulocitos, glóbulos rojos nucleados, manchado basofílico, células blanco, poiquilocitosis extrema y anisocitosis.

La β^0 -talasemia explica 10% de la β -talasemia homocigótica, con ausencia total de síntesis de la cadena β pero síntesis intacta de las cadenas γ . En la forma homocigótica, hay 1 a 6% de hemoglobina A_2 y 95% de hemoglobina F. La concentración de hemoglobina es baja, con anemia grave. El aspecto clínico de la forma heterocigótica es similar a la β^1 talasemia homocigótica.

La β -talasemia homocigótica (β -talasemia mayor), tanto β^1 como β^0 , es una enfermedad incapacitante en la infancia. Ésta es diferente en la α -talasemia, en la que el niño muere poco tiempo después de nacer o lleva una vida normal. La anemia hipocrómica y microcítica es resultado del defecto en la síntesis funcional del tetrámero de la hemoglobina y de la destrucción prematura de los glóbulos rojos, tanto intramedular como extramedular, debido al aumento de las cadenas α . La médula ósea se compensa al expandir en gran medida su tamaño, lo que algunas veces causa anomalías estructurales del hueso. El tratamiento de las formas graves de la enfermedad incluye la terapia regular de transfusión, fármacos de quelación de hierro para eliminar su exceso y suplementos de ácido fólico.²⁰ El trasplante de médula ósea tiene éxito si se encuentra disponible un donador de HLA idéntico.¹⁸ Está en estudio la terapia del gen como tratamiento alternativo a futuro.^{21,22}

La β talasemia heterocigótica (talasemia menor) se produce por herencia de un gen de la talasemia, sea β^1 o β^0 . El otro gen que dirige la producción de la cadena β es normal y la supervivencia de los glóbulos rojos no se reduce. Cerca de 1% de los afroestadounidenses padecen la enfermedad y se observa con frecuencia, también, en personas de ascendencia mediterráneas y árabes. Desde el punto de vista clínico, este trastorno es asintomático, pero algunas veces causa anemia microcítica leve. Los valores hematológicos de laboratorio se asemejan a los de la anemia por deficiencia de hierro. Es importante distinguir entre ambas porque requieren tratamientos muy diferentes. Por lo general, el

recuento de glóbulos rojos en la talasemia menor es más elevado de lo que se esperaría con la concentración de hemoglobina acompañante. Además, se observan algunas células blanco o manchado basofílico ocasional en frotis teñido. El parámetro de distribución ancha de las células rojas (DAR) en instrumentos automatizados, que es una medición cuantitativa de la variación del tamaño de glóbulos rojos, tal vez sea útil para diferenciar ambos trastornos. Dicho parámetro suele ser normal en la talasemia y se incrementa en la deficiencia de hierro como resultado de la heterogeneidad de los glóbulos rojos. En la electroforesis de hemoglobina de la talasemia menor se muestra de manera característica aumento de la hemoglobina A_2 . La cuantificación de la hemoglobina A_2 por cromatografía de columna a menudo revela valores de entre 3.5 y 7%.

La δ - β -talasemia es un tipo raro caracterizado por ausencia total tanto de síntesis de la cadena β de la hemoglobina A como de la síntesis de la cadena δ de la hemoglobina A_2 . Los pacientes homocigóticos tienen 100% de hemoglobina F. Las personas heterocigóticas tienen 93% de la hemoglobina A, 2 a 3% de hemoglobina A_2 y 3 a 10% de hemoglobina F.

Los pacientes son anémicos y muestran un fenotipo talasémico porque la síntesis de la cadena γ de la hemoglobina F no es igual a la síntesis de la cadena α . Existe una producción de cadena γ de alrededor de la tercera parte de la cadena α . La hemoglobina F se distribuye de manera heterogénea entre los eritrocitos, según se revela por el procedimiento de tinción por elución ácida.

La persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal (PHHF) es genética y heterogénea desde el punto de vista hematológico. En negros africanos y afroestadounidenses, hay ausencia total de la síntesis de la cadena β y de la δ debido a las supresiones en el cromosoma 11. En adultos, la síntesis de la cadena γ está presente a un nivel alto. Además, en contraste con la síntesis de la hemoglobina F en la β -talasemia o δ - β -talasemia, se distribuye de manera uniforme. En los heterocigotos, no hay desequilibrio en la síntesis de la cadena de globina. Existe 17 a 33% de la hemoglobina F. Los pacientes son normales desde el punto de vista clínico. En homocigóticos, existe 100% de hemoglobina F, sin síntesis de hemoglobina A o A_2 . No hay anomalías hematológicas significativas, con excepción de la eritrocitosis. Estos pacientes son, también, asintomáticos.

Metodología

La mayor parte de las hemoglobinopatías y talasemias se diagnostican por medio de recuento de sangre completo (RSC), evaluación de película de sangre, prueba de solubilidad y electroforesis en acetato de celulosa. La electroforesis en agar de citrato tal vez sea necesaria para la confirmación de algunas hemoglobinas anormales. Es posible que las talasemias requieran cuantificación de la hemoglobina A_2 o F a través de métodos más definitivos. Tal vez la ferritina sérica sea útil para distinguir entre talasemia menor y anemia por deficiencia de hierro. En los casos más complicados llegan a requerirse procedimientos especializados, como el análisis de la cadena de α - β -globi-

ESTUDIO DE CASO 16-5

Un niño caucásico de 5 años de edad fue valorado por un médico por una infección del tracto respiratorio superior y se observó esplenomegalia. Se solicitó un

RSC y, después, electroforesis de hemoglobina. Los resultados fueron:

		INTERVALO DE REFERENCIA
Hemoglobina	8.5 g/dl	11.7–15.7 g/dl
Hematócrito	27%	35–47%
Glóbulos rojos	$4.3 \times 10^{12}/L$	$3.8\text{--}5.2 \times 10^{12}/L$
VCM	62.3 fl	80–100 fl
MCHC	32.0%	32–26%
RDW	18.5%	11.5–14.5%
Plaquetas	$538 \times 10^9/L$	$150\text{--}440 \times 10^9/L$
Glóbulos blancos	$10.7 \times 10^9/L$	$3.5\text{--}11.0 \times 10^9/L$
Recuento de reticulocitos	5.6%	0.5–1.5%
Diferencial de glóbulos blancos	Normal excepto para 1 glóbulo rojo nucleado/100 glóbulos blancos	
Morfología de glóbulos rojos	Anisocitosis moderada, microcitosis moderada, policromasia leve, escasas células blanco, escasos esquistocitos(acetato de celulosa)	
Hemoglobina C	89%	
Hemoglobina F	11%	

La electroforesis de hemoglobina por el método de citrato de agar confirmó la presencia de hemoglobinas C y F. La hemoglobina F, que fue de 7.5%, se determinó por el método de desnaturalización alcalina. No fue posible cuantificar la hemoglobina A₂ debido a la presencia de hemoglobina C. El padre del paciente dijo que él tuvo anemia leve debido a un trastorno de la sangre llamado talasemia. La madre y los cuatro hermanos mayores del paciente estaban sanos e ignoraban la existencia de alguna hemoglobina anormal.

Preguntas

1. ¿Cuál combinación de trastornos heredó con mayor probabilidad el paciente?
2. ¿Por qué la madre y los otros hermanos ignoraban la anormalidad?
3. ¿Por qué el paciente era incapaz de producir hemoglobina A?
4. ¿Qué causó la discrepancia de los valores para la hemoglobina F entre la electroforesis y la prueba de desnaturalización alcalina?
5. ¿Por qué era poco habitual encontrar hemoglobina C en una familia caucásica?

na,^{23,24} cromatografía líquida de intercambio catiónico de alta resolución^{24,25} o prueba con tecnología de DNA.^{24,26}

Prueba de solubilidad (prueba de valoración de hemoglobinas dañinas)^{27,28}

La prueba de solubilidad se basa en el principio de que la hemoglobina dañina, en estado desoxigenado, es relativamente insoluble y forma un precipitado cuando se coloca en una solución amortiguadora de fosfato con elevada molaridad. El precipitado aparece debido a que las moléculas de la hemoglobina desoxigenada forman tactoi-

des que refractan y desvían rayos de luz, lo que produce una solución turbia. Se coloca una cantidad pequeña de glóbulos rojos empaquetados en una solución reguladora de ditionita de sodio con saponina para lisar los glóbulos rojos en un tubo de cristal de 12 × 75 mm. Después de mezclarse bien e incubarse a temperatura ambiente durante 5 min, el tubo que contiene la solución se coloca casi a 2.5 cm frente a una tarjeta pesada de índice de líneas negras. Si no hay hemoglobina dañina presente, las líneas de la tarjeta se observarán con facilidad. De lo contrario, las líneas serán indistintas o imposibles de leer. La prueba

se informa como positiva o negativa para hemoglobina dañina. Se debe ejecutar un control positivo y negativo con cada grupo de pruebas.

Los reactivos antiguos y los que no están a temperatura ambiente interfieren con la prueba. Las pruebas falso-negativas tal vez se deban a anemia o transfusiones recientes u ocurren en lactantes menores de 6 meses de edad debido a las elevadas concentraciones de hemoglobina F. Si se usa sangre entera en lugar de los glóbulos rojos empacados, es posible que surjan resultados falso-positivos debido a eritrocitosis, hiperglobulinemia, leucocitosis extrema o hiperlipidemia, y resultados falso-negativos en caso de anemia. Esta prueba no distingue entre la presencia de homocigóticos y heterocigóticos de hemoglobina S. Además, es posible que otras variantes dañinas raras, como la hemoglobina C_{Harlem}, produzcan una prueba positiva. Esta prueba, que se utiliza a menudo como examen de valoración para hemoglobina dañina en adultos, también se emplea como prueba confirmativa para hemoglobina dañina después de la evaluación inicial con electroforesis sobre acetato de celulosa.

Electroforesis de la hemoglobina sobre acetato de celulosa^{28,30}

Se aplica una hemólisis fresca hecha de una muestra de glóbulos rojos empaquetados a una placa de acetato de celulosa con un amortiguador de pH alcalino (8.4-8.6) y se realiza electroforesis. Después de ésta, la membrana se tiñe y se aclara. La migración de la hemoglobina del paciente se compara con la de un control para la interpretación de la prueba. Es posible realizar un cálculo aproximado de las proporciones de las diferentes hemoglobinas a través de un densitómetro.

El orden de la movilidad electroforética, de la más lenta a la más rápida, es hemoglobinas C, S, F y A (fig. 16.7). (Hay varios dispositivos mnemónicos para recordar el patrón de migración, como acelerado, rápido, lento y de avance.) A la hemoglobina que emigra más allá de la hemoglobina A se le denomina *hemoglobina rápida*. Aquí emigran la hemoglobina de Bart y la H. Habrá que confirmar la presencia de cualquier hemoglobina anormal y el aumento de la cantidad de cualquier hemoglobina normal, como la A₂ y F. Si hay hemoglobina anormal, se confirma con electroforesis sobre agar de citrato y prueba de la solubilidad si se sospecha hemoglobina S. Cuando existe aumento de la cantidad de A₂ o F se cuantifica dicha cantidad. En este método las hemoglobinas D y G coemigran con la hemoglobina S.

Electroforesis sobre agar de citrato

Se realiza a un pH ácido (6.0-6.2) después de que se detecta hemoglobina anormal en la electroforesis sobre acetato de celulosa.^{28,31} En este método, un factor importante en la determinación de la movilidad de la hemoglobina es la solubilidad. La hemoglobina F, con movilidad catódica más rápida, también es la más soluble, tal vez porque es la más resistente a la desnaturalización a un pH de 6.0. Las hemoglobinas adultas con solubilidad similar a la de la hemoglobina A, como D, E, G, O e I, entre otras, se mueven con la hemoglobina A. La relativamente insoluble hemoglobina S se mueve detrás de la hemoglobina A, y la

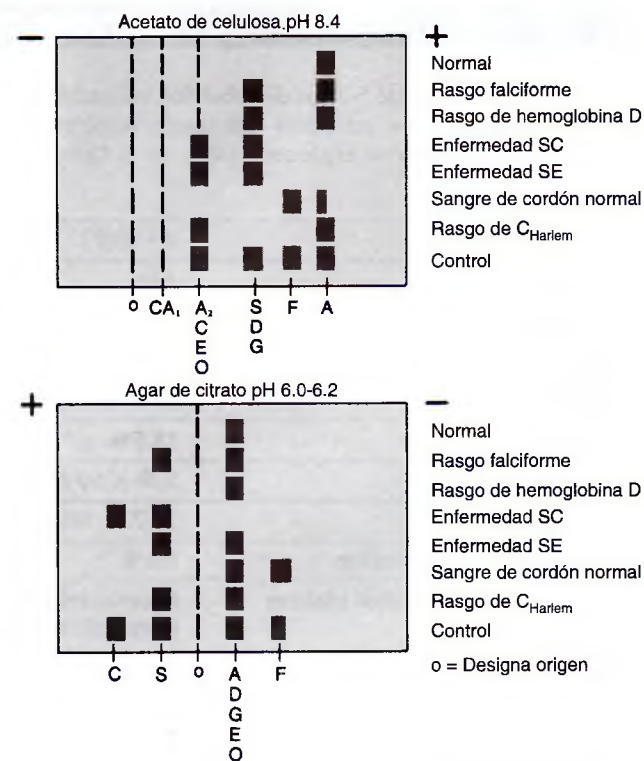


FIGURA 16-7. Comparación de las diversas muestras de hemoglobina sobre acetato de celulosa y agar de citrato.

aún mas insoluble hemoglobina C se mueve detrás de la hemoglobina S (fig. 16-7).

Cuantificación de la hemoglobina A₂

La cantidad de hemoglobina A₂ se calcula por electroforesis de la hemoglobina. Sin embargo, esto sólo proporciona un cálculo aproximado. La cuantificación se obtiene de mejor manera por cromatografía de microcolumna^{23,32} o cromatografía líquida de alta resolución.^{24,25}

Tinción de elución ácida para hemoglobina F^{28,33}

Los eritrocitos que contienen una mayor cantidad de hemoglobina F se distinguen de las células normales adultas a través de la técnica de elución ácida. Es posible que este método sea útil en el diagnóstico de la persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal o para detectar células fetales en la circulación materna durante problemas en el embarazo. En el método microscópico, la hemoglobina adulta, la hemoglobina A, se elude de los eritrocitos por incubación en una solución amortiguadora ácida. La hemoglobina F permanece detrás y se tiñe con eosina. Las células adultas son negativas y no se tiñen porque no contienen hemoglobina F. También es posible detectar los glóbulos rojos fetales a través de métodos de análisis del flujo citométrico.³⁴

Cuantificación de la hemoglobina F

La hemoglobina fetal se cuantifica con base en el principio de que ésta es resistente a la desnaturalización alcali-

na en una solución de 1.25 mol/L de NaOH durante dos minutos. La hemoglobina A desnaturalizada se precipita con sulfato amonio y se separa por filtración. La densidad óptica de la solución sobrenadante clara se lee a 540 nm, en tanto el porcentaje de la hemoglobina fetal se calcula contra la densidad óptica de las soluciones de hemoglobina total.²⁸ Se recomienda la cromatografía líquida de alta resolución como método de elección para la cuantificación de la hemoglobina fetal.²⁵

El adulto promedio tiene menos de 1.5% de hemoglobina fetal. Sin embargo, es posible encontrar concentraciones elevadas en varias enfermedades heredadas y adquiridas. Se sospecha persistencia hereditaria de hemoglobina fetal en individuos que poseen 10% o más de hemoglobina fetal sin otras anormalidades clínicas evidentes.

Tecnología del DNA

El diagnóstico definitivo de algunas hemoglobinopatías y talasemias que implican combinaciones de defectos genéticos tal vez requiera análisis de DNA. Con el aumento en el uso y la eficacia de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa, la secuencia de DNA en cuestión se analiza con facilidad a partir de sangre entera o puntos de sangre seca sobre filtro de papel. Con los métodos de secuencia automatizados disponibles en la actualidad, el tiempo requerido para realizar este tipo de análisis no es mucho mayor al de la metodología estándar. Las desventajas de estos métodos son el elevado costo y la falta de disponibilidad en la mayor parte de los laboratorios rutinarios. Entre las ventajas se encuentran el suministro de información definitiva del genotipo del paciente y, en algunos casos, la detección directa de lesiones moleculares. Las técnicas específicas se analizan en otra parte.^{24,26}

La fortaleza especial de la tecnología del DNA radica en el diagnóstico prenatal de la talasemia mayor. Debido a que los genes de la globina están presentes en todos los tejidos, incluyendo los que no están activos, es posible establecer el diagnóstico prenatal de los estados talasémicos a través de muestras de tejido que son relativamente fáciles de obtener, como villi coriónica o células del líquido amniótico, en lugar de sangre fetal, que se obtiene con mucha mayor dificultad y con riesgo bastante más elevado para el feto.²⁶

Además, la tecnología del DNA se utiliza en el diagnóstico prenatal de la anemia falciforme. Las células fetales obtenidas por amniocentesis o muestreo de vellosidad coriónica se analizan con técnicas similares a las que se utilizan en las talasemias. También es posible emplear la electroforesis de hemoglobina en un hemolisato de células de sangre fetal en casos en los que la tecnología de prueba de ADN es inasequible o cuando se requieren resultados rápidos, debido a la avanzada edad gestacional del paciente.²⁸

MIOGLOBINA

Estructura y función en el cuerpo

La mioglobina es una hemoproteína encontrada sólo en el músculo esquelético y cardíaco de seres humanos. Se une de manera reversible con el oxígeno de forma similar a la molécula de hemoglobina. Sin embargo, la mioglobina no libera oxígeno, excepto bajo tensión de oxígeno escaso. La mioglobina es una hemoproteína simple que contiene una cadena de polipéptido y un grupo hemo por molécula. La cadena de polipéptido contiene 153 aminoácidos, lo que hace que sea un poco más grande que una cadena en la molécula de la hemoglobina. Por tanto, su tamaño es un tanto mayor a una cuarta parte de una molécula de hemoglobina, con un

ESTUDIO DE CASO 16-6

Una mujer caucásica de 22 años de edad con herencia italiana dijo que tenía anemia leve y recibió tratamiento periódico con hierro durante su vida. Era estudiante de un programa científico de laboratorio clínico y se sometió a RSC como parte de una clase de hematología.

Los valores del laboratorio fueron los siguientes:

		Intervalo de referencia
Hemoglobina	11.0 g/dl	11.7-15.7 g/dl
Hematócrito	34%	35-47%
Glóbulos Rojos	$5.8 \times 10^{12}/L$	$3.8-5.2 \times 10^{12}/L$
VCM	59.4 fl	80-100 fl
MCHC	31.9%	32-36%
RDW	14.2%	11.5-14.5%

A partir de estos valores, el profesor de hematología sospechó un trastorno heredado en lugar de deficiencia de hierro y sugirió que la estudiante se pusiera en contacto con su médico para realizar pruebas adicionales. La electroforesis de hemoglobina reveló cantidades un poco mayores de hemoglobina F y A_2 , que luego se cuantificaron para mostrar 3.2% de hemoglobina F y 4.2% de hemoglobina A_2 . Los estudios de hierro eran normales.

Preguntas

1. ¿Cuál es el trastorno más probable?
2. ¿Cuáles valores del RSC llevaron al profesor a sugerir pruebas adicionales?
3. ¿Por qué es importante que este trastorno se diagnostique de manera adecuada?

peso molecular de alrededor de 17 000. El átomo del hierro en el centro del grupo hemo constituye el sitio del enlace reversible del oxígeno, idéntico al de la molécula de hemoglobina. En el cuerpo, la mioglobina actúa como portador de oxígeno en el citoplasma de la célula muscular. Su función principal es el transporte del oxígeno de la membrana de la célula muscular a la mitocondria. La mioglobina sirve como reserva extra de oxígeno para ayudar al músculo a mantener por más tiempo la actividad ejercitante.

Significado clínico

El daño a los músculos a menudo produce aumento de las concentraciones de mioglobina en suero y orina (cuadro 16-2). La aclaración renal es rápida, en tanto la mioglobulinemia posterior a una sola lesión tiende a ser transitoria. Las concentraciones altas de mioglobina llegan a ocasionar insuficiencia renal aguda (IRA). La medición de mioglobina en suero y orina debe utilizarse para calcular el índice de aclaración de la mioglobina. La combinación de mioglobina sérica elevada (≥ 400 ng/ml) y un índice de aclaración bajo (≤ 4 mL/min) indica riesgo de IRA.³⁵ La mioglobina en orina tendrá una reacción cruzada con la prueba de la hemoglobina en la marca de medición y causará una reacción positiva. La confirmación de la mioglobulinuria por un análisis más específico, como el inmunoanálisis, permite la diferenciación de la hemoglobinuria. Es posible realizar medición de la mioglobina en orina o suero cuando se sospecha que la rabdomiólisis o cualquier enfermedad o lesión produce daño muscular.

En la actualidad, la principal aplicación de la prueba de mioglobina sérica radica en la investigación del dolor de pecho para diagnosticar o descartar el infarto de miocardio agudo (IMA). La mioglobina se recomienda como marcador opcional para la detección temprana del IMA.³⁶ Las células del músculo cardíaco dañado liberan mioglobina en las primeras horas del comienzo del infarto del miocardio, con valores máximos en un plazo de 2 a 3 h o hasta en 30 min. Por tanto, la mioglobina constituye el primer marcador cardíaco que aumenta, incluso más pronto que

la isoenzima MB de la creatina cinasa (CKMB) o troponina (T o I). Aunque el incremento de mioglobina en la circulación proporciona un indicador temprano en el infarto del miocardio, los resultados falso-positivos llegan a ocurrir a partir de cualquier lesión del músculo esquelético que también contenga hemoglobina. El uso de mioglobina como marcador temprano será seguido por el uso de un marcador definitivo, como la troponina (T o I), que es más específico para enfermedad cardíaca pero no aparece en la sangre tan rápido. A pesar de la especificidad deficiente de la mioglobina para el miocardio, se debe descartar daño al músculo esquelético en muchos casos. Los resultados negativos de mioglobina en las primeras horas después del dolor en el pecho se utilizarán para descartar infarto del miocardio. En los casos en que se emplea terapia trombolítica en el tratamiento del infarto del miocardio, se usarán las concentraciones de mioglobina combinadas con CKMB e indicaciones clínicas como indicadores de la reperusión de la arteria ocluida.³⁷ A la mioglobina también se le ha investigado para ayudar en el diagnóstico y la diferenciación de los distintos tipos de distrofia muscular progresiva hereditaria.³⁸ En el capítulo 8, *Aminoácidos y proteínas*, se analiza con mayor detalle la mioglobina.

Metodología

Existen varios métodos de inmunoensayo para la medición e identificación de la mioglobina. Estos procedimientos implican la unión de anticuerpos específicos a la mioglobina, lo que produce un cambio químico o físico (p. ej., fluorescencia, quimioluminiscencia, inmunocrómico) que se mide y correlaciona con la concentración de mioglobina. Estos métodos se adaptaron a los dispositivos del lugar de atención para la evaluación rápida del dolor del pecho, así como los métodos convencionales para plataformas del analizador multianalítico.^{39,40} Aunque el plasma es la muestra de elección para el análisis del marcador cardíaco, hay evidencia de que diferentes anticoagulantes tienen diversos efectos sobre los análisis comerciales particulares para la mioglobina.³⁹ Además, está demostrado que existen diferencias en la precisión y el rango de referencia entre los diversos análisis de mioglobina.³⁹

RESUMEN

Las porfirinas son intermedias en las distintas etapas que conforman la síntesis del hemo, un grupo de quelación de hierro que se une al oxígeno. La síntesis de hemo comienza en la mitocondria por combinación de la glicina y la succinil-CoA para formar ALA. El PBG se forma a partir del ALA en el citoplasma. El ALA y PBG son precursores para la formación de porfirinas. El uroporfirinógeno y el coproporfirinógeno se forman en el citoplasma, en tanto el protoporfirinógeno se sintetiza en la mitocondria. Luego se forma la PROTO, que incorpora el hierro para formar el hemo. La ALA sintasa es la enzima que controla el índice de la síntesis del hemo y se regula por la cantidad de hemo. Las deficiencias de la enzima llegan a presentarse en casi cualquier etapa de la síntesis de hemo, lo que da como resultado un grupo de trastornos heredados denominados

CUADRO 16-2. CAUSAS DE ELEVACIÓN DE LA MIOGLOBINA

Infarto del miocardio agudo	Infarto sin angina
Rabdomiólisis	Fracturas múltiples; traumatismo muscular
Insuficiencia renal	Miopatías
Ejercicio vigoroso	Inyecciones intramusculares
Cirugía a corazón abierto	Ataques tónico-clónicos
Descarga eléctrica	Trombosis arterial
Ciertas toxinas	Hipertermia maligna
Distrofia muscular	Lupus eritematoso sistémico

porfirias. Al producirse acumulación de los intermediarios, se originan síntomas cutáneos o neuropsiquiátricos, o ambos. Los bloqueos en las primeras etapas de la síntesis del hemo tienden a producir síntomas cutáneos, en tanto que las acumulaciones de los intermediarios tardíos causan síntomas neuropsiquiátricos. La mayor parte de los porfirias se diferencian por análisis de laboratorio de ALA, PBG, URO, COPRO y PROTO.

La hemoglobina se sintetiza en células eritroides inmaduras en la médula ósea y su función consiste en llevar oxígeno al tejido. La hemoglobina se compone de dos pares de proteínas de globina, cada una contiene una molécula de hemo capaz de transportar oxígeno. Hay seis tipos de cadenas de globina: α , β , γ , δ , ϵ y ζ , con ϵ y ζ presentes sólo en el embrión. En el adulto sano, se observan tres tipos de hemoglobina: A ($\alpha_2\beta_2$), A_2 ($\alpha_2\delta_2$) y F ($\alpha_2\lambda_2$). Las hemoglobinopatías se originan cuando existen defectos en la estructura de la hemoglobina. La hemoglobinopatía más frecuente es la hemoglobina S, que se hereda como heterocigótica (AS, rasgo de células falciformes) u homocigótica (SS, anemia falciforme). Los heterocigotos son asintomáticos, mientras que los homocigotos llegan a padecer anemia

y afección de la microcirculación. Esta hemoglobinopatía y la mayor parte de las demás se detectan por combinación de electroforesis alcalina y ácida. Las talasemias son trastornos hereditarios en el ritmo de la síntesis de unas o más cadenas de globina, por lo general como resultado de supresiones del gen o de mutaciones del sitio. A los defectos en el índice de la síntesis de α -globina se les denomina α -talasemias, y la β -talasemia denota una producción defectuosa de la β -globina. Al estado heterocigótico se le conoce como *talasemia menor* y al homocigótico, como *talasemia mayor*. Estos trastornos son frecuentes en las poblaciones afroestadounidenses, de Asia, el África negra, la India y Medio Oriente y causan anemias de diversos grados.

La mioglobina es una proteína que contiene hemo que se encuentra presente en músculo esquelético y cardíaco. Su presencia en suero u orina indica daño en el músculo esquelético o cardíaco. Debido a su peso molecular relativamente pequeño, se exuda dentro del plasma pocas horas después del daño muscular. En este sentido, es útil como marcador del infarto del miocardio o como marcador de la perfusión después de terapia trombolítica.

PREGUNTAS DE REPASO

- El propósito principal de las porfirinas en el cuerpo es:
 - Llevar oxígeno al tejido.
 - Transportar hierro.
 - Combinarse con la hemoglobina libre.
 - Contribuir a la síntesis del hemo.
- Los dos sitios principales en el cuerpo para la acumulación del exceso de porfirinas son:
 - El hígado y la médula ósea.
 - El corazón y el pulmón.
 - El músculo y la sangre.
 - El hígado y el bazo.
- Las dos clases principales de porfirias, de acuerdo con los síntomas, son:
 - Eritropoyética y hepática.
 - Neurológica y cutánea.
 - Congénita y adquirida.
 - Hematológica y muscular.
- El porfobilinógeno suele cuantificarse en la orina por:
 - El método de Watson-Schwartz.
 - Cromatografía de capa fina.
 - Columna de intercambio iónico.
 - Electroforesis.
- Los niveles muy elevados de ALA y PBG en orina con cifras normales de porfirina en las heces y la sangre lo más probable es que indiquen:
 - Porfiria intermitente aguda (PIA).
 - Porfiria eritropoyética (PE).
 - Coproporfiria hereditaria (CPH).
 - Porfiria cutánea tardía (PCT).
- A los trastornos hereditarios en los que los defectos genéticos causan anormalidades en el índice y la cantidad de síntesis de las cadenas de polipéptidos normales desde el punto de vista estructural de la molécula de la hemoglobina se les denomina:
 - Hemoglobinopatías.
 - Porfirias.
 - Discrasias moleculares.
 - Talasemias.
- El aumento de la hemólisis intravascular está indicado por una *disminución* de:
 - Metahemoglobina.
 - Metahemalbúmina.
 - Haptoglobina.
 - Hemopexina.
- ¿Cuáles de las siguientes hemoglobinas anormales, encontradas con frecuencia en individuos de sureste de Asia, emigran con la hemoglobina A_2 en electroforesis de acetato de celulosa?
 - Hemoglobina D.
 - Hemoglobina E.
 - Hemoglobina C.
 - Hemoglobina Lepore.

9. ¿Qué tipo de α -talasemia se origina por la supresión de tres genes y produce anemia hemolítica moderada?
 - a) Enfermedad de la hemoglobina H.
 - b) Hemoglobina de Bart.
 - c) Hidropesía fetal.
 - d) Rasgo de talasemia.
10. La manera más eficaz de cuantificar la hemoglobina A_2 es por:
 - a) Densitometría.
 - b) Electroforesis en agar de citrato.
 - c) Prueba de desnaturalización alcalina.
 - d) Cromatografía de columna.
11. Las concentraciones de mioglobina en suero o plasma se utilizan como:
 - a) Pruebas de la función hepática.
 - b) Marcador temprano del infarto del miocardio agudo.
 - c) Indicador de envenenamiento por plomo.
 - d) Indicador de cardiopatía congestiva.
12. ¿Cuál de las siguientes pruebas es la mejor para diferenciar la β -talasemia menor de la anemia por deficiencia de hierro?
 - a) Electroforesis de la hemoglobina (acetato de celulosa, pH alcalino).
 - b) Prueba de solubilidad.
 - c) Recuento de sangre completo.
 - d) Cuantificación de la hemoglobina A_2 .
13. ¿Cuál es la secuencia correcta de la migración electroforética de las hemoglobinas de la más lenta a la más rápida sobre acetato de celulosa a un pH alcalino?
 - a) C, S, F, A.
 - b) C, A, S, F.
 - c) C, S, A, F.
 - d) A, F, S, C.

REFERENCIAS

1. Schreiber WE. Iron, porphyrin, and bilirubin metabolism. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. *Clinical Chemistry—Theory, Analysis, Correlation*, 3rd ed. St. Louis: CV Mosby, 1996:696.
2. Deacon AC, Elder GH. Front line tests for the investigation of suspected porphyria. *J Clin Pathol* 2000;54:500.
3. Sassa S, Kappas A. Molecular aspects of the inherited porphyrias. *J Int Med* 2000;247:169.
4. Zaider E, Bickers DR. Clinical laboratory methods for diagnosis of the porphyrias. *Clin Dermatol* 1998;16:277.
5. Nuttall KL. Porphyrins and disorders of porphyrin metabolism. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996:731.
6. Kappas A, Sassa S, Galbraith RA, et al. The porphyrias. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 7th ed. New York: McGraw-Hill, 1995:2103.
7. Elder GH. Porphyria cutanea tarda. *Semin Liver Dis* 1998;18:67.
8. Elder GH. Alcohol intake and porphyria cutanea tarda. *Clin Dermatol* 1999;17:431.
9. Rich M. Porphyria cutanea tarda. *Postgrad Med* 1999;105:208.
10. Mathews-Roth MM. Treatment of the cutaneous porphyrias. *Clin Dermatol* 1998;16:295.
11. Nuttall KL. Porphyrins and disorders of porphyrin metabolism. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994:2073.
12. Buttery JE, Chamberlain BR, Beng CG. A sensitive method of screening for urinary porphobilinogen. *Clin Chem* 1989;35:2311.
13. Watson CJ, Schwartz S. A simple test for urinary porphobilinogen. *Proc Soc Exp Biol Med* 1941;47:393.
14. Labbe RF, Vreman HJ, Stevenson DK. Zinc protoporphyrin: a metabolite with a mission. *Clin Chem* 1999;45:2060.
15. Elder GH. Genetic defects in the porphyrias: types and significance. *Clin Dermatol* 1998;16:225.
16. Lee GR. Hemolytic disorders. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, et al, eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*, 10th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:1119.
17. Wang WC, Lukens JN. Sickle cell anemia and other sickling syndromes. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, et al, eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*, 10th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:1348.
18. Lukens JN. The thalassemias and related disorders: quantitative disorders of hemoglobin synthesis. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, et al, eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*, 10th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:1407, 1420, 1434.
19. Galanello R, Sollaine C, Paglietti E, et al. α -Thalassemia carrier identification by DNA analysis in the screening for thalassemia. *Am J Hematol* 1998;59:273.
20. Harrison CR. Hemolytic anemias: intracorpuscular defects, IV Thalassemia. In: Harmening DM, ed. *Clinical Hematology and Fundamentals of Hemostasis*, 4th ed. Philadelphia: FA Davis, 2002:194.
21. Herzog RW, Hagstrom JN. Gene therapy for hereditary hematological disorders. *Am J Pharmacogenomics* 2001;1:137.
22. Tisdale J, Sadelain M. Toward gene therapy for disorders of globin synthesis. *Semin Hematol* 2001;38:382.
23. Williams JL. Anemias of abnormal globin development—thalassemias. In: Stiene-Martin EA, Lotspeich CA, Koepke JA, eds. *Clinical Hematology—Principles, Procedures, Correlations*, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998:220, 236.
24. Tuzmen S, Schechter AN. Genetic diseases of hemoglobin: diagnostic methods for elucidating β -thalassemia mutations. *Blood Rev* 2001;15:19.
25. Clarke GM, Higgins TN. Laboratory investigation of hemoglobinopathies and thalassemias: review and update. *Clin Chem* 2000;46:1284.
26. Arcasoy MO, Gallagher PG. Molecular diagnosis of hemoglobinopathies and other red blood cell disorders. *Semin Hematol* 1999;36:328.
27. Nalbandian RM, et al. Dithionite tube test—a rapid, inexpensive technique for the detection of hemoglobin. *Clin Chem* 1971;17:1028.
28. Safko R. Anemia of abnormal globin development—hemoglobinopathies. In: Stiene-Martin EA, Lotspeich CA, Koepke JA, eds. *Clinical Hematology—Principles, Procedures, Correlations*, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998:196.

29. Briere RO, Golias T, Gatsakis JG. Rapid qualitative and quantitative hemoglobin fractionation. *Am J Clin Pathol* 1965;44:695.
30. Graham JL, Grunbaum BW. A rapid method for microelectrophoresis and quantitation of hemoglobins on cellulose acetate. *Am J Clin Pathol* 1963;39:567.
31. Milner PF, Gooden H. Rapid citrate-agar electrophoresis in routine screening for hemoglobinopathies using a simple hemolysate. *Am J Clin Pathol* 1975;64:58.
32. Huisman THJ, Schroeder WA, Brodie AN, et al. Microchromatography of hemoglobins: II. A simplified procedure for the determination of hemoglobin A₂. *J Lab Clin Med* 1975;86:700.
33. Clayton E, Foster BE, Clayton EP. New stain for fetal erythrocytes in peripheral blood smears. *Obstet Gynecol* 1970;35:642.
34. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Fetal Red Cell Detection; Approved Guideline. Document H52-A. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2001.
35. Wu AH, et al. Immunoassays for serum and urine myoglobin: myoglobin clearance assessed as a risk factor for acute renal failure. *Clin Chem* 1994;40:796.
36. Wu AH, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. *Clin Chem* 1999;45:1104.
37. Christenson RH, Azzazy HME. Biochemical markers of the acute coronary syndromes. *Clin Chem* 1998;44:1855.
38. Poche H, et al. Hereditary progressive muscular dystrophies: serum myoglobin pattern in patients with different types of muscular dystrophies. *Clin Physiol Biochem* 1989;7:40.
39. Zaninotto M, et al. Multicenter evaluation of five assays for myoglobin determination. *Clin Chem* 2000;46:1631.
40. Apple FS, et al. Simultaneous rapid measurement of whole blood myoglobin, creatine kinase MB, and cardiac troponin I by the triage cardiac panel for detection of myocardial infarction. *Clin Chem* 1999;45:199.

III

Valoración de las funciones del sistema orgánico

Introducción a las hormonas y la función hipofisaria

Robert E. Jones

CAPÍTULO

17

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- EMBRIOLOGÍA Y ANATOMÍA
- ASPECTOS FUNCIONALES DE LA UNIDAD HIPOTÁLAMICA-HIPOFISARIA
- HORMONAS HIPOFISIOTRÓPICAS O HIPOTALÁMICAS
- HORMONAS DE LA HIPÓFISIS ANTERIOR
- HORMONA DEL CRECIMIENTO
 - Acciones de la hormona del crecimiento
 - Pruebas
 - Acromegalia
 - Deficiencia de la hormona del crecimiento
- PROLACTINA
 - Prolactinoma
 - Otras causas de hiperprolactinemia

- Evaluación clínica de la hiperprolactinemia
- Control del prolactinoma
- Galactorrea idiopática
- HIPOPITUITARISMO
 - Etiología del hipopituitarismo
 - Tratamiento del panhipopituitarismo
- HORMONA DE LA HIPÓFISIS POSTERIOR
 - Oxitocina
 - Vasopresina
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Describir las funciones de la hipófisis anterior y posterior.
- Definir la relación anatómica entre la hipófisis y el hipotálamo.
- Comprender el concepto de la regeneración negativa de anillo abierto y relacionarlo con la función de las diferentes asas de la glándula blanco hipotálamica-hipofisaria-endocrina.
- Entender los efectos de la pulsatilidad y de ciclicidad en los resultados de las mediciones hormonales.
- Diferenciar entre el efector trópico y directo en relación con las hormonas hipofisarias.

- Analizar la regulación de la secreción de la prolactina.
- Establecer las causas no neoplásicas del aumento de la prolactina.
- Comprender la diferencia entre estados primarios y secundarios de la deficiencia endocrina.
- Describir las características clínicas de los estados de exceso y deficiencia de la hormona del crecimiento, prolactina y vasopresina.
- Relacionar los aspectos fisiológicos subyacentes de las estrategias usadas para la valoración y prueba definitiva para los trastornos sospechosos de la hormona del crecimiento.

TÉRMINOS CLAVE

Adenohipófisis	Hipófisis anterior	Hormona liberadora de la	Secreción pulsátil
Adrenocorticotropina	Hipófisis posterior	ahormona del crecimien-	Silla turca
(ACTH)	Hipotálamo	to (GHRH)	Sistema portal hipotalámi-
Asas de retroalimentación	Hormona del crecimiento	Hormona liberadora de la	co-hipofisario
Dopamina	Hormona estimulante de la	tirotropina (TRH)	Somatostatina (SS)
Efector directo	tiroides (TSH)	Hormona luteinizante (LH)	Tallo hipofisario
Eminencia media	Hormona foliculoestimu-	Hormona trópica	Vasopresina (ADH)
Factor de crecimiento	lante (FSH)	Infundíbulo	
semejante a la insulina	Hormona liberadora de	Neurohipófisis	
(FCI)	corticotropina (CRH)	Oxitocina	
Factor inhibitorio de la	Hormona liberadora de	Prolactina	
prolactina (FIP)	gonadotropina (GnRH)	Ritmos diurnos	

El término *pituitario* (derivado del latín y del griego) significa, de manera literal, “escupir moco”, lo que refleja la noción primitiva de la función pituitaria. De cierta manera, los fisiólogos antiguos estaban en lo correcto: creían que el cerebro era responsable de indicar a la pituitaria el momento de secretar. Sin embargo, en lugar de moco, más adelante se descubrió que el cerebro ordena a la pituitaria secretar hormonas que regulan otras glándulas endocrinas. Cuando esto se descubrió, a la pituitaria se le denominó “glándula maestra” porque, sin ella, existía cese del crecimiento, junto con alteraciones profundas en el metabolismo intermediario y falla en la función gonadal, tiroidea y suprarrenal. A la pituitaria también se le conoce como *hipófisis*, que en griego significa *crecimiento bajo*, lo que hace referencia a su posición única debajo del hipotálamo.

Nuestro concepto de la función hipofisaria (pituitaria) y de su papel en la regulación de otras glándulas endocrinas ha cambiado. Más que verla como la glándula maestra, es más apropiado reconocerla como un instrumento que traduce los impulsos nerviosos en un producto hormonal o endocrinológico. Entre las características que distinguen la función de la hipófisis se incluyen *asas de retroalimentación*, *secreciones pulsátiles*, *ritmos diurnos* y la modificación ambiental o externa de su desempeño. Estos elementos distintivos de la operación hipofisaria llegan a complicar la evaluación clínica de una enfermedad endocrina sospechada o, como alternativa, dan gran relevancia a los defectos sutiles de la función endocrinológica.

EMBRIOLOGÍA Y ANATOMÍA

Las tres diferentes partes de la hipófisis son la hipófisis *anterior*, o *adenohipófisis*; el lóbulo intermedio, o pares intermediales; y la hipófisis *posterior*, o *neurohipófisis*. El lóbulo intermedio se desarrolla de manera deficiente en los seres humanos, y tiene poca capacidad funcional distinta a la de confundir a los radiólogos al formar extensiones no funcionales, benignas y císticas de la hipófisis. La hipófisis posterior, que proviene del diencefalo, es responsable del almacenamiento y la liberación de la *oxitocina* y de la *vasopresina* (a la que también se le conoce como *hormona antidiurética* [ADH]). La hipófisis anterior, la porción más grande de la glándula, se origina en la bol-

sa de Rathke, una evaginación del ectodermo bucal que se extiende de manera gradual hacia arriba y a la postre queda envuelta por el hueso esfenoidal. La creación de la *eminencia media*, la porción inferior del hipotálamo, y el *tallo hipofisario* son otros acontecimientos críticos en la formación de la unidad hipotalámica-hipofisaria. Es posible detectar la función hipofisaria alrededor de la novena semana de gestación.

La hipófisis reside en una bolsa del esfenoides (la *sella turca*, que significa silla turca) y está rodeada por la duramadre. La reflexión de la dura que separa la parte superior de la hipófisis del hipotálamo, la silla del diafragma, es penetrada por el *infundíbulo*, o tallo hipofisario, que conecta la adenohipófisis con la *eminencia media* y el *hipotálamo*. El tallo hipofisario contiene estructuras neurales y vasculares que terminan en la hipófisis. La hipófisis posterior está conectada con los núcleos hipotalámicos supraóptico y paraventricular (donde se producen la vasopresina y la oxitocina) por medio de dos tubos neurosecretores distintos que pasan a través del tallo. La hipófisis anterior recibe 80 a 90% de su aporte sanguíneo y muchos factores hipotalámicos a través del *sistema portal hipotalámico-hipofisario*, también contenido en el tallo. El plexo primario de este sistema portal se localiza en la eminencia media, y está compuesto de capilares que carecen de una barrera sangre-cerebro (capilares fenestrados) donde terminan los axones de los núcleos hipotalámicos que modulan la función hipofisaria. A su vez, los vasos portales largos conectan el plexo primario con la hipófisis anterior y sirven como conducto para las hormonas hipotalámicas-hipofisiotrópicas. En la figura 17-1 se ilustran estas relaciones anatómicas.¹

ASPECTOS FUNCIONALES DE LA UNIDAD HIPOTALÁMICA-HIPOFISARIA

Las rutas aferentes (entradas) al hipotálamo se integran en varios núcleos especializados, se procesan y luego se dividen en respuestas de patrones específicos. Debido a que el hipotálamo tiene muchas conexiones neurales eferentes (salidas) a los centros más altos del cerebro (el sistema límbico, el sistema nervioso autónomo y la hipófisis), al parecer estas respuestas son más bien difusas pero en realidad son estereotipadas.² La patrones de respuesta hipotalámica

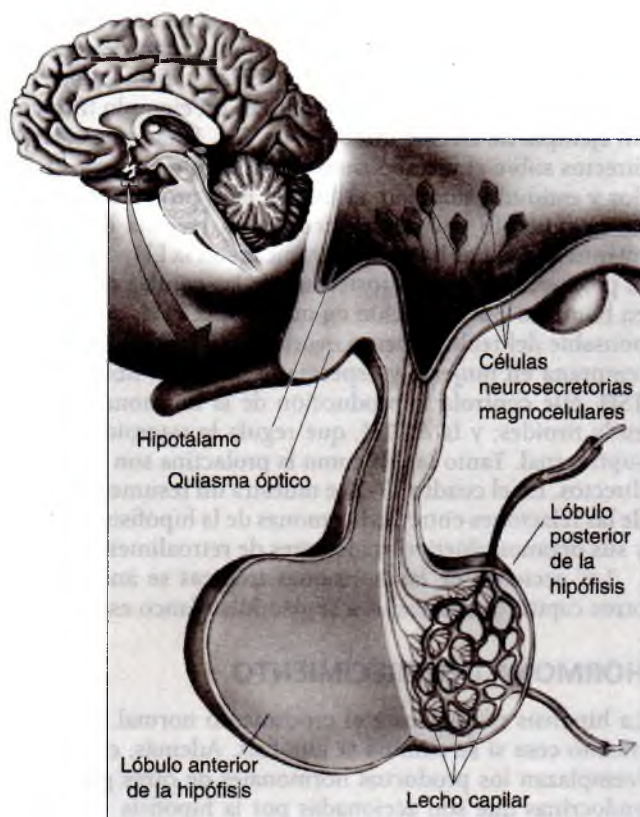


FIGURA 17-1. Anatomía relacionada con la hipófisis y el hipotálamo. (Reproducido con autorización de Bear MF, Connors BW, Paradiso MA, Neuroscience: Exploring the Brain, 2nd ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2001:501.)

son similares para cada hormona hipofisaria específica, y se caracterizan por mecanismos de retroalimentación negativa de circuito abierto, pulsatilidad y ciclicidad. La retroalimentación negativa se asemeja a un servomecanismo típico y forma la base para comprender la función hipotalámica-hipofisaria. Un ejemplo de retroalimentación negativa es la relación entre un termostato y una unidad de calefacción casera. El termostato se ajusta a una temperatura dada. Al mantenerse la temperatura en el hogar por debajo de este punto de ajuste, el termostato envía un impulso eléctrico al horno y éste se prende. El calor de la habitación se restaura y, cuando la temperatura excede el punto de ajuste predeterminado, el termostato apaga al horno. Debido que el punto de ajuste del termostato se establece para la comodidad de los ocupantes, a la relación funcional horno-termostato se le denomina *sistema de retroalimentación negativa de circuito abierto*. La mayor parte de los circuitos de retroalimentación endocrina son del tipo abierto, lo que significa que están sujetos a la regulación externa, y por lo general se ven influidos o modificados por una entrada neural más elevada u otras hormonas.

Un ejemplo sencillo de circuito de retroalimentación endocrina es el eje hipotalámico-hipofisario-tiroideo. El hipotálamo produce la hormona hipofisiotrópica, *hormona*

liberadora de tirotropina (TRH), y la libera dentro del sistema portal, donde se dirige a los tirotropos (o células productoras de TSH) de la hipófisis anterior para secretar *hormona estimulante de la tiroides (TSH)*. Ésta circula a la tiroides y estimula varios pasos de la misma que son críticos en la producción y liberación de la hormona tiroides (tiroxina). La tiroxina se libera en la sangre y circula al hipotálamo y la hipófisis para suprimir la producción adicional de TRH y TSH. Es posible que este eje se inhiba de manera parcial por esteroides suprarrenales (glucocorticoides) y citocinas. Como resultado, tal vez la producción de la hormona tiroides decline durante periodos de tensión fisiológica grave.³ A la retroalimentación de la tiroxina a nivel de la hipófisis se le denomina *circuito de retroalimentación corto*; y a la retroalimentación a nivel del hipotálamo, *circuito de retroalimentación largo*. A la retroalimentación entre la hipófisis y el hipotálamo (cuando se presenta) se le conoce como *circuito de retroalimentación ultracorto*. En la figura 17-2 se ilustra este circuito de retroalimentación simple.

Todas las hormonas hipofisarias anteriores se secretan de manera pulsátil. Por lo general, la frecuencia de pulsación de la secreción se regula a través de modulación neural y es específica para cada unidad orgánica hipotalámica-hipofisaria-terminal. Quizá el mejor ejemplo de la pulsatilidad hipofisaria es la secreción de las hormonas que regulan la función gonadal (*hormona luteinizante [LH]* y *hormona foliculoestimulante [FSH]*). En sujetos masculinos normales, el intervalo promedio de interpulsación de la LH es de 55 min, en tanto la duración máxima promedio de la LH es de 40 min.⁴ La frecuencia de pulsación de la hormona hipotalámica reguladora, *hormona liberadora de gonadotropina (GnRH)*, tiene efectos profundos sobre los perfiles de la secreción de la LH: el aumento de la frecuencia de pulsación de la GnRH reduce la respuesta secretora de la gonadotropina y la disminución de la frecuencia de pulsación de la GnRH aumenta la amplitud de la pulsación subsiguiente de la LH.⁵

Otra característica de la unidad hipotalámica-hipofisaria es la naturaleza cíclica de la secreción hormonal. El sistema nervioso suele regular esta función a través de señales externas, como cambios de luz-oscuridad o la proporción entre

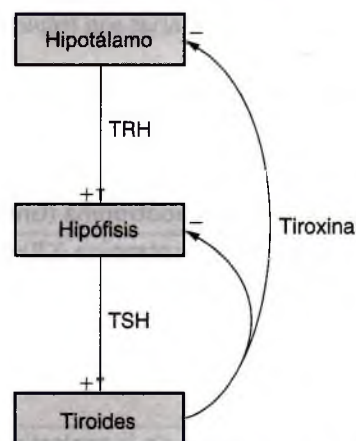


FIGURA 17-2. Circuito de retroalimentación simple.

la luz del día y la oscuridad. El término *zeitgeber* (donante de tiempo) se refiere al proceso de arrastrar o sincronizar estos estímulos externos dentro de la función de los relojes biológicos internos. Como resultado, muchas hormonas hipofisarias se secretan en cantidades diferentes, lo que depende de la hora del día. Estos ritmos circadianos, o diurnos, se caracterizan por secreción de la *adrenocorticotropina* (ACTH), o de la TSH. Con la ACTH, el nadir de secreción se encuentra entre las 11:00 p.m. y las 3:00 a.m., y el máximo ocurre al despertar o alrededor de las 6:00 a 9:00 a.m.⁶ El ritmo circadiano de la ACTH es resultado de variaciones en la amplitud de la pulsación, no de las alteraciones en la frecuencia de la pulsación.⁷ Las concentraciones nocturnas de la TSH son casi dos veces las del día y, al contrario de lo que sucede con la ACTH, el aumento nocturno de la TSH es resultado del incremento en la amplitud de la pulsación.⁸

HORMONAS HIPOFISIOTRÓPICAS O HIPOTALÁMICAS

El hipotálamo produce diversos productos. Sin embargo, en este capítulo sólo se analizan los que tienen efecto directo en la función hipofisaria clásica. La mayor parte de los productos son péptidos, aunque también se sintetizan y transportan aminas bioactivas del hipotálamo. Las hormonas hipotalámicas llegan a tener varias acciones. Por ejemplo, la TRH estimula la secreción de TSH y de *prolactina*; la GnRH estimula la producción de LH y FSH; y la *somatostatina* (SS) inhibe la hormona del crecimiento (GH) y libera TSH de la hipófisis. Además de sus efectos sobre el metabolismo del agua, la vasopresina (ADH) estimula la secreción de la *adrenocorticotropina* (ACTH). Estas hormonas hipofisiotrópicas se encuentran en todo el sistema nervioso central y varios otros tejidos, incluyendo el intestino, el páncreas y otras glándulas endocrinas. Su función fuera del hipotálamo y de la hipófisis aún no se comprende por completo. En el cuadro 17-1 se resume la acción de las hormonas hipofisiotrópicas en la función de la hipófisis anterior.

HORMONAS DE LA HIPÓFISIS ANTERIOR

Las hormonas secretadas de la hipófisis anterior son más grandes y más complejas que las sintetizadas en el hipotálamo. Estas hormonas hipofisarias son *trópicas*, lo que sig-

nifica que sus acciones son específicas para otra glándula endocrina, o *efectores directos*, porque actúan de manera directa sobre tejido periférico. La TSH y su papel único en la función reguladora de la tiroides es un ejemplo trópico; un ejemplo de efector directo es la GH. Ésta tiene efectos directos sobre el metabolismo del sustrato en varios tejidos y estimula, también, el hígado para producir factores de crecimiento que son críticos en la mejoría del crecimiento lineal. Las hormonas trópicas son la LH, que dirige la producción de la testosterona de las células de Leydig en hombres y la ovulación en mujeres; la FSH, que es responsable del reclutamiento ovárico y de la foliculogénesis temprana en mujeres y espermatogénesis en hombres; la TSH, que controla la producción de la hormona tiroides en la tiroides; y la ACTH, que regula la esteroidogénesis suprarrenal. Tanto la GH como la prolactina son efectores directos. En el cuadro 17-2 se muestra un resumen general de las relaciones entre las hormonas de la hipófisis anterior y sus órganos objetivo, y efectores de retroalimentación.

Las acciones de las hormonas trópicas se analizan en otros capítulos dedicados a la glándula blanco específica.

HORMONA DEL CRECIMIENTO

La hipófisis es vital para el crecimiento normal. El crecimiento cesa si se elimina la hipófisis. Además, cuando se reemplazan los productos hormonales de otras glándulas endocrinas que son accionadas por la hipófisis (tiroxina, esteroides suprarrenales y esteroides gonadales), el crecimiento no se restaura hasta que se administra hormona del crecimiento. Sin embargo, cuando la hormona del crecimiento se presenta aislada sin las otras hormonas, el crecimiento no se promueve. Por tanto, se toma en cuenta el funcionamiento completo de la hipófisis para establecer las condiciones adecuadas para el crecimiento del individuo. Además, se requiere nutrición adecuada, concentraciones normales de la insulina y buena salud general para alcanzar el potencial de crecimiento genético de una persona.

La hormona del crecimiento, también conocida como *somatotropina*, se relaciona desde el punto de vista estructural con la prolactina y el lactógeno placentario humano. Un péptido simple con dos puentes disulfuro intramoleculares pertenece a la clase de efector directo de las hormonas de la hipófisis anterior. Los somatotropos, células hipofi-

CUADRO 17-1. HORMONAS HIPOFISIOTRÓPICAS

HORMONA	ESTRUCTURA	ACCIÓN
Hormona liberadora de tirotropina (TRH)	3 aminoácidos	Libera TSH y prolactina
Hormona liberadora de gonadotropina (GnRH)	10 aminoácidos	Libera LH y FSH
Hormona liberadora de corticotropina (CRH)	41 aminoácidos	Libera ACTH
Hormona liberadora de hormona del crecimiento (GHRH)	44 aminoácidos	Libera GH
Somatostatina	14 y 28 aminoácidos	Inhibe GH y libera TSH (efectos adicionales sobre la función intestinal y pancreática)
Dopamina (factor inhibitorio de la prolactina)	1 aminoácido	Inhibe la liberación de la prolactina

CUADRO 17-2. HORMONAS DE LA HIPÓFISIS ANTERIOR

HORMONA HIPOFISARIA	GLÁNDULA BLANCO	ESTRUCTURA	HORMONA DE RETROALIMENTACIÓN
Hormona luteinizante (LH)	Gónada (trópica)	Glucoproteína dimérica	Esteroides sexuales (E_2/T)
Hormona foliculoestimulante (FSH)	Gónada (trópica)	Glucoproteína dimérica	Inhibina
Hormona estimulante de la tiroides (TSH)	Tiroides (trópica)	Glucoproteína dimérica	Hormonas tiroides (T_4/T_3)
Adrenocorticotropina (ACTH)	Suprarrenal (trópica)	Péptido simple derivado de POMC	Cortisol
Hormona del crecimiento	Múltiple (efector directo)	Péptido simple	Insulina semejante al factor de crecimiento (IGF-I)
Prolactina	Seno (efector directo)	Péptido simple	Desconocido

T_4 , tiroxina; T_3 , triyodotironina; E_2 , estradiol; T , testosterona.

sarias que producen la hormona del crecimiento, afectan alrededor de una tercera parte del peso hipofisario normal. La liberación de somatotropina de la hipófisis es estimulada por el péptido hipotalámico *hormona liberadora de hormona del crecimiento* (GHRH). La secreción de la somatotropina es inhibida por la somatostatina (SS).⁹ La hormona del crecimiento se secreta en pulsaciones, con un intervalo promedio de interpulsaciones de 2 a 3 h, con la cifra máxima al comienzo del sueño.¹⁰ Entre estas pulsaciones, el nivel de la hormona del crecimiento llega a caer por debajo del límite detectable, lo que origina la evaluación clínica de la deficiencia de la hormona del crecimiento basada en una sola medición desafiante.

Ningún otro sistema hipotalámico-hipofisario ilustra de manera más concreta el concepto de un paradigma de circuito abierto que el que se observa con la hormona del crecimiento. Las funciones intermitentes de GHRH/SS y el patrón básico de las pulsaciones secretoras de la hormona del crecimiento son controladas en gran medida por otros factores (cuadro 17-3).¹¹

CUADRO 17-3. OTROS MODIFICADORES DE LA SECRECIÓN DE LA HORMONA DEL CRECIMIENTO

ESTIMULAN LA SECRECIÓN DE LA HORMONA DEL CRECIMIENTO	INHIBEN LA SECRECIÓN DE LA HORMONA DEL CRECIMIENTO
Sueño	Carga de glucosa
Ejercicio	β -Agonistas (p. ej., adrenalina)
Estrés fisiológico	α -Bloqueadores (p. ej., fentolamina)
Aminoácidos (p. ej., arginina)	Estrés emocional/psicogénico
Hipoglucemia	Deficiencias nutricionales
Esteroides sexuales (p. ej., estradiol)	Deficiencia de insulina
α -Agonistas (p. ej., noradrenalina)	Deficiencia de tiroxina
β -Bloqueadores (p. ej., propranolol)	

Acciones de la hormona del crecimiento

La hormona del crecimiento tiene muchos efectos diversos sobre el metabolismo. Se le considera una hormona anabólica porque influye de forma directa en procesos anabólicos y catabólicos. Uno de los efectos principales de la hormona del crecimiento es que permite al individuo la transición efectiva de un estado de alimentación a un estado de ayuno sin experimentar escasez de los sustratos requeridos para la oxidación intracelular normal. La hormona del crecimiento antagoniza de manera directa el efecto de la insulina sobre el metabolismo de la glucosa, promueve la gluconeogénesis hepática y estimula la lipólisis.⁹ Desde un punto de vista teleológico, esto tiene perfecto sentido: el mejoramiento de la lipólisis proporciona sustrato oxidativo para el tejido periférico, como el músculo esquelético, pero conserva la glucosa para el sistema nervioso central al estimular la producción hepática de la glucosa y oponerse a la eliminación de glucosa mediada por insulina. En efecto, la deficiencia de la hormona del crecimiento en niños a veces se acompaña por hipoglucemia;¹² en adultos, tal vez ocurra hipoglucemia si hay deficiencia de GH y ACTH.

Los efectos anabólicos de la hormona del crecimiento se reflejan por la síntesis proteica mejorada en el músculo esquelético y otros tejidos. Esto se traduce a un equilibrio de nitrógeno positivo y retención de fosfato.

Aunque la hormona del crecimiento tiene efectos directos en muchos tejidos, también tiene consecuencias indirectas que son mediadas por factores a los que en principio se les denominó *somatomedinas*. En experimentos tempranos, fue evidente que los suplementos de la hormona del crecimiento en animales hipofisectomizados indujeron la producción de un factor adicional que estimuló la incorporación de sulfato en cartilago. Como a esta "proteína" se le purificó, resultó evidente que había más de una somatomedina y, debido a su homología estructural con la proinsulina, la nomenclatura cambió a *factor de crecimiento semejante a la insulina* (FCI). Por ejemplo, la somatomedina C, el principal factor de crecimiento inducido por la hormona del crecimiento, ahora es FCI-I. Los FCI también poseen receptores superficiales celulares que son distintos de la insulina. Sin embargo, los niveles suprafisiológicos de FCI-II llegan a "sangrar" sobre el receptor insulínico y

causan hipoglucemia,¹³ en tanto la hiperinsulinemia activa de manera parcial los receptores de FCI-I.¹⁴ La hormona del crecimiento estimula la producción de FCI-I del hígado y, como resultado, el FCI-I se vuelve un amplificador biológico de las concentraciones de la hormona del crecimiento. Está demostrado que los FCI que forman complejos con proteínas de unión al suero específicas afectan las acciones de los FCI de varias maneras.¹⁵ La proteína de enlace al FCI-III (PEFCI-III) es quizá el mejor elemento estudiado de la familia de las PEFCI. Las concentraciones de PEFCI III se correlacionan de manera positiva con las de FCI-I y, como resultado, con las de GH.¹⁶ Debido a esta relación, al FCI-I se le ha utilizado en la evaluación clínica tanto de deficiencia como de exceso de GH.¹⁷

Pruebas

De acuerdo con lo que ya se mencionó, rara vez una sola medición aleatoria de hormona del crecimiento es diagnóstica. Los paradigmas actuales de pruebas para hormona del crecimiento se basan de manera sólida en la fisiología dinámica del eje de la hormona del crecimiento. Por ejemplo, los valores circulantes de FCI-I y, quizá, de PEFCI III integran en forma razonable las cifras máximas de la secreción de hormona del crecimiento, en tanto los niveles elevados de ambos son consistentes con exceso continuo de hormona del crecimiento.¹⁸ Sin embargo, otros trastornos, sobre todo los hepatomas, se relacionan con concentraciones elevadas de FCI-I y, en algunas personas con acromegalia activa, las cifras de PEFCI III son inadecuadamente normales.¹⁹ Por el contrario, las concentraciones bajas de FCI-I tal vez reflejen producción inadecuada de la hormona del crecimiento. No obstante, también se observan concentraciones bajas de FCI en pacientes con diabetes controlada de manera deficiente, desnutrición u otras enfermedades crónicas.²⁰

La prueba definitiva para determinar la producción autónoma de la hormona del crecimiento se basa en la supresión normal de la hormona del crecimiento por dosificación oral de glucosa.²¹ En la prueba, que se realiza después de un ayuno durante la noche, se administra al paciente una dosis oral de 100 g de glucosa. La hormona del crecimiento se mide al momento cero y a los 60 y 120 min después de la ingestión de glucosa. Luego de la dosis oral de glucosa, las concentraciones de hormona del crecimiento son imperceptibles en individuos normales; sin embargo, en pacientes con acromegalia, dichas concentraciones dejan de disminuir e incluso se elevan de manera paradójica.

La evaluación de pacientes con sospecha de deficiencia de hormona del crecimiento es más complicada. Existen varias estrategias para estimular la hormona del crecimiento, además de que en la actualidad se desarrollan nuevos protocolos.²² La hipoglucemia inducida por insulina, a la que una vez se le consideró el estándar, se está reemplazando por esquemas de evaluación menos incómodos. La combinación de infusiones de GHRH y del aminoácido L-arginina o una infusión de L-arginina acompañada con L-dopa oral son las más usadas. Si las concentraciones de hormona del crecimiento se elevan sobre 3 a 5 ng/ml, es improbable que el paciente tenga deficiencia de hormona del crecimiento.²²

Acromegalia

La acromegalia se origina por exceso patológico o autónomo de la hormona del crecimiento y, en la gran mayoría de pacientes, se produce por un tumor hipofisario. Hay informes de casos aislados de tumores que causan acromegalia debido a la producción ectópica de GHRH.²³ Sin embargo, aunque resulta muy interesante o instructiva, la producción ectópica de GHRH u hormona del crecimiento (un caso) aún es rara.²⁴ Si ocurre un tumor que produce hormona del crecimiento antes del cierre epifisario, el paciente desarrolla gigantismo y llega a adquirir una altura impresionante; de lo contrario, padece las características típicas, pero insidiosas, del crecimiento excesivo de tejido óseo y blando.²⁵ Estas características abarcan aumento progresivo de las manos y de los pies, así como crecimiento de los huesos faciales, lo que incluye la mandíbula y los huesos del cráneo. En casos avanzados, el paciente desarrolla aberturas importantes entre sus dientes. El crecimiento excesivo difuso (no longitudinal si la afección ocurre después de la pubertad) de los extremos de los huesos largos o la espina dorsal tal vez produzca una forma debilitante de artritis. Debido a que la hormona del crecimiento es un antagonista de la insulina, es posible que surja intolerancia a la glucosa o diabetes evidente. En una etapa posterior de la enfermedad se observan hipertensión; aterosclerosis acelerada; y debilidad del músculo proximal, que es resultado de la miopatía adquirida. La apnea del sueño es frecuente. La organomegalia, en especial la tiromegalia, es habitual, pero el hipertiroidismo es bastante raro. El exceso de la hormona del crecimiento también constituye un trastorno hipermetabólico y, como resultado, los pacientes acromegálicos en ocasiones se quejan de sudoración excesiva o intolerancia al calor. Las características de la acromegalia se desarrollan con lentitud, por lo que es posible que el paciente (o su familia) olviden los cambios que ocurren en la fisionomía. En estos casos, las molestias del paciente quizá se centren en los efectos locales del tumor (dolor de cabeza o afecciones visuales) o los síntomas relacionados con la pérdida de otras hormonas de la hipófisis anterior (hipopituitarismo). Tal vez una revisión cuidadosa y retrospectiva de fotografías anteriores sea crucial para diferenciar las características más notables debido a la herencia de las consecuencias típicas de la acromegalia. Cuando no se trata, la acromegalia reduce la esperanza de vida debido al aumento del riesgo de cardiopatía, que surge por la combinación de hipertensión, enfermedad de la arteria coronaria y diabetes/resistencia a la insulina. Puesto que los pacientes con acromegalia también tienen mayor riesgo de por vida de desarrollar cáncer, se recomiendan programas de vigilancia del cáncer (en especial la colonoscopia regular).

Se observa secreción secundaria de prolactina hasta en 40% de los pacientes con acromegalia.²⁶ Sólo están informados unos cuantos tumores secretores de hormona del crecimiento/TSH.²⁷

La confirmación del diagnóstico de la acromegalia es relativamente sencilla. Sin embargo, algunos pacientes con acromegalia presentan valores aleatorios normales de hormona del crecimiento. Una concentración elevada de hormona del crecimiento que no se suprime de manera normal con dosis de glucosa equivale a un diagnóstico sencillo. En aquellos pacientes con valores aleatorios normales,

ESTUDIO DE CASO 17-1

Un hombre de 48 años de edad busca atención para la evaluación de debilidad muscular, dolores de cabeza y sudoración excesiva. Padece control deficiente de hipertensión y, al preguntarle, informa aumento gradual en la talla tanto de guantes como de zapatos, así como reducción de la libido. En una revisión de fotografías antiguas del hombre, se documentan aspereza de características faciales, prognatismo progresivo y ensanchamiento de la nariz. Se sospecha acromegalia.

Preguntas

1. ¿Qué pruebas de investigación están disponibles?
2. ¿Cuál es la prueba definitiva para producción autónoma de hormona del crecimiento?
3. Puesto que el paciente informa reducción de la libido, se sospecha hipogonadismo. ¿Qué tipo de evaluación es apropiada?

pero mantenidos de manera inadecuada, de la hormona del crecimiento, las concentraciones elevadas de FCI-I son provechosas. Sin embargo, la falta de supresibilidad de la hormona del crecimiento a una dosis de glucosa constituye la prueba definitiva.²¹

El tratamiento de la acromegalia llega a resultar desafiante. El objetivo del tratamiento es la ablación del tumor, con la continuación de la función del resto de la hipófisis. La adenomectomía transfenoidal es el procedimiento de elección.²⁸ Si los valores normales de hormona del crecimiento y de la cinética (supresibilidad normal a la glucosa) se restauran después de la cirugía, es probable que el paciente se cure. Por desgracia, es posible que los tumores que producen la hormona del crecimiento sean demasiado grandes o invadan estructuras locales que impidan la extirpación quirúrgica completa y dejen al paciente con un tumor más pequeño, pero con actividad hormonal. En esta situación, suelen utilizarse la emisión externa o la radiación enfocada, pero tal vez se requieran varios años para que disminuyan las concentraciones de la hormona del crecimiento.²⁹ Entre tanto, se realizan esfuerzos para suprimir la hormona del crecimiento. Es posible emplear dos clases diferentes de agentes: análogos de somatostatina y agonistas dopaminérgicos.³⁰

Deficiencia de la hormona del crecimiento

Ocurre en niños y adultos. En niños, tal vez sea familiar o debida a tumores, como los craneofaringiomas. En adultos, es resultado de las anormalidades estructurales o funcionales de la hipófisis (véase la sección *Hipopituitarismo* en este mismo capítulo). Sin embargo, la declinación de la producción de la hormona del crecimiento es consecuencia inevitable del envejecimiento, y la importancia de este fenómeno aún no se comprende de manera adecuada.³¹

Aunque la deficiencia de la hormona del crecimiento en niños se manifiesta por falta de crecimiento, no todos los pacientes con estatura pequeña tienen deficiencia de hormona del crecimiento (como ya se mencionó). Hay varios defectos genéticos identificados en el eje de la hormona del crecimiento. El tipo más frecuente es una mutación recesiva del gen de la GHRH que causa falta de secreción de la hormona del crecimiento. También se ha llegado a observar una mutación más rara, la pérdida del gen de la hormona del crecimiento por sí sola. Además, se informan mutaciones que producen insensibilidad de la GH. Estas mutaciones quizá impliquen al receptor de la GH, la bio-

síntesis de FCI-I, los receptores de FCI-I o los defectos en la traducción de las señales de la GH. Los pacientes con insensibilidad a la GH no responden de manera normal a la administración exógena de hormona del crecimiento. Por último, las lesiones estructurales de la hipófisis o el hipotálamo también causan deficiencia de la GH, y es posible que se relacionen con otras deficiencias de la hormona de la hipófisis anterior.⁵²

En adultos, se ha descrito el síndrome de deficiencia de hormona del crecimiento en pacientes que tienen falla completa o incluso parcial de la hipófisis anterior. Los síntomas de este síndrome son bastante vagos e incluyen aislamiento social, fatiga, pérdida de motivación y disminución del sentimiento de bienestar,³³ aunque en varios estudios se documenta aumento de la mortalidad en adultos con deficiencia de la GH.³⁴ La osteoporosis y las alteraciones en la composición corporal (es decir, reducción de la masa corporal magra) son afecciones concomitantes frecuentes de la deficiencia de la hormona del crecimiento en adultos.³⁵

La terapia de reemplazo de la hormona del crecimiento se volvió relativamente sencilla con el surgimiento del recombinante humano de la hormona del crecimiento. En la actualidad, el costo de la hormona del crecimiento constituye el factor limitante principal para el reemplazo.

PROLACTINA

La *prolactina* se relaciona desde el punto de vista estructural con la hormona del crecimiento y el lactógeno placentario humano. Considerada como hormona del estrés, desempeña funciones vitales en relación con la reproducción. A la prolactina se le clasifica como hormona efectora directa (como oposición a una hormona trópica) porque presenta tejido blanco difuso y carece de un órgano endocrino terminal.

La prolactina es única entre las hormonas de la hipófisis anterior porque su principal forma de regulación hipotalámica es la inhibición tónica, en lugar de la estimulación intermitente. Al *factor inhibitorio de la prolactina* (FIP) se le consideraba una hormona polipéptida capaz de inhibir la secreción de la prolactina. Sin embargo, la *dopamina* es la única señal neuroendocrina que inhibe la prolactina, y en la actualidad se cree que el FIP es impreciso. Además, cualquier compuesto que afecta la actividad dopaminérgica de la eminencia media del hipotálamo altera la secreción de la prolactina.³⁶ Entre los ejemplos de las medicaciones que causan hiperprolactinemia se encuentran

fenotiazinas, butirofenonas, metoclopramida, reserpina, antidepresivos tricíclicos y α -metildopa. Cualquier trastorno del tallo hipofisario (p. ej., tumores, traumatismo o inflamación) causa aumento de la prolactina como resultado de la interrupción del flujo de la dopamina del hipotálamo a los lactótrofos, las células hipofisarias secretoras de prolactina. La TRH estimula de manera directa la secreción de la prolactina, en tanto los aumentos de la TRH (como se observa en el hipotiroidismo primario) elevan las concentraciones de la prolactina.³⁷ Los estrógenos estimulan, también, de forma directa a los lactótrofos para sintetizar prolactina. La estimulación patológica del reflejo neural de succión constituye la explicación probable de la hiperprolactinemia relacionada con lesiones en la pared del pecho. Asimismo, se observa hiperprolactinemia en presencia de insuficiencia renal y síndrome ovárico polístico. Los estresores fisiológicos, como el ejercicio y las convulsiones, también elevan la prolactina. Se desconoce el efector de retroalimentación para la prolactina.

Como se mencionó, el efector fisiológico de la prolactina es la lactancia. La consecuencia habitual del exceso de prolactina es el hipogonadismo, sea por supresión de la secreción de gonadotropina a partir de la hipófisis o por inhibición de la acción de la gonadotropina en la gónada.³⁸ La supresión de la ovulación que se observa en el posparto en madres en lactancia está relacionada con este fenómeno.

Prolactinoma

Un prolactinoma es un tumor hipofisario que secreta directamente prolactina, y representa el tipo más frecuente de tumor hipofisario funcional. La presentación clínica de un paciente con un prolactinoma depende de la edad, del sexo y del tamaño del tumor. Las mujeres premenopáusicas se quejan con mayor frecuencia de irregularidad menstrual/amenorrea, infertilidad, o galactorrea. Por lo general, los hombres o las mujeres posmenopáusicas presentan síntomas de una masa hipofisaria, como dolores de cabeza o afecciones visuales. En ocasiones, en hombres se observa reducción de la libido o problemas de disfunción eréctil. Las razones de la gama de presentaciones de un prolactinoma son un poco imprecisas, pero es posible que se relacionen con alteración importante evidente en las menstruaciones, o el establecimiento abrupto de una descarga de pecho en mujeres más jóvenes. En cambio, es posible pasar por alto la declinación en la función repro-

ductiva en pacientes de mayor edad como una consecuencia inexorable del “envejecimiento”. Una complicación reconocida en fecha reciente del hipogonadismo inducido por la prolactina es la osteoporosis.³⁹

Otras causas de hiperprolactinemia

Hay muchas causas fisiológicas, farmacológicas y patológicas de la hiperprolactinemia. Un error común de los clínicos es atribuir cualquier elevación de prolactina a un “prolactinoma”. Por lo general, las elevaciones importantes de la prolactina (>150 ng/ml) indican prolactinoma, y el grado de elevación de la prolactina se correlaciona con el tamaño del tumor.⁴⁰ Se observan elevaciones modestas de prolactina (25 a 100 ng/ml) con interrupción del tallo hipofisario, uso de medicamentos dopaminérgicos antagonistas u otros trastornos médicos.

Evaluación clínica de la hiperprolactinemia

A menudo un historial clínico cuidadoso y examen físico son suficientes para excluir la mayor parte de las causas más frecuentes no endocrinas de la hiperprolactinemia. Es esencial obtener la TSH y T_4 libre (o tiroxina total y captación de la resina T_3) para descartar hipotiroidismo primario como causa de la elevación de la prolactina. Cuando se sospecha un tumor hipofisario, se debe obtener una evaluación cuidadosa de otra función de la hipófisis anterior (cortisol basal, LH, FSH y esteroide gonadal específico del género [sea estradiol o testosterona]) y evaluación de la anatomía sellar con IRM de alta resolución.

Control del prolactinoma

Los objetivos terapéuticos constan de corrección de los síntomas que se originan por invasión local o extensión del tumor por reducción de la masa tumoral, restauración de la función gonadal normal y la fertilidad, prevención de osteoporosis y preservación de la función normal de las hipófisis anterior y posterior. Las diferentes opciones terapéuticas abarcan observación simple, cirugía, radioterapia o control médico con agonistas de la dopamina.³⁶ Sin embargo, el control del prolactinoma también depende del tamaño del tumor (es menos probable “curar” macroadenomas [tamaño de tumor >10 mm] que microadenomas [tamaño de tumor <10 mm])⁴¹ y las preferencias del paciente.

ESTUDIO DE CASO 17-2

Una mujer de 23 años de edad experimenta inicio reciente de una descarga de pecho espontánea bilateral y cese gradual de las menstruaciones. Informa crecimiento y desarrollo normales y nunca ha estado embarazada.

Preguntas

1. ¿Cuáles trastornos es probable que causen los síntomas?

- ¿Cuáles afecciones médicas (distintas a prolactinoma) se relacionan con hiperprolactinemia?
- ¿Cuáles medicamentos elevan la prolactina?
- ¿Cómo cambiaría su forma de pensar si la mujer tuviera galactorrea pero concentraciones normales de prolactina?

Los agonistas de la dopamina constituyen la terapia empleada con mayor frecuencia para los microprolactinomas. Se observa reducción del tumor en más de 90% de los pacientes tratados con mesilato de bromocriptina o el nuevo agonista de la dopamina, la cabergolina. Además, ambos fármacos reducen los macroadenomas secretadores de prolactina.⁴² A menudo, también se observan reanudación de las menstruaciones y restauración de la fertilidad durante la terapia médica. Entre los efectos adversos de la bromocriptina se incluyen hipotensión ortostática, mareos y náusea. Los efectos adversos gastrointestinales de la bromocriptina se aminoran a través de la administración intravaginal, y su eficacia no se ve afectada por lo demás.⁴³ La cabergolina tiene menos efectos adversos, y es posible administrarla cada dos semanas debido a que su período de acción es más prolongado. Cualquier agente se suspende durante el embarazo, a menos que se informe reaumento del tamaño del tumor.

La neurocirugía no representa una alternativa primaria de control del prolactinoma. Las indicaciones para la intervención neuroquirúrgica incluyen apoplejía hipofisaria (hemorragia), pérdida visual aguda debido al macroadenoma, prolactinoma cístico o intolerancia a la terapia médica. Los índices de curación quirúrgica son inversamente proporcionales al tamaño del tumor y al grado de aumento de la prolactina. Por lo general, la radioterapia de emisión externa está reservada para los pacientes con riesgo quirúrgico elevado con macroadenomas agresivos en forma local que no toleran agonistas de la dopamina.

Galactorrea idiopática

A la lactancia que ocurre en mujeres con concentraciones normales de prolactina se le define como *galactorrea idiopática*. Esta afección se observa a menudo en mujeres que llevan varios embarazos y no tiene implicación patológica.

HIPOPITUITARISMO

La falla de la hipófisis o del hipotálamo da como resultado la pérdida de la función de la hipófisis anterior. A la pérdida completa de la función se le denomina panhipopituitarismo. Sin embargo, es posible que haya pérdida de una sola hormona hipofisaria, a lo que se le conoce como deficiencia monotrópica hormonal. La pérdida de una hormona trópica (ACTH, TSH, LH y FSH) se refleja en el cese de la función de la glándula endocrina afectada.

La pérdida de los efectores directos (hormona del crecimiento y prolactina) tal vez no sea evidente con facilidad. Esta sección se centra en las causas del hipopituitarismo y ciertas sutilezas implicadas en la terapia del panhipopituitarismo. En otros capítulos se muestran descripciones más detalladas de varios estados de deficiencia hormonal.

El diagnóstico del laboratorio del hipopituitarismo es relativamente sencillo. A diferencia de la falla primaria de una glándula endocrina que se acompaña por aumentos importantes en los niveles circulantes de la hormona trópica hipofisaria correspondiente, la falla secundaria (hipopituitarismo) se relaciona con concentraciones bajas o normales de la hormona trópica. En el hipotiroidismo primario, por ejemplo, las concentraciones circulantes de tiroxina son bajas y los valores de la TSH llegan a sobrepasar los 200 $\mu\text{U/ml}$ (normal, 0.4 a 5.0). Como resultado de la falla hipofisaria en el hipotiroidismo, las concentraciones de TSH son bajas de manera inapropiada, y por lo general menores de 1.0 $\mu\text{U/ml}$.

Hay varios elementos importantes en la distinción entre los estados primarios y secundarios de la deficiencia hormonal. Para diferenciar entre deficiencias primarias y secundarias, se deben medir los valores tanto de la hormona trópica como de la hormona blanco cuando exista cualquier sospecha de falla hipofisaria, o como parte de la evaluación rutinaria de la función gonadal o suprarrenal. Si está documentada una deficiencia secundaria, es esencial investigar otros estados de deficiencia y la causa de la falla hipofisaria. Por ejemplo, la falta de reconocimiento del hipoadrenalismo secundario tal vez tenga consecuencias catastróficas si al paciente se le trata con tiroxina. Del mismo modo, el hecho de pasar por alto al principio una lesión hipofisaria o hipotalámica quizá excluya el diagnóstico temprano y el tratamiento de un tumor en potencia agresivo.

Etiología del hipopituitarismo

En el cuadro 17-4 se enumeran las distintas causas de hipopituitarismo. Los efectos directos de los tumores hipofisarios, o las secuelas del tratamiento de éstos, constituyen las causas más frecuentes de la falla hipofisaria. Los tumores hipofisarios llegan a causar panhipopituitarismo al comprimir o sustituir el tejido normal o interrumpir el flujo de las hormonas hipotalámicas por destrucción del tallo hipofisario. Los tumores hipofisarios grandes no secretorios (adenomas cromófobos) o macroprolactinomas se relacionan más a menudo con este fenómeno. Además, los

ESTUDIO DE CASO 17-3

Un hombre de 60 años de edad se presenta con dolores de cabeza intratables. Se solicita una IRM para evaluar esta dolencia, y se descubre un tumor hipofisario de 2.5 cm. En retrospectiva, él observa una pérdida de peso inexplicable de 20 kg, intolerancia al frío, fatiga y ausencia de deseo sexual.

Preguntas

1. ¿Cómo abordaría la evaluación de su función hipofisaria anterior?
2. ¿Qué prueba adicional es posible solicitar para confirmar la pérdida de la función hipofisaria anterior?

CUADRO 17-4. CAUSAS DEL HIPOPITUITARISMO

1. Tumores hipofisarios
2. Tumores parapituitarios/hipotalámicos
3. Traumatismo
4. Terapia/cirugía de radiación
5. Infarto
6. Infección
7. Enfermedad infiltrativa
8. Inmunológica
9. Familiar
10. Idiopática

tumores parasellares (meningiomas y gliomas), metastásicos (pecho y pulmón) e hipotalámicos (craneofaringiomas o disgerminomas) causan hipopituitarismo a través de mecanismos similares. La hemorragia en un tumor hipofisario (apoplejía hipofisaria) es rara. Sin embargo, cuando ocurre, a menudo causa falla hipofisaria completa. La necrosis isquémica posparto de la hipófisis después de un alumbramiento complicado (síndrome de Sheehan) suele presentarse como un choque profundo sin respuesta o como deficiencia de lactato en el puerperio. Las enfermedades infiltrativas, como la hemacromatosis, la sarcoidosis o la histiocitosis, también llegan a afectar la función hipofisaria. Las infecciones fungicidas, la tuberculosis y la sífilis en ocasiones afectan la hipófisis o el hipotálamo y causan deterioro de la función. La hipofisitis linfocítica, una enfermedad autoinmunitaria de la hipófisis, tal vez sólo afecte a un tipo celular en la hipófisis, lo que da como resultado deficiencia hormonal monotrópica, o implique a todos los tipos celulares, lo que produce pérdida total de la función. Es posible que el traumatismo grave de la cabeza rompa el tallo hipofisario o interrumpa la circulación portal. Del mismo modo, la cirugía que implica a la hipófisis llega a afectar el tallo o el aporte sanguíneo a la hipófisis, o ambos, o a disminuir de manera yatrogénica la masa del tejido hipofisario funcional. El panhipopituitarismo quizá se origine por la radioterapia usada para tratar un tumor hipofisario primario o una hipófisis que se incluyó por accidente en el puerto de la radiación; sin embargo, la

pérdida de función pudiera ser gradual y ocurrir durante varios años. Existen casos raros de panhipopituitarismo o deficiencias hormonales monotrópicas familiares. En el síndrome de Kallmann, por ejemplo, hay deficiencia de la GnRH, y el paciente padece hipogonadismo secundario. Por último, cuando no se identifica una causa evidente de la pérdida de la función hipofisaria, al paciente se le clasifica como poseedor de hipopituitarismo idiopático, aunque en un informe de un caso reciente se puso énfasis en la necesidad de continuar la búsqueda de una etiología.⁴⁴

Tratamiento del panhipopituitarismo

En el paciente promedio, la terapia de reemplazo para panhipopituitarismo es igual que para la falla primaria del órgano blanco. A los pacientes se les trata con tiroxina, glucocorticoides y esteroides sexuales específicos del género. Este método es menos claro que el reemplazo de la hormona del crecimiento en adultos. Se requieren estudios adicionales para aclarar este tema.^{45,46} El reemplazo se vuelve más complicado en pacientes panhipopituitarios que desean mantenerse fértiles. Las infusiones pulsátiles de GnRH han inducido pubertad y restauración de la fertilidad en pacientes con síndrome de Kallmann, en tanto las preparaciones de gonadotropina restablecieron la ovulación/espermatogénesis en personas con deficiencia de gonadotropina.⁴⁷

HORMONA DE LA HIPÓFISIS POSTERIOR

La hipófisis posterior es una extensión del prosencéfalo y representa la región de almacenamiento para la vasopresina (también se le conoce como *hormona antidiurética* [ADH]) y la oxitocina. Ambas hormonas pépticas pequeñas se sintetizan en los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo, y se transportan a la neurohipófisis a través de sus axones en el tracto hipotalamoneurohipofisario. Éste atraviesa la eminencia media del hipotálamo y continúa hacia la hipófisis posterior a través del tallo hipofisario. La síntesis de cada una de estas hormonas se vincula de manera estrecha con la producción de neurofisiña, una proteína más grande con función aún no comprendida por completo. Ambas hormonas se sintetizan fuera del hipotálamo en varios tejidos, y resulta plausible que tengan una función autocrina o paracrina.

ESTUDIO DE CASO 17-4

A una mujer de 18 años de edad se le ingresa a la unidad de cuidado intensivo neurológico después de sufrir una lesión grave en la cabeza. Se le estabiliza luego de 24 h, pero el personal de enfermería observa un aumento importante en la producción de orina de la paciente, que sobrepasa los 1 000 ml/h.

Preguntas

1. ¿Qué es lo que causa el aumento en la producción de orina?
2. ¿Cómo demostraría sus sospechas?
3. ¿Es posible que padezca otros problemas endocrinológicos?

Oxitocina

La oxitocina es un nonapéptido cíclico, con un puente de disulfuro que conecta los residuos 1 y 6 del aminoácido. Como modificación postraslacional, el borde terminal C es amidado. La oxitocina tiene un papel crítico en la lactancia⁴⁸ y es probable que desempeñe una función importante en el trabajo de parto y alumbramiento.⁴⁹ Además de sus efectos reproductores, está demostrado que la oxitocina tiene efectos en la función hipofisaria, renal, cardíaca e inmunitaria.

Vasopresina

La vasopresina, que posee una estructura similar a la oxitocina, es un nonapéptido cíclico con un puente idéntico de disulfuro; se diferencia de la oxitocina por sólo dos aminoácidos. La principal acción de la vasopresina es la regulación de la excreción renal de agua libre y, por tanto, juega un papel primordial en el equilibrio del agua. Los receptores de la vasopresina en el riñón (V_2) se concentran en los túbulos renales de recolección y la rama ascendente del asa de Henle. Se acoplan con la ciclase adenilato y, una vez que están activados, inducen la inserción de 2-aguaporina, una proteína que canaliza agua, dentro de la membrana tubular luminal.⁵⁰ Además, la vasopresina es un agente presor potente y efectúa la coagulación sanguínea⁵¹ al promover la liberación del factor VII a partir de los hepatocitos, y la liberación del factor de von Willebrand a partir del endotelio. Estos receptores de la vasopresina (V_{1a} y V_{1b}) se acoplan a la fosfolipasa C.

Los osmorreceptores hipotalámicos y los barorreceptores vasculares regulan la liberación de la vasopresina a partir de la hipófisis posterior. Los osmorreceptores son bastante sensibles a cualquier cambio mínimo en la osmolalidad del plasma, con un umbral osmótico promedio de liberación de vasopresina en seres humanos de 284 mosm/kg. A medida que la osmolalidad plasmática aumenta, también lo hace la secreción de la vasopresina. La consecuencia es una reducción en la depuración renal de agua libre, dismi-

nución de la osmolalidad plasmática y regreso a la homeostasis. Los barorreceptores vasculares (situados en el atrio izquierdo, el arco aórtico, y las arterias carótidas) inician la liberación de la vasopresina en respuesta a un descenso en el volumen sanguíneo o la presión arterial. En seres humanos normales, una disminución de 5 a 10% en la presión arterial sanguínea desencadena la liberación de vasopresina. Sin embargo, a diferencia de un estímulo osmótico, la respuesta de la vasopresina a un estímulo inducido por un barorreceptor es exponencial. De hecho, la secreción de la vasopresina inducida por un barorreceptor neutraliza la supresión osmótica normal de la secreción de vasopresina.

La diabetes insípida (DI), caracterizada por la producción copiosa de orina (poliuria) y sed intensa (polidipsia), es una consecuencia de la deficiencia de vasopresina. Sin embargo, la deficiencia total de vasopresina es poco habitual. El paciente típico se presenta con una deficiencia parcial. Las causas de la DI hipotalámica incluyen autoinmunidad evidente a las neuronas secretoras de vasopresina, traumatismo, enfermedades que afectan la función del tallo hipofisario y varios tumores del SNC o hipofisarios. Un porcentaje importante de los pacientes (hasta 30%) padecerá DI idiopática.⁵²

De acuerdo con el grado de deficiencia de vasopresina, el diagnóstico de DI se manifiesta con facilidad o requiere investigación extensa. La documentación de una concentración baja de manera inadecuada de vasopresina con osmolalidad plasmática elevada produciría un diagnóstico razonablemente seguro de DI. En casos menos obvios, el paciente requiere una prueba de privación de agua en la que se realicen retención de líquidos y determinaciones en serie de osmolalidad en suero y orina, en un intento por determinar la capacidad del paciente para conservar el agua. Bajo circunstancias seleccionadas, un proveedor de cuidado de la salud ofrece tan sólo un análisis terapéutico de la vasopresina o un análogo sintético, como el dDAVP, y evalúa la respuesta del paciente. En estas condiciones, al aminoramiento de la poliuria y polidipsia se le consideraría una respuesta positiva, y se establece un diagnóstico presunto de DI.

PREGUNTAS DE REPASO

- La retroalimentación negativa de circuito abierto se refiere al fenómeno de:
 - Retroalimentación negativa con un punto de ajuste modificable.
 - Flujo sanguíneo en el sistema portal hipotalámico-hipofisario.
 - Flujo sanguíneo a la hipófisis a través de los vasos penetrantes a la dura.
 - Retroalimentación negativa que implica un punto de ajuste fijo e invariable.
- El efector de retroalimentación específica para la FSH es:
 - Activina.
 - Inhibina.
 - Progesterona.
 - Estradiol.
- ¿Qué hormona de la hipófisis anterior carece de una hormona hipofisiotrópica estimuladora?
 - Hormona del crecimiento.
 - Prolactina.
 - Vasopresina.
 - ACTH.
- La prueba de supresión definitiva para demostrar la producción autónoma de la hormona del crecimiento es:
 - Infusión de somatostatina.
 - Preparación de estrógeno.
 - Supresión de la dexametasona.
 - Dosis de glucosa oral.

5. ¿Cuál de los siguientes es influenciado por la hormona del crecimiento?
 - a) FCI-I.
 - b) PUFICI-III.
 - c) Lipólisis.
 - d) Todos los anteriores.
6. ¿Cuál enunciado referente a la secreción de la vasopresina NO es verdadero?
 - a) La secreción de vasopresina está vinculada de manera estrecha con la osmolalidad plasmática.
 - b) Los cambios en el volumen sanguíneo también alteran la secreción de la vasopresina.
 - c) La reducción del volumen sanguíneo efectivo neutraliza los efectos de la osmolalidad plasmática en la regulación de la secreción de la vasopresina.
 - d) Todos los anteriores.
7. ¿Cuál es la secuela a largo plazo de la acromegalia no tratada o tratada de manera parcial?
 - a) Mayor riesgo de cáncer de colon y pulmón.
 - b) Reducción del riesgo de cardiopatía.
 - c) Mayor longevidad.
 - d) Aumento de la fuerza muscular.
8. La hormona liberadora de tirotropina (TRH) estimula la secreción de:
 - a) Prolactina.
 - b) Hormona del crecimiento.
 - c) TSH.
 - d) a y c.
9. El estrógeno influye en la secreción de ¿cuál de las siguientes hormonas?
 - a) Hormona del crecimiento.
 - b) Prolactina.
 - c) Hormona luteinizante.
 - d) Todas las anteriores.

REFERENCIAS

1. Frohman LA. Diseases of the anterior pituitary. In: Felig P, Baxter JD, Broadus AE, Frohman LA, eds. *Endocrinology and Metabolism*, 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 1981:247-337.
2. Asa SL, Horvath E, Kovacs KT. Functional pituitary anatomy and histology. In: Melmed S, ed. *Endocrinology*, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001:167-182.
3. Monig H, Arendt A, Meyer M, et al. Activation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in response to septic or non-septic diseases—implications for the euthyroid sick syndrome. *Intensive Care Med* 1999;25:1402-1496.
4. Urban RJ, Evans WS, Rogol, AD, et al. Contemporary aspects of discrete pulse detection algorithms I. The paradigm of the LH pulse signal in men. *Endocr Rev* 1988;9:3-37.
5. Crowley WF Jr, Whitcomb RN, Jameson JL, et al. The neuroendocrine control of reproduction in the male. *Recent Prog Horm Res* 1991;47:27-62.
6. Follenius M, Brandenberger G: Plasma free cortisol during secretory episodes. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:609-612.
7. Veldhuis JD, Iranmanesh A, Johnson ML, Lizarralde G. Amplitude, but not frequency, modulation of adrenocorticotropin secretory bursts gives rise to the nyctohemeral rhythm of the corticotropic axis in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:452-463.
8. Samuels MH, Veldhuis JD, Henry P, Ridgeway EC. Pathophysiology of pulsatile and copulsatile release of thyroid stimulating hormone, luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and α -subunit. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:425-432.
9. Casanueva FE Physiology of growth hormone secretion and action. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1992;21:483-517.
10. Van Cauter E, Plat L, Copinschi G. Interrelations between sleep and the somatotrophic axis. *Sleep* 1998;21:553-566.
11. Herman-Bonert VS, Prager D, Melmed S. Growth hormone. In: Melmed S, ed. *The Pituitary*. Cambridge, MA: Blackwell Science, 1995:98-135.
12. Pinto G, Adan L, Souberbielle JC, et al. Idiopathic growth hormone deficiency: presentation, diagnosis and treatment. *Ann Endocrinol (Paris)* 1999;60:224-231.
13. Teale JD, Marks V. Inappropriately elevated plasma insulin-like growth factor II in relation to suppressed insulin-like growth factor I in the diagnosis of non-islet cell hypoglycemia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1990;33:87-98.
14. Blakesley VA, Scrimgeour A, Esposito D, LeRoith D. Signaling via the insulin-like growth factor I receptor. Does it differ from insulin receptor signaling. *Cytokine Growth Factor Rev* 1996;7:153-159.
15. Clemmons DR. Insulin-like growth factor-I and its binding proteins. In: Melmed S, ed. *Endocrinology*, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001:439-460.
16. Binoux M, Roghani M, Hossenlopp P, et al. Molecular forms of IGF binding proteins: physiological implications. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1991;124:41-47.
17. Span JP, Pieters GF, Sweep CG, et al. Plasma IGF-I is a useful marker of growth hormone deficiency in adults. *J Endocrinol Invest* 1999;22:446-450.
18. van der Lely AJ, de Herder WW, Janssen JA, et al. Acromegaly: the significance of serum total and free IGF-I and IGF-binding protein-3 in diagnosis. *J Endocrinol* 1997;155:9-16.
19. de Herder WW, van der Lely AJ, Janssen JA, et al. IGFBP-3 is a poor parameter for assessment of clinical activity in acromegaly. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995;43:501-505.
20. Clemmons DR. Insulin-like growth factor binding proteins. *Trends Endocrinol Metab* 1990;1:412-417.
21. Ezzat S. Acromegaly. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1997;26:703-723.
22. Biller BMK, Samuels MH, Zagar A, et al. Sensitivity and specificity of six tests for the diagnosis of adult GH deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:2067-2079.
23. Faglia G, Arosio M, Bazzoni N. Ectopic acromegaly. *Endocrinol Metab Clinics NA* 1992;21:575-596.
24. Ezzat S, Ezrin C, Yamashita S, Melmed S. Recurrent acromegaly resulting from ectopic growth hormone gene expression by a metastatic pancreatic tumor. *Cancer* 1993;71:66-70.
25. Molitch ME. Clinical aspects of acromegaly. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1992;597-614.

26. Lamberts SW, Klijn JGM, van Vroonhoven CCJ, et al. Different responses of growth hormone secretion to guanfacine, bromocriptine and thyrotropin-releasing hormone in acromegalic patients with pure growth hormone (GH)-containing and mixed GH/prolactin-containing pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1985;60:1148–1153.
27. Beck-Peccoz P, Brucker-Davis F, Persani L, et al. Thyrotropin-secreting pituitary tumors. *Endocr Rev* 1996;17:610–638.
28. Fahlbusch R, Honegger J, Buchfelder M. Surgical management of acromegaly. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1992;21:669–692.
29. Jackson IM, Norén G. Role of gamma knife therapy in the management of pituitary tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999;28:133–142.
30. Newman C. Medical therapy for acromegaly. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999;28:171–190.
31. Rudman D, Kutner MH, Rogers CM, et al. Impaired growth hormone secretion in the adult population: relation to age and adiposity. *J Clin Invest* 1981;67:1361–1369.
32. Rosenfeld RG. Growth hormone deficiency in children. In: Melmed S, ed. *Endocrinology*, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001:503–519.
33. Cuneo RC, Salomon F, McGauley GA, Sönksen PH. The growth hormone deficiency syndrome in adults. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1992;37:387–397.
34. Rosén T, Bengtsson BA. Premature mortality due to cardiovascular disease in hypopituitarism. *Lancet* 1990;336:285–288.
35. Hansen TB, Vahl N, Jørgensen JO, et al. Whole body and regional soft tissue changes in growth hormone deficient adults after one year of growth hormone treatment: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Clin Endocrinol* 1995;43:689–696.
36. Molitch M. Medical management of prolactinomas. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999;28:143–169.
37. Honbo KS, Herle AVJ, Kellett KA. Serum prolactin levels in untreated hypothyroidism. *Am J Med* 1978;64:782–787.
38. Odell WD. Prolactin-producing tumors. In: Odell WD, Nelson DH, eds. *Pituitary Tumors*. Mt Kisco, NY: Futura Publishing, 1984:159–179.
39. Wardlaw SL, Bilezikian JP. Hyperprolactinemia and osteopenia. *J Clin Endocrinol Metab* 1002;75:690–691.
40. Faglia G. Prolactinomas and hyperprolactinemic syndrome. In: Melmed S, ed. *Endocrinology*, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001:329–342.
41. Molitch ME. Prolactinomas. In: Melmed S, ed. *The Pituitary*. Cambridge, MA: Blackwell Science, 1995:443–477.
42. Demura R, Kubo O, Demura H, et al. Changes in computed tomographic findings in microprolactinomas before and after bromocriptine. *Acta Endocrinol* 1985;110:308–312.
43. Vermesh M, Fossum GT, Kletzky OA. Vaginal bromocriptine: pharmacology and effect on serum prolactin in normal women. *Obstet Gynecol* 1988;72:693–698.
44. Katz BJ, Jones RE, Digre KB, et al. Panhypopituitarism as an initial manifestation of primary central nervous system non-Hodgkin's lymphoma. *Endocr Pract* 2003;9:296–300.
45. Isley WL. Growth hormone therapy for adults: not ready for prime time? *Ann Intern Med* 2002;137:190–196.
46. Cook DM. Shouldn't adults with growth hormone deficiency be offered growth hormone replacement therapy? *Ann Intern Med* 2002;137:197–201.
47. Hayes FJ, Seminara SB, Crowley WF Jr. Hypogonadotropic hypogonadism. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998;27:739–763.
48. Nishimori K, Young LJ, Guo Q, et al. Oxytocin is required for nursing but is not essential for parturition or reproductive behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:11699–11704.
49. Goodwin TM, Zograbyan A. Oxytocin receptor antagonists—update. *Clin Perinatol* 1998;25:859–871.
50. Cheng A, van Hoek AN, Yeager M, et al. Three-dimensional organization of a human water channel. *Nature* 1997;387:627–630.
51. Mannucci PM, Ruggeri ZM, Pareti FI, Capitanio A. DDAVP: A new pharmacological approach to the management of hemophilia and von Willebrand disease. *Lancet* 1977;1:869–872.
52. Moses AM, Notman DD. Diabetes insipidus and syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion (SIADH). *Adv Int Med* 1982;27:73–110.

Función suprarrenal

LeAnne Swenson y Daniel H. Knodel

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- **LA GLÁNDULA SUPRARRENAL: UN PANORAMA GENERAL**
- **EMBRIOLOGÍA Y ANATOMÍA**
- **LA CORTEZA SUPRARRENAL POR ZONA**
 - Esteroidogénesis de la corteza
 - Hiperplasia suprarrenal congénita
- **DIAGNÓSTICO DEL ALDOSTERONISMO PRIMARIO**
 - Algoritmo del diagnóstico
- **INSUFICIENCIA SUPRARRENAL (ENFERMEDAD DE ADDISON)**
 - Diagnóstico de insuficiencia suprarrenal
 - Tratamiento con insuficiencia suprarrenal
- **HIPERCORTISOLISMO**
- **SÍNDROME DE CUSHING**
 - Diagnóstico del síndrome de Cushing
 - Cuando se confirma Cushing, las pruebas de estimulación de la CRH ayudan a determinar la dependencia de la ACTH (por lo general innecesaria)
 - Procedimientos de localización
 - Algoritmo para la determinación de Cushing
 - Tratamiento
- **EXCESO DE ANDRÓGENO**
 - Diagnóstico de la producción excesiva de andrógeno
 - Tratamiento para la sobreproducción andrógena suprarrenal
- **MÉDULA SUPRARRENAL**
 - Desarrollo
 - Biosíntesis y almacenamiento de las catecolaminas
 - Degradación de las catecolaminas
 - Mediciones de las catecolaminas urinarias y plasmáticas
 - Causas de hiperactividad simpática
 - Diagnóstico del feocromocitoma
 - Tratamiento del feocromocitoma
 - Resultado y pronóstico
- **INCIDENTALOMA**
- **PREGUNTAS DE REPASO**
- **REFERENCIAS**

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Explicar cómo funciona la glándula suprarrenal para mantener la presión sanguínea, el potasio y la homeostasis de glucosa.
- Describir la biosíntesis, la regulación y las acciones de los esteroides de acuerdo con la localización anatómica dentro de la glándula suprarrenal.
- Analizar la patofisiología de los trastornos de la corteza suprarrenal, a saber, el síndrome de Cushing y la enfermedad de Addison.
- Distinguir las deficiencias de la enzima suprarrenal y sus vías bloqueadoras en el establecimiento de un diagnóstico.
- Describir la síntesis, el almacenamiento y el metabolismo de las catecolaminas.
- Establecer las mediciones más útiles en la corroboración del diagnóstico de feocromocitoma.
- Enumerar los hallazgos clínicos relacionados con hipertensión que sugieren que una etiología suprarrenal subyacente ocasiona presión sanguínea elevada.
- Señalar las pruebas de laboratorio apropiadas para el diagnóstico diferencial del síndrome de Cushing primario y secundario y la enfermedad de Addison.

TÉRMINOS CLAVE

Ácido homovanílico (AHV)	5-Dehidrotestosterona (5-DHT)	Hiperplasia suprarrenal congénita (HSC)	Péptido natriurético auricular (PNA)
Actividad de la renina plasmática (ARP)	11-Deoxicortisol (11-DOC)	Hipertensión (HTN)	Producción anormal de aldosterona
Adrenalina (A)	Dolor de cabeza (DC)	Hormona adrenocorticotrópica (ACTH)	Sistema renina-angiotensina (SRA)
Aldosterona (Aldo)	Enfermedad cardiovascular (ECV)	Hormona antidiurética (ADH)	Transportadores vesiculares de monoamina (VMAT)
Aldosterona plasmática (AP)	Enzima convertidora de angiotensina (ECA)	Hormona liberadora de la corticotropina (CRH)	Zona fasciculada (zona-F)
Antiinflamatorios no esteroideos (AINE)	Feniletanolamina <i>N</i> -metiltransferasa (FNMT)	Monoaminooxidasa (MAO)	Zona glomerulosa (zona-G)
Carcinoma celular escamoso (CCE)	Feocromocitoma (Feo)	Noradrenalina (NA)	Zona reticular (zona-R)
Catecol-metiltransferasa (COMT)	17-Hidroxicorticosteroide (17-OHCS)	Péptido inhibidor vasoactivo (PIV)	
Dehidroepiandrosterona (DHEA)			

LA GLÁNDULA SUPRARRENAL: UN PANORAMA GENERAL

La glándula suprarrenal es un órgano multifuncional que produce las hormonas y los neuropéptidos esenciales para la vida. A pesar de los efectos complejos de las hormonas suprarrenales, la mayor parte de las afecciones patológicas de la glándula suprarrenal están vinculadas por su impacto sobre la presión arterial.¹ Como tal, se debe tomar en cuenta una etiología suprarrenal en el diagnóstico diferencial de todos los pacientes con presión arterial anormal, en particular cuando se acompaña de anomalías electrolíticas, cambio inexplicable en el peso, virilización inapropiada y períodos de ansiedad, debilidad, ortostasis, palpitaciones, *dolor de cabeza* y dolor del pecho o abdominal.

En la práctica clínica, los pacientes a menudo se presentan con estados de producción deficiente o excesiva de una o más hormonas suprarrenales. Por lo general, la hipofunción se trata con el reemplazo exógeno de la hormona; la hiperfunción, con supresión farmacológica o escisión quirúrgica.

EMBRIOLOGÍA Y ANATOMÍA

La glándula suprarrenal se compone de dos glándulas distintas desde el punto de vista embriológico, pero conjuntas: la corteza suprarrenal externa y la médula suprarrenal

interna. La corteza se deriva de las células mesenquimatosas localizadas cerca de la porción urogenital que se diferencia en tres zonas con estructura y función distintas (fig. 18-1). La médula surge de las células neurales superiores que invaden la corteza durante el segundo mes de desarrollo. En la edad adulta, la médula contribuye con 10% del peso suprarrenal total. Hasta la fecha, no se conocen por completo los mecanismos implicados en el mantenimiento del tamaño y la función suprarrenales.²

Las glándulas suprarrenales tienen forma de pirámide y se localizan por encima y en medio de los riñones, en el espacio retroperitoneal (glándulas suprarrenales). En sección gruesa, ambas regiones permanecen distintas: el aspecto de la corteza es amarillo; el de la médula, caoba oscuro.

El aporte arterial suprarrenal es simétrico. Las arteriolas pequeñas se ramifican para formar un plexo subcapsular denso que drena dentro del plexo sinusoidal de la corteza. No hay aporte directo a las zonas fasciculada y reticular. En cambio, en el drenaje venoso de la vena central se observa lateralidad. Después de atravesar la médula, la vena suprarrenal derecha desemboca en la vena cava inferior; y la vena suprarrenal izquierda, en la vena renal izquierda. Hay una red sinusoidal capilar separada de las arteriolas medulares que también drena en la vena central y limita la exposición de células corticales a la sangre venosa medular. Los glucocorticoides de la corteza se transportan de forma directa a la médula suprarrenal a través del sistema

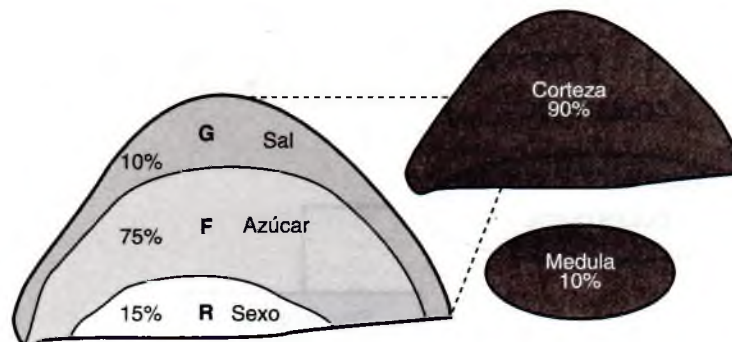


FIGURA 18-1. Glándula suprarrenal por capa.

portal, donde estimulan la producción de *adrenalina* (A) (véase fig. 18-17).

Los axones simpáticos y parasimpáticos llegan a la médula a través de la corteza. En el camino, estos axones liberan neurotransmisores (p. ej., catecolaminas, neuropéptido Y) que modulan el flujo sanguíneo de la corteza, el crecimiento celular y la función. En proyecciones medulares dentro de la corteza se ha encontrado que contienen células que también sintetizan y liberan neuropéptidos, como *péptido inhibidor vasoactivo* (PIV), *adrenomedulina* y *péptido natriurético auricular* (PNA), e influyen de manera potencial en la función de la corteza.

LA CORTEZA SUPRARRENAL POR ZONA

Las hormonas principales de la corteza, aldosterona, cortisol y *sulfato de dehidroepiandrosterona* (SDHEA), se sintetizan sólo a partir de un precursor común por células localizadas en una de las tres capas de las zonas distintas desde el punto de vista funcional de la corteza suprarrenal: *glomerulosa*, *fasciculada* y *reticular*, respectivamente (fig. 18-1).

Zona G. Las células de la zona glomerulosa (10% externa) sintetizan mineralocorticoides (aldosterona) críticos para la homeostasis de sodio (volumen), potasio y acido-base. Tienen proporciones citoplásmicas a nucleares bajas y pequeños núcleos con cromatina densa con inclusiones intermediarias de lípidos.

Zona F. Las células de la zona fasciculada (75% intermedia) sintetizan glucocorticoides, como el cortisol, críticos para la homeostasis de la glucosa sanguínea. Las células fasciculadas son cordones de células claras, con elevada proporción citoplásmica a nuclear y lípidos cargados con citoplasma “espumoso”. Además, la fasciculada genera precursores de andrógenos, como *dehidroepiandrosterona* (DHEA), que está sulfatado en la *zona reticular* más profunda (*capa R*). Los restos suprarrenales subcapsulares (sólo corteza) se regeneran dentro de las suprarrenales fasciculadas, se metastatizan y sobreviven en lugares ectópicos, como el hígado, la pared de la vesícula biliar, los ligamentos amplios, el plexo celiaco, los ovarios, el escroto y el cráneo.

Zona R. Las células de la zona reticular (10% interna) sulfatan la DHEA a *sulfato de dehidroepiandrosterona* (DHEAS), un precursor para las hormonas suprarrenales sexuales. La zona se demarca de manera nítida con cordones lípido deficientes de células densas e irregulares con depósitos de lipofusina.

Se presume que los tipos de células suprarrenales provienen de células madre. Una capa de tejido propuesta entre la zona glomerular y la fasciculada llega a servir como sitio para que las células progenitoras regeneren las células de las zonas.³

Esteroidogénesis de la corteza

El control de la biosíntesis de la hormona esteroidea es complejo. Ocurre a través de disponibilidad del sustrato, actividades enzimáticas y circuitos de retroalimentación inhibidores que son específicos para cada capa. La definición de la biosíntesis y las acciones de la corteza suprarrenal en términos de tres capas simplifica su complejidad.

Todos los esteroides suprarrenales se derivan por conversión enzimática secuencial de un sustrato común: el colesterol. Las células parenquimatosas suprarrenales acumulan y almacenan alrededor de 80% de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) circulantes. Además, la glándula suprarrenal sintetiza colesterol adicional a través de acetil-CoA, lo que asegura que la esteroidogénesis suprarrenal permanezca normal en pacientes con trastornos de lípidos variables y en aquellos tratados con agentes rebajadores de lípidos.

Sólo el colesterol libre se incorpora a rutas esteroideas después de transportarse a la membrana mitocondrial interna en respuesta a la *hormona adrenocorticotrópica* (ACTH). La disponibilidad del colesterol intracelular libre se regula desde el punto de vista metabólico por LDL de manera negativa y ACTH de manera positiva a través de varios mecanismos. La *hormona liberadora de corticotropina* (CRH) se secreta del hipotálamo por señales circadianas, cortisol sérico y estrés, lo que produce la liberación de la ACTH almacenada. A su vez, ésta estimula el transporte del colesterol libre dentro de la mitocondria suprarrenal, lo que da inicio a la producción esteroidea.

La conversión de colesterol a pregnenolona constituye el primer paso de contribución limitada en la biosíntesis esteroidea: seis carbonos se eliminan del colesterol por la enzima CYP450 de la membrana mitocondrial (fig. 18-2). Luego la pregnenolona recién sintetizada regresa al citosol para la conversión zonal subsiguiente por enzimas microsomáticas en cada capa por capas F de enzimas o andrógenos, o ambos, por la enzima en la capa R (fig. 18-3). Debido a que los glucocorticoides de la capa F suprimen de manera eficaz la liberación de la ACTH, el cortisol es el regulador primario de retroalimentación de la producción

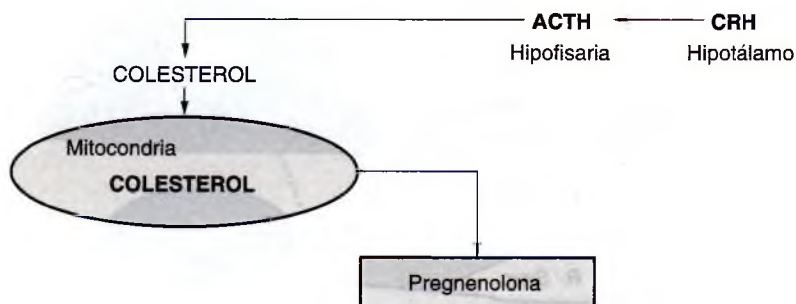


FIGURA 18-2. Conversión del colesterol a pregnenolona.

de la hormona estimulada por ACTH en la corteza suprarrenal. La ACTH no afecta en forma importante la síntesis de la *aldosterona* (*Aldo*) de la capa G, aunque ciertos glucocorticoides tienen acciones mineralocorticoides.

La disminución de la actividad de cualquier enzima requerida para la biosíntesis se presenta como un rasgo adquirido o heredado (autosómico recesivo). Los defectos que disminuyen la producción de cortisol causan incrementos en la secreción de ACTH y CRH en un intento por estimular las concentraciones de cortisol e inducir hiperplasia suprarrenal o sobreproducción de andrógenos, lo que depende de la enzima afectada.

La evaluación de la función suprarrenal requiere mediciones relevantes de hormonas suprarrenales, metabolitos y secretagogos reguladores. El diagnóstico se basa en la correlación de los hallazgos clínicos y de laboratorio.⁴

Hiperplasia suprarrenal congénita

La *hiperplasia suprarrenal congénita* (HSC) es una familia heredada de trastornos enzimáticos que causan disminución de la producción de cortisol. La presentación clínica depende de la enzima afectada, como se muestra en la figura 18-4. Los hallazgos de laboratorio revelan aumento de sustratos de flujo ascendente con sobrecirculación a través de rutas abiertas, y decremento relativo de productos de fluido descendente a partir de la enzima afectada.⁵ Los defectos parciales se observan después de la pubertad. El 95% son

resultado de una deficiencia de 21-hidroxilasa que causa acumulación de la progesterona 17-OH y del andrógeno, en tanto el cortisol disminuye. El tratamiento con glucocorticoides orales reemplaza a la deficiencia de cortisol y suprime el exceso del andrógeno estimulado por ACTH.⁶

Sólo las células G convierten el colesterol en pregnenolona, el precursor esteroide común, y después en aldosterona (15 a 20 mg/día) (fig. 18-3). La síntesis de la Aldo específica de la capa G ocurre por varias razones. La actividad baja de la 17 α -hidroxilasa de la célula G evita la desviación del sustrato por otras rutas, y la actividad baja de la Aldo sintasa en otras zonas asegura que la oxidación final de la corticosterona a aldosterona sea específica de células G (fig. 18-3).

La secreción de Aldo está regulada por el *sistema renina-angiotensina* (SRA), que funciona para mantener la perfusión del órgano. El agotamiento del volumen recibido, la sal filtrada baja y la estimulación del nervio simpático se detectan como hipoperfusión por las células que estimulan la producción de renina. Ésta es una enzima proteolítica secretada por las células renales en el aparato yuxtaglomerular. La renina da inicio a una secuencia de pasos de división del sustrato de angiotensinógeno o renina para formar angiotensina (A-I). La *enzima convertidora de angiotensina* (ECA) transforma la A-I en A-II. Esta última actúa como vasoconstrictor potente para elevar la presión sanguínea y estimular la liberación de Aldo. La estimulación crónica de A-II o la restricción dietética de sal llega a causar hipersecreción de Aldo e hipertrofia aislada de la capa G.⁷

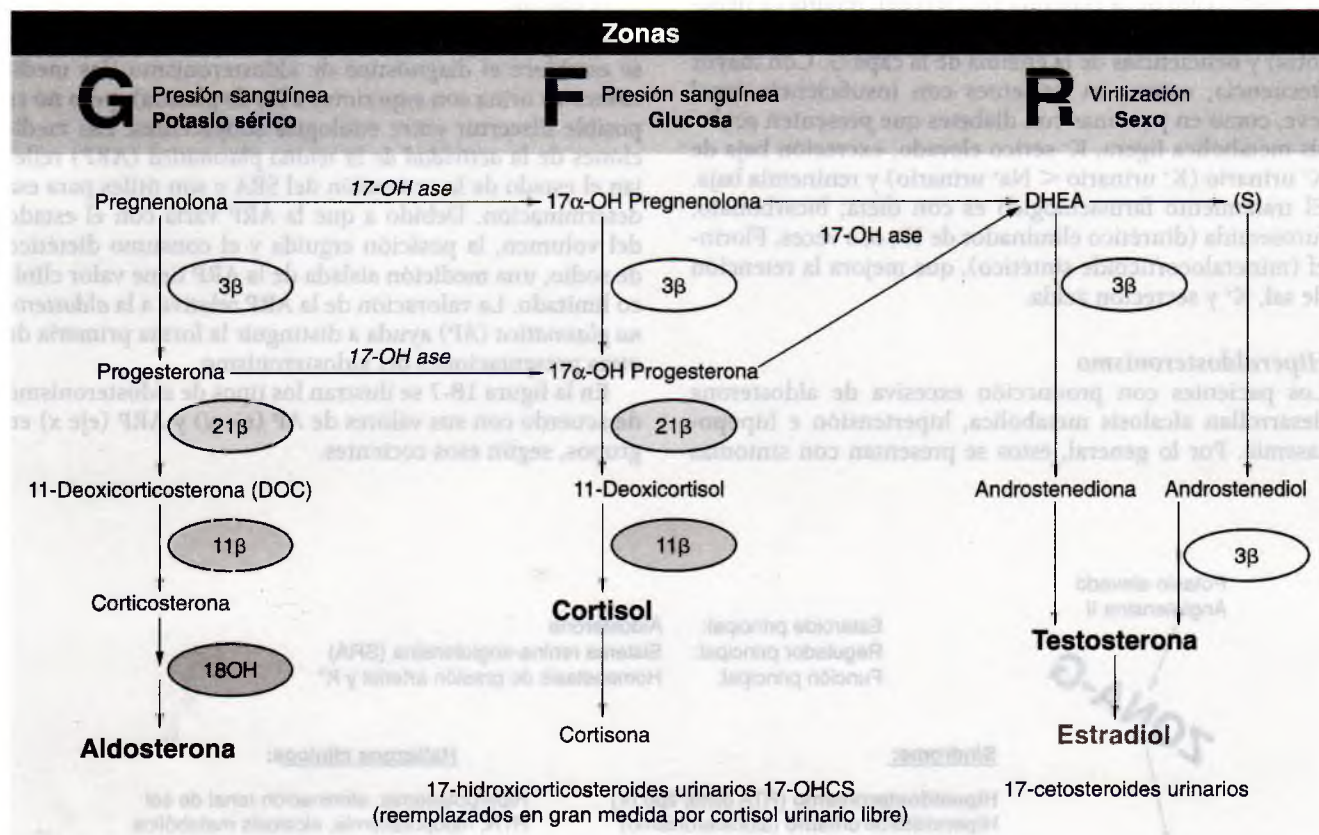


FIGURA 18-3. Conversión del colesterol a pregnenolona y aldosterona.

Defecto enzimático	Nueva clasificación	HTN	Virilización	Valor de laboratorio elevado
3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa	3b-HSD II	N	Leve	DHEA
17α-hidroxilasa	CYP17	Y	No	Aldosterona
11β-hidroxilasa	CYP11B1GF	Y	Marcada	11-DOC
21β-hidroxilasa	CYP21A2	N	Marcada	17-OH-progesterona

FIGURA 18-4. Síndromes de hiperplasia suprarrenal congénita.

La Aldo actúa en el riñón para aumentar la presión arterial a través de la extensión del volumen. Esto ocurre al aumentar la reabsorción de sodio; por tanto, hay retención de agua. Además, la Aldo estimula la excreción de H^+ y K^+ , lo que produce alcalosis metabólica con expansión del volumen, *hipertensión (HTN)* e hipopotasemia. El fenómeno se mejora con dietas altas en sodio.

La angiotensina II, el potasio sérico elevado (K^+), la progesterona y la dopamina estimulan la síntesis de la aldosterona (fig. 18-5). El PNA, el calcio intracelular y ciertos fármacos son supresores de la Aldo, incluyendo ketoconazol, inhibidores de la ECA, *antiinflamatorios no esteroideos (AINE)* y heparina.

Hipoaldosteronismo aislado

La secreción insuficiente de Aldo se observa en presencia de destrucción de la glándula suprarrenal, terapia de heparina crónica seguida de adrenalectomía unilateral (transitoria) y deficiencias de la enzima de la capa G. Con mayor frecuencia, ocurre en pacientes con insuficiencia renal leve, como en personas con diabetes que presenten acidosis metabólica ligera, K^+ sérico elevado, excreción baja de K^+ urinario (K^+ urinario $< Na^+$ urinario) y reninemia baja. El tratamiento farmacológico es con dieta; bicarbonato; furosemida (diurético eliminador de K^+ ; o, a veces, Florinef (mineralocorticoide sintético), que mejora la retención de sal, K^+ y secreción ácida.

Hiperaldosteronismo

Los pacientes con producción excesiva de aldosterona desarrollan alcalosis metabólica, hipertensión e hipopotasemia. Por lo general, éstos se presentan con síntomas

causados por K^+ sérico bajo, como se esboza en la figura 18-6.

Entre las causas de hipertensión e hipopotasemia no provocada se encuentran:

- Aldosteronismo primario (renina baja): secreción excesiva autónoma de Aldo.
- Aldosteronismo secundario (renina elevada): secreción de Aldo activada por el SRA.
- Seudoaldosteronismo (concentraciones variables de renina y Aldo): enfermedades tubulares renales que causan la pérdida de potasio urinario por mecanismos independientes de Aldo. En casi todos los casos, la Aldo es baja; sin embargo, dos síndromes se relacionan con niveles elevados de Aldo: el síndrome de Bartter (mutación del canal Cl^- sensible a la bumetanida) y el síndrome de Gitelman (mutación del transportador sensible a la tiacida).

Al documentar la excreción del exceso de aldosterona se establece el diagnóstico de aldosteronismo (las mediciones de orina son superiores a las de plasma), pero no es posible discernir entre etiologías subyacentes. Las mediciones de la *actividad de la renina plasmática (ARP)* reflejan el estado de la activación del SRA y son útiles para esa determinación. Debido a que la ARP varía con el estado del volumen, la posición erguida y el consumo dietético de sodio, una medición aislada de la ARP tiene valor clínico limitado. La valoración de la ARP relativa a la *aldosterona plasmática (AP)* ayuda a distinguir la forma primaria de otras presentaciones del aldosteronismo.

En la figura 18-7 se ilustran los tipos de aldosteronismo de acuerdo con sus valores de AP (eje y) y ARP (eje x) en grupos, según esos cocientes.

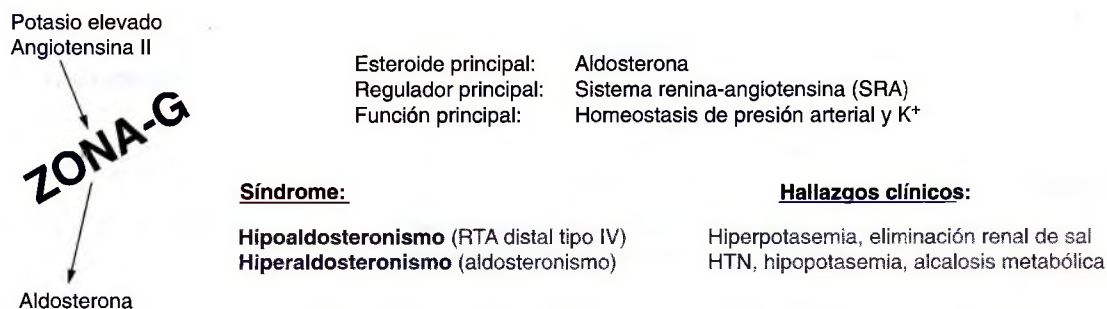


FIGURA 18-5. Función y patología de la corteza por capa.

- Fatiga frecuente
- Debilidad muscular (parálisis)
- Poliuria (pérdida de capacidad de concentración real y quistes renales)
- Palpitaciones (aumento de ectopia ventricular)
- Desregulación autonómica (hipotensión sin taquicardia refleja)
- Alteración de la secreción de insulina (disminución de la tolerancia a la glucosa)
- Supresión de aldosterona

FIGURA 18-6. Signos y síntomas de la hipopotasemia.

DIAGNÓSTICO DEL ALDOSTERONISMO PRIMARIO

Debido a que 25% de los pacientes con HTN tienen concentraciones bajas de renina, el diagnóstico de aldosteronismo primario depende de tres criterios⁸:

- Edema sin HTN.
- Renina plasmática baja que no aumenta con la disminución del volumen.
- Aldosterona elevada que no disminuye con la inhibición salina o de la angiotensina.

Algoritmo del diagnóstico

En pacientes con HTN e hipopotasemia no provocada, la medición de la excreción de K^+ urinario constituye una prueba de valoración rentable para el aldosteronismo. El K^+ urinario >30 meq/día es inadecuado en pacientes hipopotasémicos y sugiere en gran medida un estado hiperaldosteronémico (el K^+ urinario $> Na^+$ también es sugerente). El K^+ urinario <30 mEq/día refleja retención de K^+ renal, como se observa con el uso de diuréticos o la pérdida gastrointestinal previos.

La proporción de AP y AR en posición erguida medida en un paciente privado de líquidos (la deshidratación durante la noche aumenta la AR) es definitiva en la sepa-

ración primaria de otras causas de aldosteronismo, en particular cuando se repite después de la expansión del volumen (2 L de solución salina normal durante 4 h), que suprime de manera normal la aldosterona. Una proporción de AP:ARP >25 sugiere aldosteronismo primario. La mayoría de los médicos realizan tomografía por computadora (TC) suprarrenal u obtención de imágenes de resonancia magnética (IRM).

La supresión del captopril a menudo es confirmativa. En un lapso de tres horas de ingesta de 50 mg de captopril (1 mg/kg), la Aldo plasmática permanece elevada en la producción de aldosterona anormal (Aldo-ism) (proporción AP:ARP >25 ng/dl antes y después de la prueba), pero se suprime en pacientes con otras formas de HTN.

Los valores de 18-hidroxicorticosterona son útiles para definir las causas de la producción de aldosterona autónoma (no suprimible). Las concentraciones >100 ng/dl sugieren adenoma productor de Aldo (APA), en tanto que el hiperaldosteronismo idiopático (HAI) es más probable cuando las cifras son menores (<100 ng/dl). El diagnóstico correcto es crítico para el tratamiento adecuado. La cirugía resulta curativa para un adenoma de funcionamiento autónomo o hiperplasia unilateral; de lo contrario, se utiliza terapia de fármacos para antagonizar (p. ej., espironolactona o amilorida con tiacida para HAI) o inhibir las acciones de la Aldo (p. ej., cortisona para el hiperaldosteronismo que reacciona al glucocorticoide).

La obtención de imágenes suprarrenales (TC o IRM) se utiliza para visualizar la anatomía de la glándula suprarrenal. Es necesario que las anomalías estructurales se ajusten a los hallazgos funcionales para establecer un diagnóstico. La patología basada en estudios de imágenes tal vez resulte engañosa por sí sola. Los adenomas suprarrenales (no secretores) se encuentran de manera rutinaria en 10% de pacientes sanos. Los nódulos suprarrenales tal vez sean variantes estructurales normales o resultado de

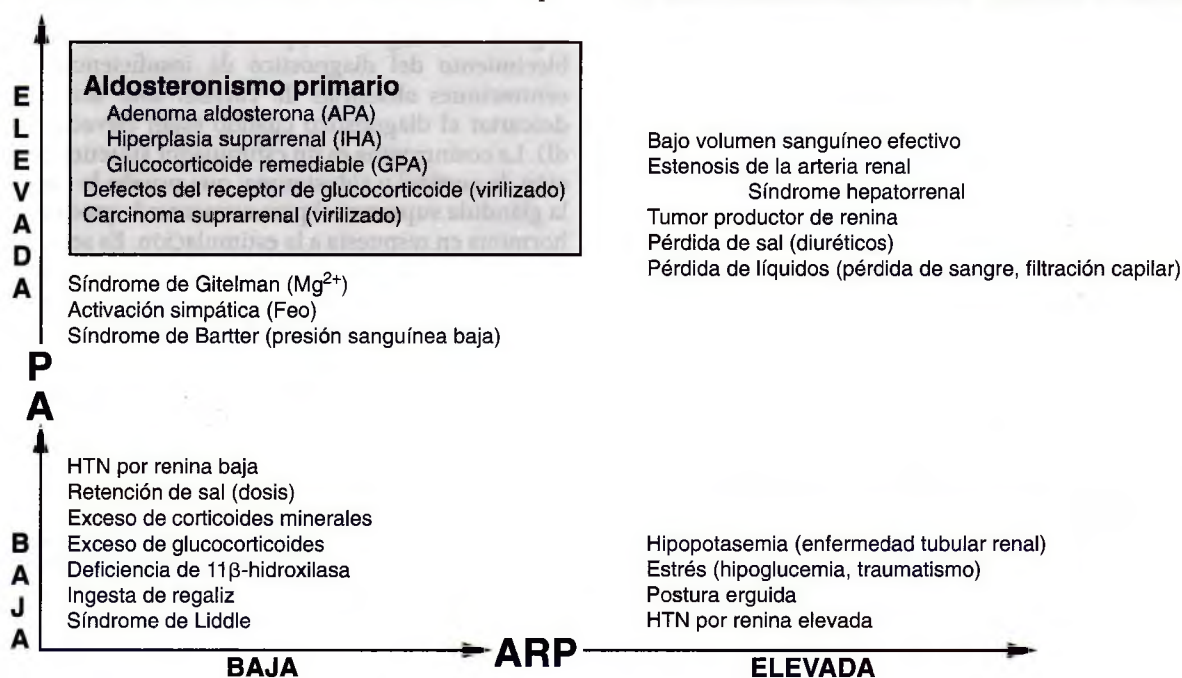


FIGURA 18-7. Tipos de aldosteronismo de acuerdo con la proporción AP:ARP.

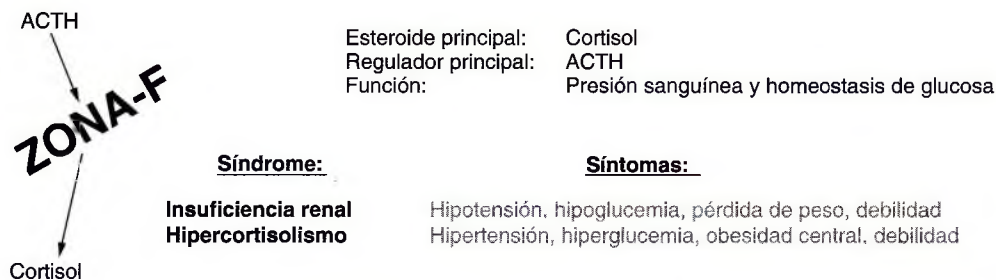


FIGURA 18-8. Trastornos de la zona F.

la estimulación anormal de la glándula. En ocasiones, los adenomas secretores de Aldo se pierden porque son demasiado pequeños para resolverse o se ocultan dentro de las glándulas hiperplásicas. Cuando las imágenes son negativas, es posible repetir la exploración en 6 a 12 meses.

La gammagrafía o muestreo de la vena suprarrenal se utiliza en resultados discordantes. En un estudio, 50% de pacientes diagnosticados con APA por muestreo venoso tenían hiperplasia en la TC.⁸

La síntesis del cortisol (15 a 20 mg/día) es crítica para la homeostasis hemodinámica y de glucosa. Los trastornos de la zona F se manifiestan con anomalías de la presión arterial y de la glucosa (fig. 18-8). Los glucocorticoides mantienen la glucosa sanguínea por inducción de lipólisis y liberación del aminoácido a partir de la degradación muscular para la conversión en glucosa (gluconeogénesis) y almacenamiento como glucógeno hepático.

La producción de cortisol está regulada por la *hormona adrenocorticotrófica (ACTH)*. Ésta se secreta de manera pulsátil por la hipófisis. Las variaciones diurnas hacen que las concentraciones de la ACTH y del cortisol sean más elevadas por la mañana (8:00 a.m.) y más bajas en la noche (10:00 p.m. a 12:00 a.m.). La amplitud de pulso (no la frecuencia) de la ACTH aumenta entre las 2:00 y 4:00 a.m. Los valores máximos adicionales de ACTH se presentan después de ingesta de comidas ricas en proteínas y de la estimulación de la *hormona antidiurética (ADH)*, así como de la CRH. La hipoglucemia estimula de manera indirecta la ACTH al aumentar la liberación de CRH y ADH. Además, el estrés agudo (físico y psicológico) estimula de manera directa la secreción de ACTH, lo que produce la elevación de los valores de cortisol. A su vez, la elevación de los glucocorticoides (endógenos y exógenos) suprime la ACTH a través de la inhibición de la respuesta, con lo que se disminuye la transcripción del gen de la proopiomelanocortina en células corticotropinas hipofisarias, y también al bloquear la producción, la secreción y los efectos estimulantes de la CRH en la síntesis y liberación de la ACTH en la hipófisis.

INSUFICIENCIA SUPRARRENAL (ENFERMEDAD DE ADDISON)

La insuficiencia suprarrenal (cortisol bajo) se origina por un problema suprarrenal primario (destrucción de 90% de la corteza suprarrenal) o es secundaria a la deficiencia de ACTH (anormalidad a nivel hipotalámico-hipofisis).⁹

Los síntomas de la deficiencia tal vez sean vagos y engañosos (fig. 18-9). Puesto que el cortisol es crítico para la

homeostasis normal de la glucosa y el mantenimiento del tono vascular, la deficiencia produce síntomas semejantes a falla para prosperar, como debilidad, fatiga, anorexia, náusea, diarrea y dolor abdominal, acompañados por hallazgos físicos, como pérdida de peso. Los valores anormales de laboratorio dependen de la causa subyacente de la producción baja de cortisol e incluyen hiponatremia, hiperpotasemia, hipercalcemia, azoemia prerrenal y acidosis metabólica leve.

La suprarrenalitis autoinmunitaria explica 70% de los casos de insuficiencia suprarrenal primaria. Sin embargo, otros trastornos también llegan a destruir la glándula suprarrenal. Dichos padecimientos incluyen enfermedades infecciosas como micosis (sin candida), virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y tuberculosis; hemorragia suprarrenal bilateral; adrenoleucodistrofia; procesos de infiltración; y metástasis. La terapia con glucocorticoides representa la causa más frecuente de insuficiencia suprarrenal secundaria. No obstante, los tumores, la hemorragia, los procesos de infiltración, las anomalías y las malignidades del desarrollo también interfieren con la producción de la ACTH por la hipófisis.

Diagnóstico de insuficiencia suprarrenal

Los valores bajos de vaselina (8:00 a.m., en posición supina) son sugerentes, pero no confiables, para el establecimiento del diagnóstico de insuficiencia. Las concentraciones aleatorias de cortisol sólo son útiles para descartar el diagnóstico cuando están elevadas ($>20 \mu\text{g/dl}$). La cosintropina es un estimulador sintético de la secreción de cortisol y aldosterona, que prueba la capacidad de la glándula suprarrenal para aumentar la producción de la hormona en respuesta a la estimulación. Es segura y ofrece resultados confiables sin importar la ingesta alimenticia ni la hora del día. Además, la hipoglucemia es un potente estimulador de la secreción de cortisol pero tal vez resulte

Frecuencia	Síntomas	Signos
100%	Debilidad Fatiga Anorexia	Pérdida de peso
90%		Hiperpigmentación (insuficiencia suprarrenal primaria)
50%	Náusea Diarrea	
10%	Dolor	Calcificación suprarrenal

FIGURA 18-9. Signos y síntomas de insuficiencia suprarrenal.

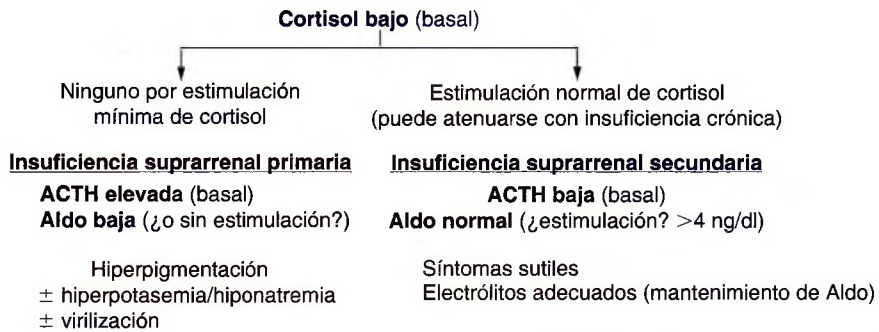


FIGURA 18-10. Diagnóstico diferencial de estados de cortisol bajo.

peligrosa. Un valor de cortisol libre estimulado $<18 \mu\text{g/dl}$ indica deterioro de la función suprarrenal.

Después de la obtención de una muestra sanguínea para establecer los valores de cortisol basal de la ACTH y aldosterona, se obtiene la cosintropina (IV/IM). Las muestras de repetición se obtienen a los 30 y 60 min después de la estimulación. Como se ilustra en la figura 18-10, las respuestas de la ACTH y aldosterona a la cosintropina son útiles en el diagnóstico diferencial de los estados bajos de cortisol. Aunque son adecuadas en la identificación de la insuficiencia suprarrenal primaria, la mayor parte de las causas de insuficiencia secundaria crónica (central) están relacionadas con respuesta anormal del cortisol a la estimulación por cosintropina.

La metirapona se utiliza como prueba alternativa de diagnóstico o confirmación de insuficiencia suprarrenal. En glándulas suprarrenales normales, la metirapona bloquea la 11β -hidroxilasa (fig. 18-3), lo que aumenta el 11 -deoxicortisol (11 -DOC) ($>7 \mu\text{g/dl}$) en tanto descende el cortisol ($<5 \mu\text{g/dl}$). Se sugiere insuficiencia suprarrenal secundaria en pacientes con respuesta casi normal a una prueba con $250 \mu\text{g}$ de cosintropina, pero con respuesta anormal a la metirapona. En pacientes con sospecha de insuficiencia suprarrenal central, se debe realizar valoración con cuando menos una tomografía cefálica en busca de enfermedad hipofisaria, a menos que exista un antecedente de uso crónico de glucocorticoide exógeno.

A menudo es posible distinguir la causa de la destrucción de la glándula suprarrenal primaria por titulaciones de anticuerpo o aspecto distintivo con estudio de imágenes, o por amabas. Se sugiere enfermedad autoinmunitaria por hallazgos como glándulas pequeñas; infección, con glándulas suprarrenales grandes; y hemorragia, según se demuestre por agrandamiento con intensidad característica.

Tratamiento con insuficiencia suprarrenal

En la insuficiencia suprarrenal primaria, se reemplazan los esteroides sintéticos de cada capa de la corteza: Aldo G (Florinef, 50 - $100 \mu\text{g/día}$); cortisol F (hidrocortisona, 20 - 25 mg/día ; o prednisona, 5 mg/día); y R-DHEA (50 - 100 mg/día [controversial]). En la insuficiencia secundaria, la esteroidogénesis de las capas no reguladoras de ACTH permanece intacta, de modo que sólo se reemplaza el cortisol. La mayoría de los médicos duplican la dosis de glucocorticoides durante estrés leve y proporcionan 300 mg/día de hidrocortisona en dosis divididas en caso de estrés importante.

HIPERCORTISOLISMO

La liberación no regulada de CRH, ACTH, secreción suprarrenal de glucocorticoides e ingesta exógena causan hipercortisolismo. El exceso de cortisol afecta los sistemas multiorgánicos, entre los que se encuentran el inmunitario (supresión, curación deficiente), dermatológico (tejido friable y delgado, estrias moradas anchas), vascular (fragilidad de vasos, equimosis), adiposo (incremento de grasa con redistribución a ubicaciones de la parte superior de la espalda y centrales), muscular (atrofia, debilidad muscular proximal, cardiopatía), neurológico (neuropatía periférica, desregulación autónoma), óseo (pérdida), renal (edema, HTN, calciuria) y metabólico (hiperglucemia y resistencia a la insulina). El cortisol también afecta el SNC, donde influye en la percepción del dolor y en la sensación de bienestar. La presentación clínica del hipercortisolismo es variable, sin ninguna característica en común en todos los casos.

Los trastornos múltiples están relacionados con cifras elevadas de cortisol, con diferentes morbilidades secundarias y opciones de tratamiento, como se esbozó en la figura 18-11. La determinación de la causa del hipercortisolismo tal vez resulte difícil, puesto que los valores de laboratorio y los hallazgos clínicos a menudo se traslapan entre los síndromes.

SÍNDROME DE CUSHING

El síndrome de Cushing describe el complejo de síntomas (fig. 18-11) que se originan por la producción excesiva de glucocorticoides o el uso exógeno prolongado de esteroides. Se le observa con mayor frecuencia en presencia de tres afecciones: adenoma hipofisario secretor de ACTH (68%); producción autónoma de cortisol de tumores o nódulos suprarrenales (17%, la ACTH se suprime); y producción ectópica excesiva de ACTH (15%, por lo general maligna).^{10,11}

Los pacientes con síndrome de Cushing comparten importantes similitudes con aquellos que padecen diabetes tipo 1 (resistente a la insulina). Se observa un incremento de cuatro veces en la mortalidad, incluso después de terapia exitosa, sobre todo como resultado de enfermedad cardiovascular (ECV). Debido a que los receptores mineralocorticoides responden de igual manera que los glucocorticoides, el exceso de cortisol tal vez promueva HTN en relación con hipertrofia ventricular izquierda. Además, se observan anomalías en el electrocardiograma (ECG) y pérdida del descenso nocturno normal en la presión arterial. La enfermedad no tratada tiene un 50% de mortalidad a los cinco años.

Estrés

Infección

Obesidad grave (visceral)

Síndrome ovárico poliquístico (hasta 40% con cortisol urinario ligeramente elevado)

Alcoholismo crónico (el cortisol se normaliza con abstinencia)

Depresión (hasta 80% con valores anormales de cortisol, que desaparece con la remisión)

Cushing yatrogénico (<1% uso inhalado, tópico u oral de glucocorticoides)

Síndrome de Cushing**Síntomas del síndrome de Cushing**

HTN	(85 a 90%)
Obesidad central	(90%)
Intolerancia a la glucosa	(80%)
Caras pletóricas	(80%)
Estrías moradas	(65%)
Hirsutismo	(65%)
Períodos menstruales anormales	(60%)
Debilidad muscular	(60%)

FIGURA 18-11. Trastornos relacionados con hipercortisolismo.

El síndrome de Cushing yatrogénico es raro (<1%) pero tal vez sea difícil de discernir de trastornos reales. Todos los glucocorticoides, que incluyen los sintéticos, inhalados, y tópicos, llegan a inhibir la secreción de ACTH. Por tanto, la ACTH plasmática, el cortisol sérico y la excreción de cortisol tal vez sean bajos (a menos que se utilicen cortisol o cortisona). En contraste, la contaminación de la orina con hidrocortisona tópica (uso vulvovaginal o perineal) quizá eleve de manera falsa los valores de cortisol urinario. Los valores urinarios relativamente mayores que los de cortisol y cortisona séricos sugieren adición de hidrocortisona en la orina. En caso de sospecha, es posible detectar los glucocorticoides sintéticos de manera cromatográfica.

Diagnóstico del síndrome de Cushing

Los síntomas clínicos son corroborados por hallazgos de laboratorio de exceso de cortisol, pérdida de ritmo diurno, y resistencia a la supresión (una vez que se excluye administración exógena de glucocorticoides debido a que no se establece el algoritmo de diagnóstico universal para síndrome de Cushing): *a*) la ACTH y el cortisol se secretan en erupciones y tal vez ocurra secreción excesiva de manera episódica; *b*) cada paciente cuenta con metabolismo, metabolitos e índices de depuración metabólica únicos; *c*) los umbrales de estimulación y supresión varían a menudo (las lesiones no suprimibles en ocasiones se suprimen, y los pacientes normales exhiben resistencia a la supresión); y *d*) los problemas de seguimiento y precisión con respecto a la recolección y el procesamiento de la muestra son frecuentes. A continuación se mencionan las pruebas de valoración estándar para diagnosticar síndrome de Cushing.¹²

Documentar exceso de cortisol

Cortisol libre urinario (o metabolitos, o ambos) (fig. 18-3). El cortisol de la orina constituye un indicador sensible de cortisolismo endógeno. Cuando el cortisol del suero excede la capacidad de unión proteica de su transportador, las

concentraciones de cortisol libre se elevan con rapidez, lo que aumenta el cortisol libre filtrado en la orina. Este valor tal vez sea erróneo con un volumen urinario elevado (>3 L) porque los pacientes que beben más de 5 L/día tendrán un aumento de 64% en el cortisol de la orina. En cambio, la excreción de 17-hidroxycorticosteroide (17-OHCS) ocurre a un ritmo constante y no se ve afectada por los cambios de volumen.

El cortisol libre urinario a las 24 h constituye la prueba de valoración más sensible (95 a 100%) y específica (98%) de producción excesiva de cortisol. Al parecer un método revisado, en el que se recolectan muestras de orina durante la noche (10:00 p.m. a 8:00 p.m.) para factorizar el cortisol por creatinina urinaria, es igual de válido (especificidad y sensibilidad de 97 a 100%). En un estudio grande, 21 a 47% de los pacientes con síndrome de Cushing tenía cuando menos una valoración normal de cortisol urinario de 24 h. Por tanto, a los pacientes con valores intermedios se les volverá a evaluar de 2 a 3 meses después.¹²

Los **valores aleatorios de cortisol plasmático** resultan de poca utilidad para el diagnóstico del síndrome de Cushing. En personas normales, los valores varían en gran medida durante el día, y se traslapan con las cifras encontradas en pacientes con síndrome de Cushing.

Las **concentraciones basales de cortisol por la mañana** no tienen ningún valor para el diagnóstico, a menos que se encuentren de manera evidente por arriba del rango normal.

Determinar si se pierde el ritmo diurno (los valores en una etapa avanzada de la noche permanecen elevados)

El cortisol plasmático es mayor entre las 6:00 y 8:00 a.m. y 50 a 80% más bajo entre las 10:00 p.m. y 12:00 a.m. La medición del cortisol en una etapa avanzada de la noche se justifica por el hecho de que su nadir normal vespertino se pierde en el síndrome de Cushing y en la hiperplasia nodular bilateral, pero se preserva en pacientes obesos y deprimidos.

En condiciones ideales, se obtiene una muestra de sangre (para valorar cortisol y ACTH) entre las 11:00 p.m. y las 12:00

a.m. Las muestras se estabilizan, se almacenan y se envían al laboratorio si el cortisol urinario previamente determinado es elevado. Los valores de cortisol salival y sanguíneo en una etapa avanzada de la tarde tal vez sean más confiables que el cortisol urinario para el diagnóstico de Cushing.

En dos estudios, una sola concentración de cortisol sérico a la medianoche ($>7.5 \mu\text{g/dl}$) mostró sensibilidad de 90 a 96% y especificidad de 100% para síndrome de Cushing.¹²

En otro estudio de pacientes con Cushing (30 normales y 18 obesos), un solo valor de cortisol salival a las 11:00 p.m., cuando se combinó con la concentración del cortisol salival a las 8:00 a.m. después de una prueba nocturna de supresión de dexametasona de 1 mg, tuvo sensibilidad y especificidad de 100%.¹²

El cortisol de la saliva es estable a temperatura ambiente durante varios días y la recolección no es invasora, es posible realizarla en casa y tiene mayor especificidad (100%). Sin embargo, es menos sensible (92%) que los valores séricos y urinarios en la detección de síndrome de Cushing. A medianoche (12:00 a.m.), los valores $<1.3 \text{ ng/ml}$ por radioinmunoensayo (RIE) o $>1.5 \text{ ng/ml}$ por examen competitivo de unión proteica ayudan a excluir el diagnóstico. Las mediciones de saliva son útiles en los pacientes con sospecha de Cushing intermitente que tienen la necesidad de recolectar varias muestras por períodos extensos.

Determinar la pérdida de la supresión normal de cortisol por dexametasona

La dexametasona actúa como sustituto exógeno del cortisol, que suprime la ACTH cuando la glándula hipofisaria es normal y la secreción de cortisol cuando la glándula suprarrenal es normal.

A menudo se utiliza una prueba nocturna de supresión por dexametasona para estudiar a pacientes con sobreproducción autónoma de cortisol. La dexametasona (1 mg) administrada cerca de las 11:00 p.m. actúa para suprimir la elevación matutina temprana de cortisol estimulada por la ACTH. Al cortisol libre suprimido $<3.6 \mu\text{g/dl}$ medido entre las 8:00 y 9:00 a.m. se le considera una prueba negativa. Aunque al parecer la ingestión repetida de dexametasona reduce al máximo las diferencias individuales en la depuración del fármaco, la prueba de supresión a dosis baja (1 mg) tuvo una precisión de 95% y confiabilidad

equivalente a la supresión estándar por dexametasona a dosis baja durante dos días (0.5 mg cada 6 h \times 2 días, con cortisol libre urinario normal $<10 \mu\text{g}$ en el día 2) por análisis retrospectivo de 426 pacientes con Cushing.

Si bien el valor indicador para una prueba negativa es cercano a 100%, los resultados falsos positivos son frecuentes (hasta un 15%). Las causas de esto abarcan errores en la prueba, otros estados resistentes a la supresión del cortisol (p. ej., estrés físico, anorexia nerviosa, alcoholismo, depresión, enfermedad aguda, obesidad e insuficiencia renal) y alteración del metabolismo del fármaco y de las interacciones del mismo (p. ej., dilantina, barbitúricos, carbamacepina y rifampina).

Excepto en casos raros, una prueba de supresión por dexametasona normal (nocturna o durante dos días) casi excluye la posibilidad de síndrome de Cushing. Aunque no se requiere para el diagnóstico, los cambios medidos en el cortisol de la saliva (normal, $<2 \text{ ng/ml}$) y la ACTH después de la supresión por dexametasona tal vez resulten complementarios.¹³

Al igual que en la insuficiencia suprarrenal, los valores de la ACTH, tanto basales como posteriores a la supresión por dexametasona baja (1 mg) o elevada (8 mg), quizá ayuden a determinar una etiología subyacente en los estados de exceso de cortisol. En un estudio se demostró que la dosis elevada de dexametasona tuvo una especificidad de sólo 57% para distinguir una fuente ectópica de un origen hipofisario de la hipersecreción de ACTH (fig. 18-12).¹²

Cuando se confirma Cushing, las pruebas de estimulación de la CRH ayudan a determinar la dependencia de la ACTH (por lo general innecesaria)

La estimulación de la CRH es una prueba más reciente y útil para distinguir los tipos de Cushing (enfermedad central contra síndrome suprarrenal primario). Se obtiene un valor de ACTH y cortisol sérico a las 8:00 a.m. después de la inyección de CRH. En el síndrome de Cushing independiente de la ACTH, el cortisol es elevado ($>25 \mu\text{g/dl}$), en tanto la ACTH está suprimida ($<10 \text{ pg/ml}$), lo que demuestra que la producción de ACTH no está controlando a la producción excesiva de cortisol. En este caso, se busca una etiología suprarrenal para el exceso de cortisol.

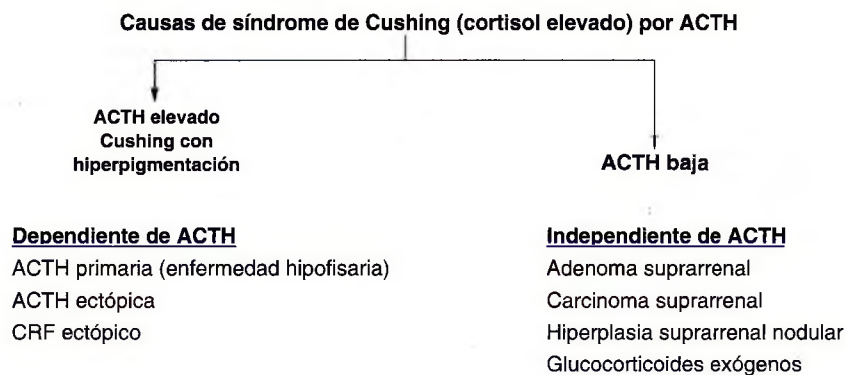


FIGURA 18-12. Diferenciación del origen de la secreción de ACTH.

En Cushing dependiente de la ACTH, tanto el cortisol ($>25 \mu\text{g/dl}$) como la ACTH ($>10 \text{ pg/ml}$) están elevados. La ACTH autónoma es de origen hipofisario o ectópico.

Para determinar si el exceso de ACTH se origina por una fuente hipofisaria o ectópica, se realiza muestreo bilateral inferior petrosal (BIPSS, por sus siglas en inglés) estimulante de la CRH y muestreo venoso periférico. Los resultados se expresan como una proporción. Una proporción entre la ACTH del seno petrosal y la ACTH venosa periférica >3 es diagnóstica de enfermedad hipofisaria. Una proporción <2.5 sugiere un origen ectópico (no hipofisario) de producción de ACTH. Los índices de remisión para el microadenoma hipofisario son de alrededor de 85%; para adenomas invasivos, $<50\%$ cuando se resecan. Con tratamiento adicional (radiación hipofisaria con rayos X), los índices de remisión de adenomas invasivos tal vez alcancen de manera gradual el 85%.

Para la producción ectópica de ACTH, se lleva a cabo determinación del neoplasma. Se intenta la localización y extirpación quirúrgica de las lesiones producidas por la ACTH autónoma. Otras opciones de tratamiento incluyen adrenalectomía e inhibidores enzimáticos suprarrenales.

Procedimientos de localización

- Cushing suprarrenal
 - La TC suprarrenal distingue tumor contra hiperplasia (DHEA normal de la capa R con adenomas suprarrenales de capa F).
 - La imagen suprarrenal de IRM ponderada con T2 ayuda a distinguir el carcinoma. El cáncer a menudo

afecta otras capas suprarrenales con DHEA de capa R elevada en carcinoma; los marcadores inmunohistoquímicos, p53 y MIB-1 también son positivos en carcinomas.

- Cushing hipofisario
 - IRM hipofisaria (detecta el 85% de microadenomas).
- Cushing ectópico
 - TC del pecho (p. ej., adenoma bronquial de la ACTH, carcinoma medular de la tiroides y carcinoma celular escamoso [CCE]).

Algoritmo para la determinación de Cushing

Día 1:

8:00 a.m.: vaciar por completo la vejiga y comenzar la recolección de orina basal.

11:00 p.m.: recolectar la muestra de saliva para obtener el valor del cortisol; ingerir dexametasona (1 mg); vaciar la vejiga; terminar la recolección de la orina basal.

Determinaciones extendidas opcionales: comenzar la recolección nocturna de orina con supresión de dexametasona.

Día 2:

8:00 a.m.: vejiga vacía (postsupresión completa de cortisol urinario); sangre venosa o saliva para determinar cortisol; ACTH; dexametasona (cumplimiento); mantener las muestras hasta necesitarlas.

Véase la interpretación del diagrama de flujo de la determinación de Cushing (fig. 18-13).

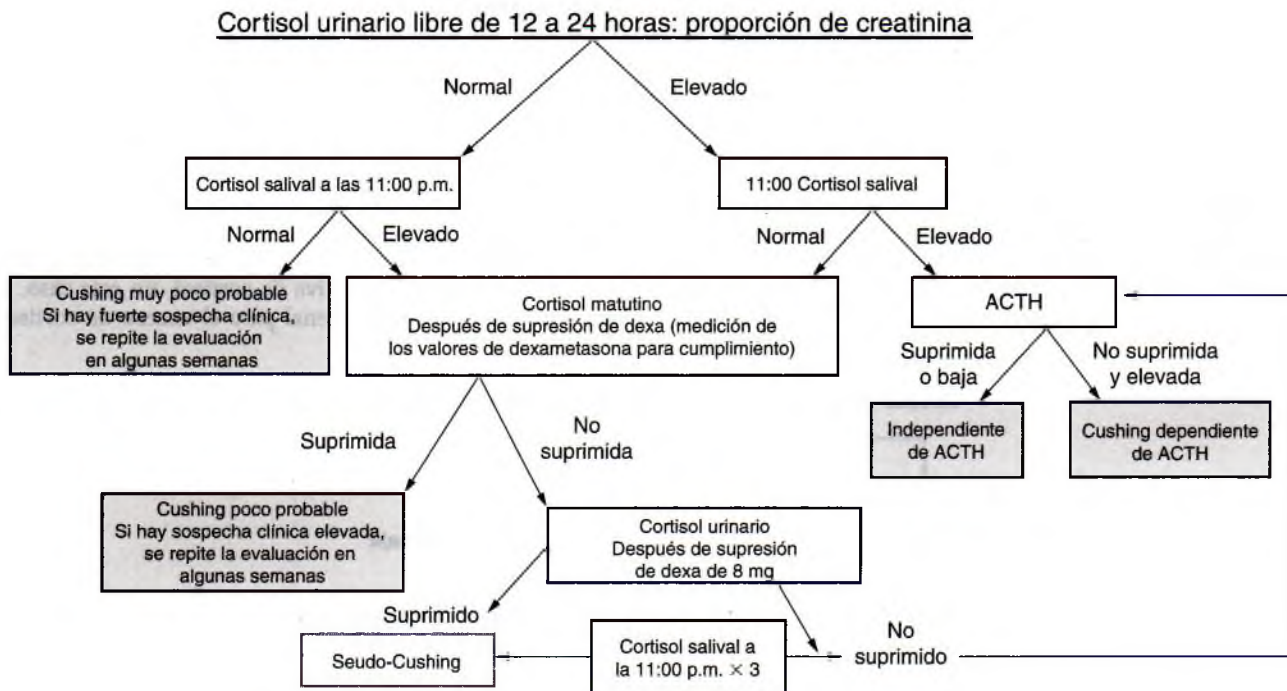


FIGURA 18-13. Determinación del síndrome de Cushing. Nótese que los valores séricos de la dexametasona (para la prueba estándar = 2 ng/ml; prueba de supresión = 6.5 ng/ml) se obtienen a las 8:00 a.m. (o seis horas después de la última dosis) para ayudar a aclarar o determinar el cumplimiento. Los valores salivales normales de dexametasona no se determinan.

Tratamiento

Las opciones para Cushing primario (sobreproducción de cortisol suprarrenal) y secundario (sobreproducción de ACTH hipofisaria o ectópica) son similares: cirugía, radiación o medicamentos, o una combinación de los anteriores, para suprimir la producción o acciones del cortisol suprarrenal. Las estrategias del tratamiento varían de acuerdo con las situaciones clínicas.

El reemplazo de por vida de glucocorticoides y mineralocorticoides (Florinef) es necesario en pacientes con adrenalectomía bilateral. Se debe evaluar de manera rutinaria a cualquier paciente sometido a adrenalectomía bilateral como resultado de un tumor hipofisario productor de ACTH y vigilar de manera estrecha la aparición de síntomas de aumento de la lesión masiva de la hipofisaria (síndrome de Nelson). Por último, es posible que el Cushing recurra en restos suprarrenales; por tanto, la valoración periódica de por vida en busca de sobreproducción suprarrenal está indicada en estos pacientes.

Los andrógenos se producen como subproductos de la síntesis del cortisol que se regulan por la ACTH. Aunque la prolactina, los péptidos proopiomelanocortinos y los linfocitos T son estimuladores conocidos de los andrógenos, los mecanismos reguladores de la biosíntesis de la zona R aún son imprecisos (fig. 18-14). Las células R producen de manera primordial DHEA y varios esteroides de carbono 19 (andrógenos y estrógenos) a partir de pregnenolona 17 α -hidroxilada y progesterona. La DHEA se sulfata a DHEAS por la sulfotransferasa, una enzima suprarrenal, y se secreta diario (fig. 18-1).

Tanto la DHEA como la DHEAS son precursores de andrógenos (p. ej., androstenediona, testosterona y 5-dehidrotestosterona [5-DHT]) y estrógenos (p. ej., estradiol y estrona). Aunque la DHEA y DHEAS tienen actividad androgénica mínima, los efectos nocivos se originan por conversión a andrógenos activos en las glándulas suprarrenales y el tejido periférico, como folículos del cabello, glándulas sebáceas, genitales y tejido adiposo y de la próstata. Aunque en hombres menos de 5% de su testosterona proviene de fuentes suprarrenales o periféricas, las mujeres dependen de las glándulas suprarrenales para 40 a 65% de su producción diaria de testosterona.¹⁴

Aunque los datos observados demuestran aumentos de la producción androgénica suprarrenal en ambos géneros al final de la niñez y se correlacionan con la aparición del vello púbico (adrenarquía), alcanza su cifra máxima en adultos jóvenes y declina de manera gradual con la edad.

?

ZONA-R

DHEA(S)

Esteroides principales: DHEA y DHEAS (precursor de andrógeno)
Regulador principal: desconocido

Síndrome:

Exceso de andrógeno

Síntomas:

Virilización en mujeres y niños
Disfunción gonadal e infertilidad en hombres y mujeres

EXCESO DE ANDRÓGENO

El exceso de andrógeno produce órganos genitales ambiguos en lactantes y pubertad precoz en niños de ambos sexos. Los andrógenos estimulan el desarrollo orgánico, el crecimiento lineal y la fusión epifisaria. La virilización en jóvenes incluye aumento del pene, crecimiento del cabello dependiente de andrógeno y otras características sexuales secundarias. Las niñas desarrollan hirsutismo, acné y clitorimegalia. La sobreproducción prematura tal vez cause estatura pequeña y originar fusión epifisaria temprana.

En mujeres, la sobreproducción androgénica llega a producir infertilidad, con efectos de masculinización (p. ej., hirsutismo, acné, calvicie de patrón masculino, irregularidades menstruales y virilidad).

En hombres, el exceso de andrógenos suprarrenales llega a producir infertilidad con efectos de feminización por inhibición de gonadotropinas hipofisarias, que reducen con eficacia la producción de testosterona testicular. A pesar del exceso de andrógeno total, los varones experimentan síntomas hipogonadales, como pérdida de la masa muscular, disminución del crecimiento del cabello, reducción del tamaño de los testículos, producción de testosterona testicular y espermatogenesis, similar al hiperandrogenismo.

Diagnóstico de la producción excesiva de andrógeno

Menos de 10% de la DHEA se produce por las gónadas. Por tanto, la producción alta de DHEA sugiere en gran medida hiperandrogenismo suprarrenal, en tanto se observan valores de testosterona elevados en presencia de hiperandrogenismo suprarrenal o gonadal.

En algunos casos, la DHEA plasmática o 17-cetosteroides sirve para identificar a pacientes con causas suprarrenales de masculinización (mujeres) y feminización (hombres) patológicas.

Tratamiento para la sobreproducción androgénica suprarrenal

Del mismo modo que los trastornos de sobreproducción ya descritos, la diferenciación entre la secreción dependiente de la ACTH e independiente de la misma se determina a través de pruebas de supresión por dexametasona, y luego se realizan estudios de proyección de imágenes (TC, IRM). Los adenomas y carcinomas se extirpan por medios quirúrgicos. Las causas supresibles de glucocorticoides se tratan según corresponda. Se interrumpen los contribuidores exógenos y se tratan otros trastornos no suprarrenales. En ocasiones se

FIGURA 18-14. Biosíntesis de la zona R. Las manifestaciones del hiperandrogenismo suprarrenal varían con la edad, el comienzo y el género.

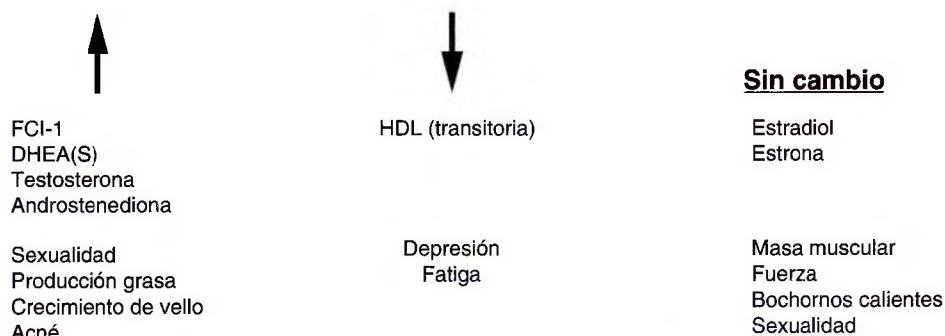


FIGURA 18-15. Efectos de los suplementos de DHEA.

utilizan fármacos con propiedades antiandrogénicas (p. ej., minoxidil, espironolactona, píldoras de control natal).

La DHEA exógena es un suplemento alimenticio popular con varias propiedades importantes (sólo algunas estudiadas), como las de vasodilatador, antiinflamatorio, antienvjecimiento y antiaterosclerosis.

Aún se desconoce la importancia clínica de las interacciones de la DHEA(S) con los receptores no suprarrenales/estrógenos. La DHEA (30 a 50 mg/día) se secreta como el principal componente de los andrógenos suprarrenales. No existe evidencia de que esta molécula se requiera para mantener un estado saludable o que contribuya a enfermedad. Todavía no se identifica ningún receptor esteroide para la DHEA. Las acciones de la DHEA se atribuyen a sus productos de flujo descendente: la testosterona y el estrógeno.

En pacientes normales y afectados (p. ej., personas con insuficiencia suprarrenal, terapia con glucocorticoides, depresión o edad avanzada y atletas entrenados), es posible que la DHEA aumente la sensación de bienestar e incrementa o bien disminuya varios de los marcadores séricos (fig. 18-15), aunque los cambios son pequeños. En algunos pacientes con deficiencia de andrógeno (p. ej., insuficiencia suprarrenal, deficiencia de ACTH y terapia con glucocorticoides), los suplementos (50-100 mg/día) tal vez contribuyan a aminorar los efectos nocivos de la deficiencia e inhiban la pérdida ósea inducida por glucocorticoides. Sin embargo, la DHEA podría causar efectos androgénicos adversos en mujeres, además de que aún se desconocen las consecuencias a largo plazo de los suplementos.

MÉDULA SUPRARRENAL

La médula suprarrenal forma parte del sistema de captación y descarboxilación del precursor de la amina. Como respuesta a la estimulación, la médula secreta catecolaminas en la circulación en lugar de transmitir mensajes a través de los axones eferentes. Funciona como un ganglio simpático atípico. Los productos medulares de la catecolamina sirven como primera respuesta al estrés al actuar en segundos (el cortisol requiere 20 min) para promover la respuesta de pelea o huida, que aumenta el rendimiento cardíaco y la presión sanguínea, desvía la sangre hacia el músculo y el cerebro, y moviliza combustible almacenado.

Desarrollo

Las células simpáticas provienen de células del tallo superior neural primordial (simpatogonia), que emigran fuera

del SNC a un espacio que se encuentra detrás de la aorta, donde se diferencian en simpatoblastos (células ganglionares simpáticas) o feocromoblastos (células cromafines medulares). Los tumores que se originan por cualquiera de estas líneas celulares comparten propiedades histológicas y bioquímicas similares. Los neuroblastomas malignos y los ganglioneuromas benignos surgen de los simpatoblastos, secretan ácido homovanílico (AHV) y rara vez se observan después de la adolescencia. En cambio, los tumores de las células cromafines (*feocromocitomas [Feo]*) mantienen la capacidad para sintetizar y almacenar catecolaminas (*noradrenalina [NA]* y *adrenalina [A]*) durante toda la vida.¹⁵

Biosíntesis y almacenamiento de las catecolaminas

La biosíntesis de la NA y A comienza con la conversión secuencial de los sustratos de la fenilalanina de una manera fragmentada y regulada de manera estrecha. Todas las reacciones ocurren en el citoplasma, a excepción de la producción de NA, que tiene lugar dentro de las vesículas lipídicas o membranas mitocondriales externas, como se ilustra en la figura 18-16.

En neuronas simpáticas, la dopamina citoplásmica se aísla dentro de las vesículas, se convierte en NA y se almacena hasta que la estimulación del nervio causa su liberación.

En células cromafinas medulares, la NA se difunde de manera pasiva en el citosol. En este último, la NA se convierte en A a través de una enzima dependiente del cortisol denominada FNMT. Cualquier forma de estrés que aumente las concentraciones de colesterol estimula la producción de A. La A citosólica libre (como la dopamina) se transporta de manera activa dentro de vesículas secretorias por *transportadores monoaminovesiculares (VMAT)* en feocromocitos. En condiciones normales, la proporción entre NA y A en suero es de 9:1 (98% de neuronas posganglionares, 2% de la médula). En presencia de insuficiencia suprarrenal (cortisol bajo), esta proporción se eleva a 45:1 en mujeres y 24:1 en hombres.

Degradación de las catecolaminas

Todas las catecolaminas se eliminan con rapidez de las células blanco y de la circulación mediante tres mecanismos:

1. Recaptación dentro de las vesículas secretorias.
2. Captación en células no neurales (hepáticas en su mayor parte).
3. Degradación.

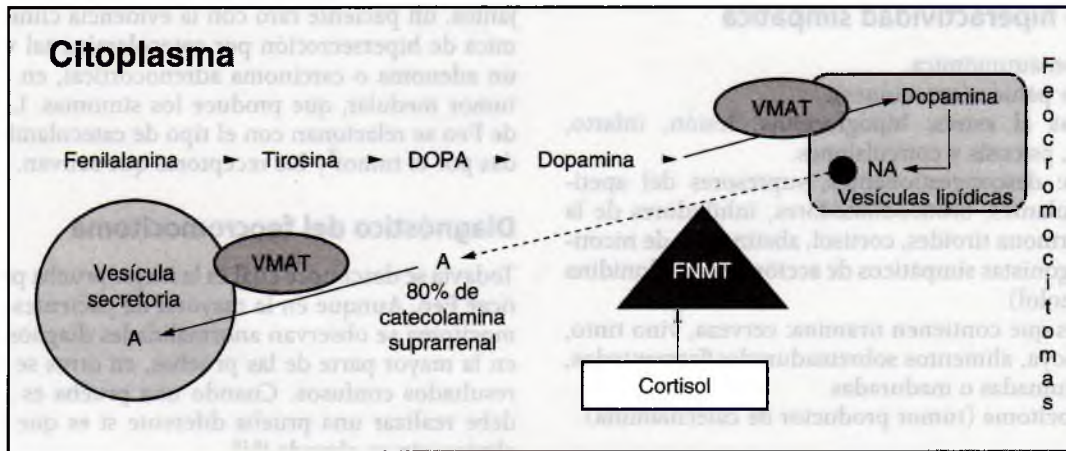


FIGURA 18-16. Biosíntesis y almacenamiento de catecolaminas.

La degradación depende de dos enzimas, la *catecol metiltransferasa* (COMT) (en tejidos no neuronal) y la *monoaminooxidasa* (MAO) (dentro de las neuronas), para producir metabolitos (metanefrinas y MAV) de las catecolaminas libres. Los metabolitos y las catecolaminas libres se eliminan por filtración directa en la orina y se excretan como NA libre (5%); NA conjugada (8%); metanefrinas (20%); y MAV (30%). La A urinaria (50%) se convierte a partir de NA por la *feniletanolamina N-metiltransferasa* (FNMT) renal, no suprarrenal, antes de la excreción (fig. 18-17).

Mediciones de las catecolaminas urinarias y plasmáticas

Las catecolamina son hidrofílicas; circulan en concentraciones bajas (50% ligadas a la albúmina); tienen vida media corta (segundos a dos minutos); y producen con-

centraciones plasmáticas amplias que fluctúan con rapidez que hacen que la determinación e interpretación precisas sean desafiantes desde el punto de vista técnico.

Las catecolaminas de la orina (NA y A libres) se analizan a través de cromatografía líquida o fluorometría. A las 24 h, los valores de catecolaminas y metabolitos urinarios son más confiables y no se alteran por la edad o el género.

La mayor parte de los fármacos antihipertensivos y muchos otros medicamentos interfieren con la medición precisa de las catecolaminas. Las sustancias que producen autofluorescencia (p. ej., tetraciclinas, efedrina, α -metildopa) llegan a causar resultados erróneos cuando se miden por análisis fluorométricos. Los α antagonistas centrales (clonidina) y las tiacidas son los agentes de elección para controlar la hipertensión durante la evaluación de trastornos que causan activación simpática excesiva (estados de catecolaminas elevadas).

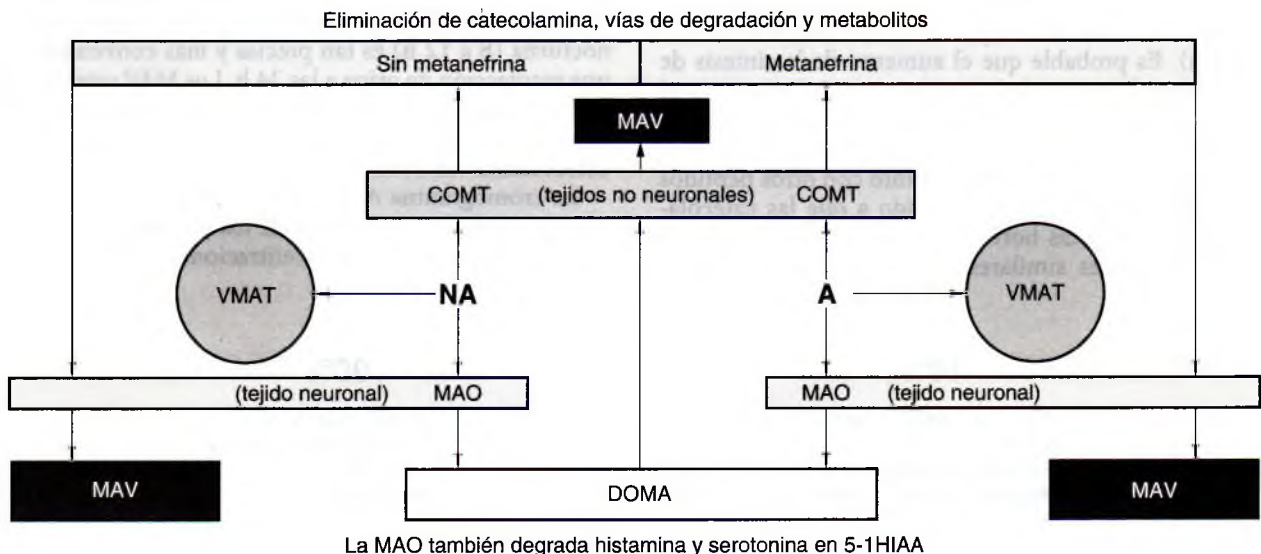


FIGURA 18-17. Degradación de la catecolamina. Las catecolaminas libres (A y NA) se aíslan en las vesículas contenedoras de VMAT o se convierten en metabolitos, DOMA por MAO neuronales y metanefrinas por COMT no neuronales. Al final estos metabolitos se degradan a MAV (DOMA por COMT y metanefrinas por MAO) y se excretan.

Causas de hiperactividad simpática

- Disfunción autonómica.
- Ataque de pánico (emociones).
- Respuestas al estrés: hipoglucemia, lesión, infarto, infección, psicosis y convulsiones.
- Fármacos: descongestionantes, supresores del apetito, estimulantes, broncodilatadores, inhibidores de la MAO, hormona tiroidea, cortisol, abstinencia de nicotina o antagonistas simpáticos de acción breve (clonidina o propranolol).
- Alimentos que contienen tiramina: cerveza, vino tinto, salsa de soya, alimentos sobremadurados/fermentados, carnes ahumadas o maduras.
- Feocromocitoma (tumor productor de catecolamina).

Los feocromocitomas son raros (<0.1% de pacientes hipertensos). Se trata de tumores productores de catecolamina que provienen de tejido cromafín, que causa HTN relacionada con síntomas clínicos no específicos que semejan ansiedad. Los síntomas incluyen palpitaciones, diaforesis y dolores de cabeza. En un estudio retrospectivo, 40% de pacientes evaluados para feocromocitoma cumplió con los criterios de trastorno de pánico, en comparación con 5% de pacientes control con hipertensión (fig. 18-18).^{16,17}

La presentación del paciente es muy variable. En la mayoría se observan episodios de HTN (diastólica/ortostática), palpitaciones y diaforesis, con períodos no específicos de síntomas iniciados por varios estímulos, como esfuerzo físico, torcimiento del torso, Valsalva, micción o coito. Otros padecen HTN constante (algunos refractarios al tratamiento) y muchos no muestran síntomas. Rara vez los pacientes con Feo padecen hipotensión episódica (secreción exclusiva de A o dopamina). Los signos adicionales tal vez incluyan lividez, mayor índice de sedimentación de eritrocitos, cardiomiopatía dilatada y eritrocitosis como resultado de sobreproducción de eritropoyetina. El diagnóstico de Feo pocas veces se confirma.

Los mecanismos de secreción de catecolamina por personas con Feo aún son imprecisos (los tumores no son innervados). Es probable que el aumento de la síntesis de catecolamina, la capacidad de degradación limitada y el almacenamiento restringido por exceso de NA y metabolitos causen desbordamiento en la sangre, lo que eleva la NA o A libre circulante, o ambas, junto con otros péptidos activos que causan síntomas. Debido a que las catecolaminas medulares y las hormonas corticales suprarrenales cumplen funciones similares y producen efectos seme-

jantes, un paciente raro con la evidencia clínica y bioquímica de hipersecreción por catecolamina tal vez presente un adenoma o carcinoma adrenocortical, en lugar de un tumor medular, que produce los síntomas. Los síntomas de Feo se relacionan con el tipo de catecolaminas secretadas por el tumor y los receptores que activan.

Diagnóstico del feocromocitoma

Todavía se desconoce cuál es la mejor prueba para diagnosticar Feo. Aunque en la mayoría de pacientes con feocromocitoma se observan anomalías diagnósticas obvias en la mayor parte de las pruebas, en otros se manifiestan resultados confusos. Cuando una prueba es ambigua, se debe realizar una prueba diferente si es que la sospecha clínica aún es elevada.^{18,19}

La medición de las catecolaminas plasmáticas totales (NA y A) y las metanefrinas urinarias constituye el perfil más sensible de valoración. Las catecolaminas plasmáticas >2 000 pg/ml en un paciente en reposo en posición supina con una cánula no mantenida representa casi un diagnóstico de feocromocitoma. De 287 pacientes con Feo, el 88% presentó NA y A plasmáticas elevadas, que aumentaron hasta en 100% durante episodios hipertensos a pesar de no existir correlación entre la presión arterial y los valores basales de catecolamina.²⁴ Con valores límites (1 000 a 2 000 pg/ml), tal vez sea útil una prueba de supresión de clonidina.

Las metanefrinas en plasma, medidas por HPLC o RIA, se promueven como las pruebas de diagnóstico más específicas y sensibles. Sin embargo, investigadores de la Clínica Mayo en Estados Unidos encontraron que las metanefrinas plasmáticas carecen de especificidad (15% falsos positivos) y no se recomiendan como pruebas de primera línea, sino que se reservan para pacientes con riesgo elevado o aquellos incapaces de recolectar una muestra urinaria precisa a las 24 h. Las metanefrinas urinarias (normal, >1.2 mg/día) quizá constituyen la prueba de orina más sensible; es menos probable que sea alterada por fármacos o ciertos alimentos. Al parecer una recolección urinaria nocturna (8 a 12 h) es tan precisa y más conveniente que una recolección de orina a las 24 h. Los MAV urinarios por HPLC o análisis fluorométrico tienen el índice de falsos negativos más elevado (hasta el 41%) entre las pruebas de catecolamina en orina.²⁰

La cromogranina A se coalmacena y secreta en cuanto a las catecolaminas. En 80% de los pacientes con feocromocitoma se observan concentraciones elevadas de cro-

10%

Descubiertos sin intención (imágenes, cirugía, necropsia)
Múltiples
Extrasuprarrenales (pecho, cuello, abdomen, vejiga)
Malignos (invasión, metástasis distante)
Familiares (Von Hippel-Lindau, MEN-II, hiperplasia de la paratiroides, carcinoma medular de la tiroides, neurofibromatosis, paraganglioma)

90%

Intrasuprarrenal
Intraabdominal (95%)
Sencillo
Benigno

FIGURA 18-18. Feocromocitomas.

mogranina plasmática. La cromogranina A en suero no se mide de manera rutinaria porque es menos sensible y específica para feocromocitoma que las mediciones directas de catecolaminas y metabolitos. En conjunto, la cromogranina A sérica y las catecolaminas plasmáticas son específicas (95%) pero menos sensibles (88%), lo que tal vez se deba a su elevada dependencia de la función renal. Si el índice de filtración glomerular es menor de 80 ml/min, la sensibilidad de la prueba disminuye a 70%. Las catecolaminas plasmáticas en reposo combinadas >200 pg/ml y la cromogranina A >20 pg/ml tienen un valor pronóstico positivo de 97% cuando el GFR es normal.

Si los resultados de las pruebas anteriores son equívocos, se realizan pruebas farmacológicas para separar a pacientes con Feo (concentraciones bajas de actividad biosintética) de aquellos sin Feo que experimentan síntomas similares secundarios al aumento de la salida simpática (la clonidina, un agente antihipertensivo, suprime la salida simpática).

La prueba de supresión de la clonidina (precisión de 92%) resuelve la pregunta “¿el exceso de producción de catecolaminas es suprimible?”. Puesto que la activación simpática no es responsable de la liberación de catecolamina del feocromocitoma, la supresión de la activación simpática a través de la activación de la clonidina de los α_2 receptores centrales no disminuirá las concentraciones de NA en pacientes con feocromocitoma a pesar de mejorar los síntomas.

Después de suspender los fármacos antihipertensivos durante cuando menos 12 h, se miden las catecolaminas plasmáticas totales. La clonidina (0.3 mg) se administra y se vuelven a obtener los valores tres horas más adelante. Los pacientes sin feocromocitoma tendrán una disminución en catecolaminas totales en plasma a >500 pg/ml (esta cifra es imprecisa en pacientes con valores de catecolaminas normales).²¹

La confirmación bioquímica del feocromocitoma debe seguirse por localización radiológica. Aunque cualquier sitio que contenga tejido paragangliónico se ve afectado, las localizaciones extrasuprarrenales más frecuentes son las áreas paraaórticas superiores e inferiores (75%); la vejiga (10%); el tórax (10%); y la cabeza, el cuello y la pelvis (5%).

Para la localización del Feo, se realiza una TC (sin tñir) o IRM del abdomen y de las glándulas suprarrenales. En imágenes ponderadas con T2, los feocromocitomas parecen hiperintensos, en tanto otros tumores suprarrenales tienen aspecto isoíntenso en comparación con el hígado. Cualquier prueba sirve para detectar la mayor parte de los tumores esporádicos (por lo general, ≥ 3 de ancho) con 98 a 100% de sensibilidad y 70% de especificidad. La menor especificidad se debe a una prevalencia relativamente más elevada de *incidentalomas* suprarrenales. Es posible realizar centellografía MIBG marcada con ¹²³I (un análogo de la NA que se concentra en la suprarrenal y Feo a través de VMAT), que es 100% específica para Feo, pero no lo bastante sensible en la valoración rutinaria. La exploración PET con ¹⁸F-fluorodesoxiglucosa, 11C-hidroxiefedrina o 6-[¹⁸F]fluorodopamina resulta útil en la identificación de sitios de enfermedad metastásica.²²

Tratamiento del feocromocitoma

Una vez que se diagnostica el feocromocitoma, todos los pacientes son candidatos a cirugía después de la preparación médica apropiada. La extirpación es un procedimiento de riesgo elevado. En la serie quirúrgica más grande (147 pacientes con feocromocitoma) en una institución (1975-1997), los índices de mortalidad y morbilidad perioperatorias globales fueron de 2.4%.¹⁸ Los pacientes con hipertensión preoperatoria grave, tumores de con elevada secreción o aquellos sometidos a varias intervenciones tuvieron el riesgo más elevado de complicaciones. Las catecolaminas disminuyen a valores normales en un plazo de una semana después de la resección.

Aunque el bloqueo alfa perioperatorio se recomienda de manera extensa, se observaron pocas complicaciones perioperatorias en aquellos pacientes a los que no se les administró α -bloqueadores (estudio de 113 pacientes con feocromocitoma sometidos a resección). Un segundo régimen propuesto por la clínica Cleveland propició el uso exitoso de un bloqueador del canal de calcio para el control de la presión sanguínea.

Resultado y pronóstico

La extirpación quirúrgica del feocromocitoma constituye la terapia primaria. Sin embargo, la escisión no siempre conduce a la curación a largo plazo del feocromocitoma o de la HTN (incluso en pacientes con tumores benignos). Los pacientes con Feo familiares tienen más probabilidad de recurrencia. En una serie de 114 pacientes, el feocromocitoma reapareció en 14% (48% eran malignos). En pacientes sin recurrencia (86%), la supervivencia libre de hipertensión fue de sólo 74% a los cinco años y de 45% a los 10 años (los antecedentes familiares de HTN y la mayor edad fueron factores de riesgo). En 90 pacientes, la tasa de supervivencia total de causa específica a los 20 años fue de 80% sin importar la localización del feocromocitoma.²⁴ El monitoreo a largo plazo está indicado en todos los pacientes, incluso en aquellos que al parecer están curados.

INCIDENTALOMA

A menudo se encuentran masas suprarrenales de manera incidental en la necropsia en pacientes asintomáticos. Alrededor de 10% de los pacientes tendrán un tumor suprarrenal. Con el aumento del uso de exploraciones de TC e IMR de rutina, se espera que aumente la cantidad de adenomas suprarrenales descubiertos. La mayor parte son no funcionales y benignos. De 61 054 exploraciones abdominales de TC hechas en la Clínica Mayo de Estados Unidos de 1985 a 1990, en el 3.4% se observaron masas suprarrenales. El 75% correspondió a cáncer metastásico obvio o lesiones conocidas y 16.5% a incidentalomas (0.4% de las exploraciones). Todas las masas suprarrenales se evaluaron en busca de malignidad e hipersecreción.²³

Si la masa incidental es mayor de 3 a 6 cm, según se revela por exploraciones seriales o funcionales, se extirpa por medios quirúrgicos.

En la figura 18-19 se ilustra una breve valoración funcional de masas suprarrenales, que sirve para evaluar la función de todas las capas suprarrenales y como resumen clínico.

ESTUDIO DE CASO

La hipertensión es frecuente y se presenta más a menudo como un trastorno médico independiente; en ocasiones, se origina por una enfermedad subyacente y requiere un tratamiento diferente. Debido a que la función suprarrenal es crítica para a) la presión sanguínea, b) el potasio y c) la homeostasis de la glucosa, debe tomarse en cuenta una etiología suprarrenal en todos los pacientes con problemas de presión sanguínea acompañados por anomalías electrolíticas, cambios inexplicables de peso, falla para prosperar, virilización inadecuada y períodos de ansiedad.

A continuación se muestran ocho escenarios clínicos diferentes. Cada uno de ellos se relaciona con un diferente diagnóstico y tratamiento. En el capítulo se encuentra una descripción de las causas suprarrenales, los diagnósticos y los tratamientos para ellos. Cada estudio de caso se completa con el siguiente enunciado de apertura: una mujer de 22 años (adoptada previamente, sin ingesta actual de medicamentos, historial médico negativo) se presenta con...

ESTUDIO DE CASO 18-1

...hipertensión, debilidad e hipopotasemia; también muestra excreción elevada de K^+ urinario sin diuréticos.

Pregunta

1. ¿Cuál es el diagnóstico?

ESTUDIO DE CASO 18-2

...hipertensión, debilidad y comienzo rápido de obesidad. Esta paciente también muestra acumulaciones de grasa central, joroba de búfalo, plétora, piel delgada, estrías púrpuras, contusión rápida, osteoporosis, resistencia a la hiperglucemia/insulina e infecciones recurrentes.

Pregunta

1. ¿Cuál es el diagnóstico?

ESTUDIO DE CASO 18-3

...hipertensión, debilidad, menstruaciones irregulares e hipopotasemia. Su corta edad, el cortisol por debajo del límite y los andrógenos bajos también son importantes.

Pregunta

1. ¿Cuál es el diagnóstico?

ESTUDIO DE CASO 18-4

...hipertensión, con períodos de ataques de pánico y bochornos calientes. También presenta dolor de cabeza, hiperglucemia, hipertiroidismo y molestias GI.

Pregunta

1. ¿Cuál es el diagnóstico?

ESTUDIO DE CASO 18-5

...hipertensión, con virilización. Esta joven padece menstruaciones irregulares diagnosticadas con síndrome ovárico enquistado. Muestra cortisol por debajo del límite y progesterona 17-OH elevada.

Pregunta

1. ¿Cuál es el diagnóstico?

ESTUDIO DE CASO 18-6

...hipertensión e hiperpotasemia. Tiene función renal normal (K^+ urinario bajo) y acidosis metabólica.

Pregunta

1. ¿Cuál es el diagnóstico?

ESTUDIO DE CASO 18-7

...hipotensión, falla para prosperar, pérdida de peso y debilidad. Sus resultados de laboratorio revelan hiperpotasemia, hipoglucemia en ayunas y acidosis metabólica.

Pregunta

1. ¿Cuál es el diagnóstico?

ESTUDIO DE CASO 18-8

...virilización e hirsutismo nuevos. Los resultados de laboratorio demuestran aumento de las concentraciones de FCI-I (factor de crecimiento de la insulina), DHEA(S) y testosterona. Ella es un entusiasta de los alimentos saludables que experimenta con suplementos alimenticios.

Pregunta

1. ¿Cuál es el diagnóstico?

Evaluación de la función del incidentaloma		
	Características clínicas	Pruebas de valoración Resultados negativos
Feocromocitoma	HTN (paroxismal) con intervalos (sudoración, dolor de cabeza o palpitaciones)	Metanefrinas urinarias a las 24 horas <1 μg o 5.5 $\mu\text{mol/mg}$ de creatina
Síndrome de Cushing	HTN , obesidad (truncal), debilidad	1 mg de dexametasona antes de dormir Cortisol a las 8 a.m. <3.6 $\mu\text{g/dl}$, o cor- tisol libre urinario normal a las 24 horas
Aldosteronismo primario	HTN , hipopotasemia, debilidad	Potasio sérico, si la excreción de K ⁺ urinario (<30 meq) es bajo
Adrenocarcinoma	Virilización (+ los anteriores)	Proporción renina plasmática: aldosterona <30 DHEAS plasmática (<9.2 $\mu\text{mol/L}$) 17-cetosteroide urinario <20 mg

FIGURA 18-19. Breve valoración funcional de las masas suprarrenales.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Cuándo se considera una causa endocrina para la hipertensión del paciente? ¿Cuál es el órgano del que se suele sospechar? ¿La hipertensión se origina por un estado de sobreproducción o de subproducción?
2. En términos generales, ¿cuáles son algunas señales de advertencia importantes de enfermedad suprarrenal?
3. ¿Cuál es el sustrato habitual del que se producen todos los esteroides suprarrenales?
4. Describa cada producto final de la corteza suprarrenal por capa funcional y mencione un regulador específico para cada uno.
5. Cuando se producen, las catecolaminas libres (NA y A) son de vida breve. Describa sus destinos generales y cómo se miden.
6. ¿Cuál esteroide suprarrenal es responsable de la producción de adrenalina?

REFERENCIAS

1. Kacsoh D. The adrenal gland. In: Dolan J, ed. Endocrine Physiology. New York: McGraw-Hill, 2000:360-448.
2. Orth D. Anatomy and development of the adrenal cortex. www.UpToDate.com, online 12.1, 12/03.
3. Miller W. The Adrenal Cortex. In: Felig P, ed. Endocrinology and Metabolism. New York: McGraw-Hill, 2001:387-493.
4. Lacroix A. The adrenal cortex: basic concepts and diagnostic procedures. In: Pinchera A, et al, eds. Endocrinology and Metabolism. London: McGraw-Hill, 2001:285-297.
5. Orth D. Adrenal steroid biosynthesis and congenital adrenal hyperplasia. www.UpToDate.com, online 12.1, 3/02.
6. Levine L. Congenital adrenal hyperplasia. In: Lavin M, ed. Manual of Endocrinology and Metabolism. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002:147-163.
7. Stern N. The adrenal cortex and mineralocorticoid hypertension. In: Lavin M, ed. Manual of Endocrinology and Metabolism. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002:115-139.
8. Kaplan N. Primary aldosteronism. In: Pine J, ed. Clinical Hypertension. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1998:365-383.
9. Thomopoulos P. Adrenocortical insufficiency. In: Jeffers D, ed. Endocrinology and Metabolism. London: McGraw-Hill, 2001:297-305.
10. Bertagna X. Cushing's syndrome. In: Pinchera A, et al, eds. Endocrinology and Metabolism. London: McGraw-Hill, 2001:311-323.
11. Besser G. Cushing's syndrome. J Clin Endocrinol Metabol 1972;1:451.
12. Orth D. Establishing the diagnosis of Cushing's syndrome. www.UpToDate.com, online 12.1, 12/02.
13. Castro M, Quidute A, et al. Out-patient screening for Cushing's syndrome: sensitivity of the combination of circadian rhythm and overnight dexamethasone suppression salivary cortisol tests. J Clin Endocrinol Metabol 1999;84:878.
14. Chrovsos G. Dehydroepiandrosterone and its sulfate. www.UpToDate.com, online 12.1, 4/03.
15. Bravo E. The adrenal medulla: basic concepts. In: Pinchera A, et al, eds. Endocrinology and Metabolism. London: McGraw-Hill, 2001:337-341.

16. Kaplan N. Pheochromocytoma. In: Pine J, ed. *Clinical Hypertension*. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 1998:345–365.
17. Sowers K. Pheochromocytomas. In: Lavin M, ed. *Manual of Endocrinology and Metabolism*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002:139–145.
18. Bravo E. Diagnosis and Management of Pheochromocytoma. In: Pinchera A, et al, eds. *Endocrinology and Metabolism*. London: McGraw-Hill, 2001:341–349.
19. Fogarty J, Russo J, et al. Hypertension and pheochromocytoma testing: the association with anxiety disorders. *Arch Fam Med* 1994;3:55.
20. Sawka A. Fractionated plasma metanephrines are highly sensitive, but less specific than urinary total metanephrines and catecholamines in detection of pheochromocytoma. Program and Abstracts of The Endocrine Society's 83rd Annual Meeting, Denver, June 20–23, 2001, Abstract #P1-642. Denver, CO: The Endocrine Society, 2001:285.
21. Sjöberg R, Kidd G. The clonidine suppression test for pheochromocytoma: a review of its utility and pitfalls. *Arch Int Med* 1992;152:1193.
22. Pacak K, Eisenhofer G, Carrasquillo J, et al. 6- ^{18}F fluorodopamine positron emission tomographic (PET) scanning for diagnostic localization of pheochromocytoma. *Hypertension* 2001;38:6–8.
23. Lutton J. The incidentally discovered adrenal mass. In: Pinchera A, et al, ed. *Endocrinology and Metabolism*. London: McGraw-Hill, 2001:323–329.
24. Young W, Kaplan N. Diagnosis and treatment of pheochromocytoma in adults. www.UpToDate.com, online 12.2, 1/04.

Función gonadal

Dev Abraham y A. Wayne Meikle

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

■ OVARIO

Anatomía funcional del ovario
Producción hormonal por los ovarios
Ciclo menstrual
Control hormonal de la ovulación
Desarrollo puberal femenino
Anormalidades del ciclo menstrual
Hipogonadismo hipogonadotrópico
Hirsutismo
Terapia del reemplazo de estrógeno

■ TESTÍCULOS

Anatomía funcional del aparato reproductor masculino

Fisiología de los testículos

Trastornos del desarrollo sexual e hipofunción testicular

Diagnóstico del hipogonadismo

Terapia de reemplazo de testosterona

Monitoreo de la terapia de reemplazo de testosterona

■ PREGUNTAS DE REPASO

■ REFERENCIAS

■ LECTURAS RECOMENDADAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Analizar la biosíntesis, la secreción, el transporte y la acción de los esteroides y las gonadotropinas sexuales.
- Identificar la localización de la hipófisis, los ovarios y los testículos.
- Describir los ejes hipotalámico-hipofisario-ovárico e hipotalámico-hipofisario-testicular y cómo regulan la producción del esteroide sexual y la hormona gonadotropina.

- Explicar los principios de cada prueba de diagnóstico para la disfunción de los ejes hipofisario-gonadales.
- Correlacionar la información de laboratorio con respecto a los trastornos gonadales sospechados, de acuerdo con los datos clínicos del paciente.
- Describir el protocolo de prueba de laboratorio adecuado para evaluar o monitorear de manera efectiva pacientes con enfermedad gonadal sospechada.

TÉRMINOS CLAVE

Amenorrea
Andrógeno
Célula de Leyding
Célula de Sertoli

Célula de la teca
Cuerpo lúteo
Fase folicular
Fase lútea

Ginecomastia
Hipogonadismo
Hirsutismo
Inhibina

Ovulación
Virilización

OVARIO

Los ovarios son órganos pares y, al igual que las gónadas masculinas, realizan funciones duales: la producción del gameto femenino (el óvulo) y la elaboración de esteroides ováricos.¹⁻³ A diferencia de las células reproductivas primordiales masculinas, las femeninas producen (en la mayor parte de los ciclos) un gameto solitario. Los procesos ováricos están orquestados de manera cuidadosa con los ciclos menstruales mediante una interacción compleja de hormonas entre los ovarios, la hipófisis y el hipotálamo que prepara el útero para la implantación del embrión. En la ausencia de dicho proceso, la cubierta uterina se desprende, lo que produce la menstruación.^{4,5}

La duración del ciclo menstrual es el tiempo entre dos ciclos consecutivos establecidos. La duración típica es de alrededor de 28 días (± 3 días). El flujo mensual promedio es de entre dos y cuatro días.

Anatomía funcional del ovario

Los ovarios son estructuras ovoides (de cerca de 5 cm de longitud) situados en la fosa pélvica. Se encuentran suspendidos por el ligamento ancho del ovario y en relación estrecha con la posición de la terminación fimbrial de las trompas de Falopio, que están conectadas a la cavidad uterina. Los ovarios contienen alrededor de 2 a 4 millones de folículos primordiales.^{2,6} En cada ciclo, se reúnen unos cuantos folículos primordiales para su maduración progresiva. La mayor parte de los folículos se atrofian, con excepción de un solo folículo (folículo de De Graaf) que al final libera un óvulo maduro. El folículo de De Graaf tiene una capa interna, la teca interna; una capa externa, la teca externa; y una cavidad central que contiene líquido proveniente del plasma. La capa secretoria del folículo es la capa granulosa.^{2,5-7}

El óvulo desarrollado está adherido en el interior de la cavidad del folículo de De Graaf por células granulosas denominadas *células cúmulo*. En una secuencia coreografiada de manera precisa de la estimulación ovárica por hormonas estimulantes del folículo y hormonas luteinizantes, los ovarios producen las hormonas esteroides principales: la progesterona y el estrógeno. Cuando se expulsa el óvulo, el folículo de De Graaf experimenta un cambio morfológico al cuerpo lúteo, con hipertrofia de las *células de la teca* y granulosa. A este proceso se le denomina *luteinización*. El cuerpo lúteo, un sustrato para la producción continua de progesterona y estrógeno, es rico en colesterol y mantiene el endometrio para una concepción anticipada. Si no se presenta la concepción o implantación, el endometrio se desprende y el cuerpo lúteo se atrofia a folículo atrético.

Producción hormonal por los ovarios

Al igual que en las glándulas suprarrenales y los testículos, la ruta esteroidogénica y las enzimas sintéticas también se observan en los ovarios. El colesterol se sintetiza, sea a partir de acetato o se transporta de manera activa de la partícula lipoproteína de baja densidad (LDL) en la sangre.^{4,5,8,9}

Estrógeno

Los estrógenos sintetizados de forma natural son compuestos de carbono 18. El principal estrógeno producido en el ovario es el estradiol. La estrona y el estriol son, en su mayor parte, metabolitos de conversión intraovárica y extraglandular. En mujeres, los estrógenos promueven el desarrollo de las características sexuales secundarias. El desarrollo de senos, uterino y vaginal se debe a los efectos del estrógeno, en particular el desarrollo glandular y de los vasos sanguíneos.^{4,5,8,9} La falta de estrógenos que ocurre de manera natural con el comienzo de la menopausia conduce a cambios atróficos en estos órganos. Además, los estrógenos afectan la piel, los músculos lisos vasculares, las células óseas y el sistema nervioso central (cognición). El estrógeno es responsable de los cambios en la fase folicular en el útero. La deficiencia de estrógenos origina un desarrollo irregular e incompleto del endometrio.^{2,10}

Progesterona

La progesterona es un compuesto de carbono 21 de la familia de los esteroides, que se produce por el cuerpo lúteo. La progesterona induce la actividad secretora de las glándulas endometriales que son inducidas por el estrógeno, lo que prepara al endometrio para la implantación embrionaria. Otros efectos incluyen el espesamiento del moco cervical, la reducción de las contracciones uterinas y el efecto termogénico. La elevación de la temperatura basal del cuerpo que sucede después de la ovulación se debe a la progesterona. En la práctica clínica, a este efecto se le utiliza como "modelo de hormona luteinizante" que se presenta de manera natural para indicar la ocurrencia de la ovulación. La progesterona es la hormona dominante responsable de la fase lútea en el ciclo. La deficiencia de la progesterona ocasiona falla en la implantación del embrión.^{2,4-6,8}

Andrógenos

Los ovarios producen andrógenos, que son compuestos de carbono 19 (androstenediona, dehidroandrostenediona, testosterona y dihidrotestosterona). En mujeres, la producción excesiva de andrógenos ováricos conduce al crecimiento excesivo de vello (hirsutismo), pérdida de las características femeninas (desfeminización) y, en casos graves, francas características sexuales secundarias masculinas (masculinización, o *virilización*).¹¹⁻¹⁴ A diferencia de los estrógenos, que no se producen en los ovarios después de la menopausia, la síntesis de andrógenos continúa de manera adecuada en la edad avanzada.

Las inhibinas A y B, que se producen por los ovarios, son hormonas que inhiben la producción de FSH.^{6,15} La activina es una hormona que aumenta la secreción de la FSH e induce esteroidogénesis. La foliculostatina, la relaxina, la proteína reguladora del folículo, el factor de maduración oocito y la sustancia inductora de la meiosis son hormonas que al parecer son importantes, aunque todavía no se caracterizan con claridad sus funciones.

Ciclo menstrual

Consta de dos fases de fenómenos paralelos que ocurren en los sitios ováricos y endometriales. La primera es la fase

folicular (ovario) o proliferativa (útero); la segunda es la fase lútea (ovario) o secretora (útero).^{1,2,4-6,15,16}

Fase folicular

Los estrógenos secretados por el folículo en desarrollo aumentan el grosor del endometrio por estimulación de las células epiteliales, crecimiento de los vasos sanguíneos y desarrollo de las glándulas endometriales. La capacidad secretora intensa de las glándulas uterinas proporciona una secreción que ayuda a la implantación del embrión.

Fase lútea

Fase que sigue a la folicular, inmediatamente después de la extrusión del óvulo y la luteinización subsiguiente del folículo de De Graaf para formar el cuerpo lúteo. Éste mantiene la secreción de la progesterona y ayuda en la implantación del embrión. Después de 14 días, el endometrio uterino es expulsado para que comience el próximo ciclo. La duración típica del sangrado es de 3 a 5 días, con pérdida de sangre de alrededor de 50 ml.

Control hormonal de la ovulación

El control central de la secreción de la hormona foliculoestimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) reside en el generador de la pulsación de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) del núcleo arqueado y del núcleo preóptico medial del hipotálamo.^{1,2,4-6,15,16} Existen repuestas de retroalimentación positiva y negativa entre los estrógenos, la progesterona y la producción de LH y FSH. Debido a la falta de estrógenos después de la menopausia, se elevan los valores de FSH y LH.^{1,15,16} El torrente a medio ciclo en la producción de la LH desemboca en el fenómeno culminante de la ovulación. Las concentraciones de FSH son elevadas al comienzo de la fase folicular y disminuyen después de la ovulación. Cualquier daño en el hipotálamo o estrés (psicosocial o físico) conduce a anovulación y amenorrea.^{10,17,18}

Desarrollo puberal femenino

Estadios de Tanner

El sistema de estadios propuesto por Marshall y Tanner⁹ se aplica para la vigilancia de las etapas de crecimiento de mamas y vello púbico.

Estadio de desarrollo de la mama

Etapas 1: elevación papilar.

Etapas 2: elevación del botón de la mama y de la papila.

Etapas 3: elevación del tejido mamario y la papila.

Etapas 4: elevación de papila y areola que forman el pecho; la papila está en el ecuador de la mama o arriba del mismo.

Etapas 5: la areola está anidada dentro de la mama o la papila está debajo del ecuador de la mama, o ambas.

Estadio de cambios del vello púbico

Etapas 1: vello tipo lanugo.

Etapas 2: vello terminal oscuro sobre labios mayores.

Etapas 3: vello terminal que cubre labios mayores y se extiende sobre el montículo púbico.

Etapas 4: vello terminal que cubre por completo los labios mayores y el pubis.

Etapas 5: vello terminal que cubre los labios mayores, el montículo púbico y la parte interna de los muslos.

Anormalidades del ciclo menstrual

El ciclo menstrual promedio tiene una duración de 28 días, con un rango de 25 a 35 días al que se le considera normal. La edad promedio en que ocurre la menopausia es entre los 45 y 55 años.^{1,2,4-6,15,16}

La *amenorrea* se refiere a la ausencia de menstruaciones. Cuando una mujer nunca ha menstruado, se le denomina *amenorrea primaria*.^{7,17-20} Cuando una mujer con cuando menos un ciclo menstrual tiene cese posterior durante un período mínimo de 3 a 6 meses, se le denomina *amenorrea secundaria*.^{10,17,18} En el cuadro 19-1 se muestra la frecuencia de los sitios etiológicos de la amenorrea. En la figura 19-1 se ilustra un método diagnóstico de amenorrea secundaria. La *oligomenorrea* se refiere al sangrado menstrual poco frecuente o irregular, con duración excesiva del ciclo de 35 a 40 días. El sangrado excesivo uterino durante siete días es disfuncional y se le denomina *menorragia*. En una paciente con infertilidad, el diagnóstico de fase lútea inadecuada se establece cuando dicha fase es menor a 10 días o cuando en la biopsia endometrial se observa que la progresión de los cambios endometriales está retrasada en la preparación para la implantación.

Los principios subyacentes en la evaluación de los trastornos de las funciones menstruales normales son los mismos que para la disfunción ovárica o hipofisaria. En el cuadro 19-2 se muestran las diversas causas de la infertilidad masculina y femenina.

Clasificación de la amenorrea por la Organización Mundial de la Salud (OMS)^{20,21}

Tipo 1. Hipogonadismo hipotalámico (FSH u LH, o ambas, bajas o normales):

- Amenorrea hipotalámica (anorexia nerviosa, idiopática, ejercicio inducido).
- Síndrome de Kallmann.
- Deficiencia de gonadotropina aislada.

CUADRO 19-1. AMENORREA: SITIOS ETIOLÓGICOS DE ANORMALIDAD

	PRIMARIA	SECUNDARIA
Hipotálamo	27%	38%
Hipófisis	2%	15%
SOPQ	7%	30%
Ovario	43%	12%
Útero/salida	19%	7%

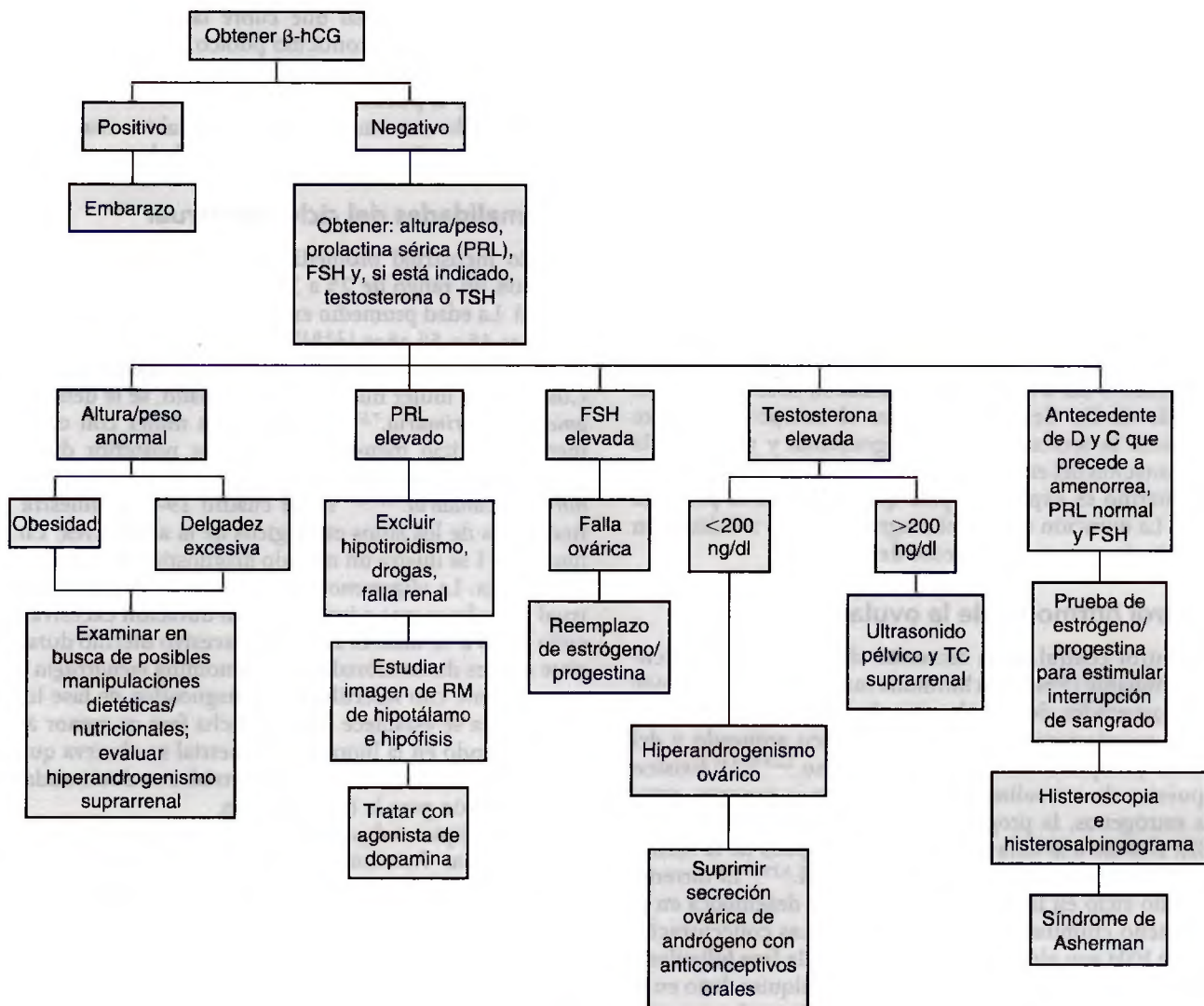


FIGURA 19-1. Método diagnóstico de amenorrea secundaria.

Tipo 2. Anovulación crónica euestrogénica (FSH y LH normales):

- Síndrome ovárico poliquístico (LH > FSH en algunos pacientes, 2:1 o mayor).
- Hipertecosis.

Tipo 3. Hipogonadismo hipotalámico (FSH suele ser elevada, pero también llega a estarlo la LH):

- Falla ovárica prematura
- Síndrome de Turner

Hipogonadismo hipogonadotrópico

Muchas causas fisiológicas y patológicas inducen amenorrea secundaria; en particular, pérdida de peso sea como resultado de anorexia nerviosa o pérdida de peso secundaria inducida por varios procesos de enfermedad.^{10,17,18,20-22} Es posible que el ejercicio físico intenso (al que a menudo se le conoce como *amenorrea de la corredora*) también induzca amenorrea secundaria. Además, los tumores hipofisarios que interrumpen la secreción de FSH u LH llegan a inducir hipogonadismo hipogonadotrópico. La producción de prolactina por prolactinomas también tiene efectos similares.^{10,17} Cualquier causa secundaria de hipogonadismo crónico podría inducir pérdida ósea patológica, que ocasiona osteopenia y, en casos graves, osteoporosis.

La producción de prolactina por prolactinomas también tiene efectos similares.^{10,17} Cualquier causa secundaria de hipogonadismo crónico podría inducir pérdida ósea patológica, que ocasiona osteopenia y, en casos graves, osteoporosis.

Insuficiencia ovárica primaria

Se origina por anomalía cromosómica congénita (síndrome de Turner) o por menopausia prematura.^{17,18,20,23} Las pacientes con síndrome de Turner no informan los mismos bochornos experimentados por pacientes con hipogonadismo hipogonadotrópico secundario.²⁰ La elevación de la FSH constituye un indicio en el diagnóstico de menopausia prematura. La insuficiencia ovárica prematura llega a presentarse junto con otras insuficiencias glandulares (hipoparatiroidismo, hipotiroidismo, hiposuprarrenal o candidiasis mucocutánea).^{6,17,18,20,22} La menopausia representa un fenómeno natural e inevitable que

CUADRO 19-2. RESULTADOS ANDRÓGENOS EN HIRSUTISMO Y VIRILIZACIÓN

TRASTORNO	ANALITO		
	TESTOSTERONA TOTAL	TESTOSTERONA LIBRE	SDHEA
Hirsutismo idiopático	↑	↑↑↑	↑
Síndrome ovárico poliquístico	↑	↑↑	↑
Hiperplasia suprarrenal congénita	↑↑	↑↑	↑↑↑
Tumores de virilización			
Ovario	↑↑↑	↑↑↑	↑
Suprarrenal	↑↑	↑↑	↑↑↑

Modificado de Demers LM, Hirsutism and Virilization, News and Views, Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry, 1989.
SDHEA = sulfato de dehidroepiandrosterona.

produce la elevación de las concentraciones de FSH y LH, con cifras bajas de estrógeno.^{1,6,16,24}

Síndrome de ovárico poliquístico

Este trastorno frecuente se observa en muchas presentaciones: infertilidad, hirsutismo, anovulación crónica, intolerancia a la glucosa, hiperlipidemia o dislipidemia e hipertensión.^{11,13,14} El comienzo suele ser perimenarquial, crónico y notable por su progresión lenta. Las investigaciones en este trastorno implican la estimación de testosterona libre, concentraciones de globulina unida a hormona sexual, FSH y LH, glucosa en ayunas y cifras de insulina y lípidos. En el ultrasonido del ovario se revelan varios quistes en casi todas las pacientes (cerca de 30% no los presentan). La mayoría con este trastorno padecen sobrepeso; sin embargo, las pacientes con síndrome ovárico poliquístico (SOPQ) de descendencia asiática oriental o sudamericana tienen peso normal. La mayor parte de los síntomas y las anormalidades de laboratorio se revierten con pérdida de peso y aumento de la actividad física. Un fármaco (metformina), que suele utilizarse para el tratamiento de la diabetes, es útil para esta afección, incluso en ausencia de diabetes.¹³ Se informa que normaliza los ciclos menstrua-

les y mejora la tasa de concepción, aunque la Administración de Fármacos y Alimentos (FDA) de Estados Unidos no lo aprueba para este uso.

Hirsutismo

El *hirsutismo* consiste en crecimiento anormal de cabello terminal sensible al andrógeno en mujeres, en áreas donde los folículos de vello terminal son escasos o no se encuentran en condiciones normales. En Estados Unidos, se calcula que alrededor de 5 a 10% de las mujeres padecen hirsutismo. Éste se cuantifica por una técnica de medición práctica desarrollada por Ferriman y Gallwey.^{11,12,14,25} Las áreas más relevantes de crecimiento excesivo de vello controlado por andrógenos se encuentran en la línea media del cuerpo, como resultado de una preponderancia inherente de la actividad de la 5 α -reductasa, que convierte la testosterona en dehidrotestosterona (DHT). El hirsutismo sólo debe considerarse en el contexto del origen étnico de las mujeres que se someten a evaluación. Las mujeres con descendencia italiana, de Europa del este, del oriente de la India e irlandesa están dotadas con más vello terminal sensible al andrógeno que sus contrapartes del norte de Europa. La obtención cuidadosa de los antecedentes étnicos de las personas nacidas en la Unión Americana es importante antes de comenzar una evaluación de laboratorio a gran escala. En el cuadro 19-3 se resumen las anormalidades hormonales relacionadas con hirsutismo.

ESTUDIO DE CASO 19-1

Una mujer de 39 años de edad informa bochornos y ciclos menstruales irregulares durante seis meses. El examen clínico no revela anormalidades. La evaluación de laboratorio muestra los siguientes resultados: RSC, normal; glucosa sanguínea, 89 mg/dl; HET, 1.5 UI; FSH, 128 UI; y LH, 30 UI.

Esta situación clínica es consistente con una de las siguientes afecciones:

1. SOPQ
2. Prolactinoma
3. Tumor hipofisario
4. Menopausia
5. Deficiencia hormonal hipotalámica

Escala de Ferriman-Gallwey

- Por lo general, se identifican nueve áreas para la valoración: el labio, el mentón, el cuello, el abdomen, la espalda baja y superior, el área de la patilla, la espalda, el muslo y la parte media del pecho. Una versión modificada de esta escala usa áreas adicionales.
- Los sitios se clasifican en una escala del 1 al 4, con base en el espesor y la pigmentación del vello.
- Una clasificación >8 indica hirsutismo.

Clasificación del hirsutismo^{11,12,14,25}

- Funcional (concentraciones de andrógeno normales con crecimiento excesivo de vello) o exceso de andrógeno verdadero (andrógenos elevados).
- Ovárico (mediado por LH) o suprarrenal (mediado por ACTH).

CUADRO 19-3. CAUSAS DE INFERTILIDAD

BLANCO	RESULTADO	CAUSA
Mujeres		
Hipotálamo	Disminución de GRH	Fármacos Aumento de estrés Dieta
Hipófisis	Disminución de FSH y LH	Tumor destructivo y lesión vesicular
Ovarios	Descenso de estradiol o progesterona	Insuficiencia orgánica Disgénesis orgánica Anticuerpos antiováricos Desnutrición, peso muy bajo, enfermedad metabólica
Trompas de Falopio y útero	Endometrio inadecuado Cicatrización y cierre de las trompas Disminución de moco cervical	Gasto bajo de progesterona Enfermedad inflamatoria pélvica Infecciones cervicales
Concepción	Inmovilización y destrucción de espermatozoide	Anticuerpos antiespermatozoides
Hombres		
Hipotálamo e hipófisis	Azoospermia (falta de espermatozoides) a oligospermia	Defectos primarios en glándulas hipotalámica o hipofisaria Andrógenos exógenos Disfunción testicular, con disminución de la producción testicular
Testículos	Azoospermia (falta de espermatozoides) a oligospermia Retraso o deficiencia de madurez sexual; reducción de testosterona	Orquitis; infecciones testiculares, como paperas; alcoholismo y abuso de sustancias Defectos cromosómicos
Próstata	Disminución del líquido seminal	Infecciones de próstata o vesículas seminales
Tracto uretrogenital	Eyacuación retrógrada o ausente	Anormalidades físicas; diabetes crónica

- Conversión periférica de andrógenos (obesidad).
- Hiperandrogenismo tumoral (ovárico, suprarrenal).
- Coriónico mediado por gonadotropina.

Causas del hirsutismo^{11,12,14,25}

- Enfermedad del ovario poliquístico (EOPQ), 35% de los casos.
- Idiopática, 60% de los casos.
- Hiperplasia suprarrenal congénita, <1%; neoplasmas suprarrenal y ovárico.
- Fármacos
 - Hirsutismo: danazol, andrógenos y progestinas androgénicas.
 - Hipertrichosis: estreptomycin, penicilamina, diazóxido y ciclosporina.
 - El minoxidil causa aumento y pigmentación del vello.

Terapia del reemplazo de estrógeno

El reemplazo de estrógenos aún es un tema de debate.²⁶⁻³¹ En el estudio *Women's Health Initiative* se incluyeron 16 608 mujeres posmenopáusicas que se colocaron en combinaciones de reemplazo convencional. El resultado del estudio fue aumento de la incidencia del cáncer de pecho invasor (índice de riesgos, 1.26) y de la formación de coágulos venosos, reducción no significativa de la enfermedad de

la arteria coronaria, y disminución de la pérdida ósea y de la formación de pólipo del colon. Esta terapia debe individualizarse para cualquier paciente determinado.

TESTÍCULOS

Los testículos son órganos ovoides pareados que realizan funciones duales: a) la producción de espermatozoides; y b) la producción de hormonas que controlan varios procesos del cuerpo humano que contribuyen a la reproducción.³² En la etapa embrionaria, la hormona sexual masculina dominante, la testosterona (T), ayuda al desarrollo y la diferenciación de las gónadas primordiales. Después de la pubertad y a lo largo de la edad adulta y hasta la edad avanzada, la testosterona contribuye a la producción de espermatozoides y mantiene las características sexuales secundarias.

Anatomía funcional del aparato reproductor masculino

Los testículos se localizan fuera del cuerpo, revestidos por un saco muscular. El flujo sanguíneo está controlado por un plexo intrincado de flujo sanguíneo arterial y venoso que, junto con la contracción del músculo dartos en el saco escrotal, regula la temperatura de los testículos a 2°C por debajo de la temperatura corporal central. Esta función importante

ESTUDIO DE CASO 19-2

Una mujer de 49 años de edad se presenta con aumento de crecimiento de vello durante los seis meses anteriores que comenzó de manera abrupta. Además, muestra un patrón masculino de pérdida de cabello. En el examen, se observa pérdida temporal de cabello y clitorimegalia. La evaluación de laboratorio revela lo siguiente: testosterona, 360 ng/dl; FSH, 12 UI; LH, 9 UI; y concentración normal de prolactina.

El próximo paso en la evaluación es uno de los siguientes:

1. Concentración de DHEA-S
2. Repetición de los valores de FSH y LH
3. Concentración de azúcar sanguínea en ayunas
4. Nivel de lípidos en ayunas
5. Tomografía por computadora de suprarrenal y ovarios

es vital para no interrumpir la producción de espermatozoides. El cordón espermático, que también se encuentra en la vaina muscular, tiene la capacidad de contraer los testículos dentro del canal inguinal en caso de amenaza de lesión. La espermatogénesis ocurre en los túbulos seminíferos. Los espermatozoides se mueven de manera secuencial a través de los rete testis; los conductos eferentes de los testículos; la cabeza, el cuerpo y la cola del epidídimo; y al final, dentro de los vasos deferentes. Varios productos de la secreción de las vesículas seminales y de la próstata se mezclan con los espermatozoides para formar el producto final (semen), que se deposita en la pared vaginal posterior durante el coito. Las secreciones de la vesícula seminal son ricas en vitamina C y fructosa, lo que es importante para la preservación de la movilidad de los espermatozoides.

Fisiología de los testículos

Espermatogénesis

Los espermatozoides se forman de células germinales a las que se les denomina espermatogonias. Éstas se someten a mitosis y meiosis; al final, las células haploides se transforman para formar espermatozoides maduros.³³ El espermatozoide maduro tiene cabeza, cuerpo y cola, con capacidad notable para nadar con el único objetivo de formar un cigoto con el óvulo haploide. Ciertas espermatogonias escalonan la división de modo que la producción de espermatozoides no se interrumpa y sea continua. Las células de Sertoli son células polifuncionales que contribuyen al desarrollo y la maduración de los espermatozoides.

Hormonogénesis

La testosterona, la hormona predominante secretada por los testículos, está controlada de manera primordial por dos hormonas hipofísicas: la hormona foliculoestimulante (FSH)

y la hormona luteinizante (LH).^{34,35} Debido a que estas hormonas se describieron por primera vez en mujeres, se les menciona en referencia al ciclo menstrual. Ambas hormonas se producen por un solo grupo de células de la hipófisis a las que se les denomina *gonadotropinas*. La FSH actúa sobre todo en las células embrionarias germinales, y la LH en las células de Leyding que sintetizan testosterona.

Control hormonal de la función testicular

El hipotálamo, que se localiza en el cerebro, genera una hormona conocida como hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) de una forma pulsátil. La GnRH se libera dentro del sistema hipofisario portal que, a su vez, determina la producción de LH y FSH de la hipófisis. La alteración de la generación de pulso de la GnRH conduce a la producción inadecuada de LH y FSH, lo que ocasiona hipogonadismo.^{35,36} El primer paso, y limitante de la velocidad, de la esteroidogénesis testicular es la conversión de colesterol a pregnenolona. El colesterol se sintetiza en las células de Leyding, o el colesterol en sangre es atrapado por endocitosis. La LH se une al receptor de glucoproteína en la pared celular e induce la producción de AMP cíclica intracelular que, a su vez, activa la proteincinasa A, que cataliza la fosforilación proteica. Este último paso induce la síntesis de testosterona. La ruta de la esteroidogénesis testicular es similar a la de la corteza suprarrenal y comparten los mismos sistemas enzimáticos. La testosterona es la principal hormona andrógena en la sangre. La mayor parte de la testosterona está ligada, sólo 2 a 3% se encuentra libre. Alrededor de 50% de la testosterona se une a la albúmina y cerca de 45% se enlaza a la globulina de unión a la hormona sexual (GUHS). La concentración de la proteína de unión determina la concentración total de testosterona, pero no los valores de testosterona libre durante la estimación de laboratorio. La testosterona y la *inhibina* son dos hormonas secretadas por los testículos que proporcionan control de retroalimentación para el hipotálamo y la hipófisis.

La concentración de testosterona fluctúa de una manera circadiana, que refleja los ritmos paralelos de los valores de LH y FSH. Se debe tomar en cuenta este factor en la interpretación de la concentración sanguínea de testosterona. El valor más elevado de testosterona se encuentra alrededor de las 8 a.m. y el más bajo alrededor de las 8 p.m.

Mecanismo celular de la acción de la testosterona

La testosterona ingresa a la célula y se convierte en dihidrotestosterona (DHT). Ésta forma complejo con una proteína receptora intracelular. Este complejo se une al receptor nuclear, que efectúa la síntesis proteica y el crecimiento celular.

Acciones fisiológicas de la testosterona

Desarrollo prenatal. Al comienzo del desarrollo, los embriones cuentan con componentes primordiales en los aparatos genitales de ambos sexos. Las gónadas primitivas se distinguen alrededor de la séptima semana del estado embrionario. Tanto las gonadotropinas coriónicas como la LH fetal estimulan la producción de testosterona por las células de Leyding fetales. La exposición de la testos-

terona al conducto de Wolff propicia la diferenciación de los diversos componentes del aparato genital masculino. Las *células de Sertoli* producen el factor de regresión de Müller, que contribuye a la regresión del aparato genital femenino primordial. La piel escrotal es rica en 5α -reductasa, que convierte la testosterona a DHT. La exposición fetal a fármacos que bloquean esta hormona conduce a la feminización del feto masculino.

Desarrollo posnatal. La función testicular se reactiva durante la pubertad después de un período de inactividad al producir testosterona que ocasiona crecimiento de vello sexual secundario (cara, pecho, axila y pubis); mayor desarrollo esquelético lineal; crecimiento de los genitales internos y externos; aumento de la musculatura corporal superior; y desarrollo de la laringe y de las cuerdas vocales, con profundización de la voz.³⁷⁻³⁹ Los posibles cambios de humor y la agresividad son efectos indeseables que llegan a ocurrir durante la pubertad. Los efectos del crecimiento lineal de la testosterona son finitos, con cierre epifisario cuando se alcanza la altura determinada por factores genéticos. Durante la pubertad, el hipogonadismo conduce a terminación imprecisa de las placas de crecimiento, lo que conlleva a mayor altura, extremidades largas y segmentos del cuerpo superiores e inferiores desproporcionados. Es posible clasificar las características sexuales masculinas secundarias mediante un sistema de desarrollo propuesto por Tanner.

Efectos sobre la espermatogénesis. La estimulación de las células de Leyding induce la producción de testosterona. Ésta, al actuar con la FSH, tiene efectos paracrinos en las células seminíferas y de Sertoli, lo que propicia la espermatogénesis. La concentración intratesticular de testosterona es 50 a 100 veces mayor que la de la sangre periférica. El mantenimiento de un valor intratesticular elevado de testosterona es importante para lograr una espermatogénesis efectiva. El uso excesivo o abuso exógeno (atletas) de la testosterona disminuye la concentración intratesticular elevada, con lo que se reduce la producción de espermatozoides.

Efecto sobre los resultados sexuales secundarios. La testosterona tiene efectos que promueven el crecimiento en varios tejidos blanco. Las características sexuales secundarias que se desarrollan durante la pubertad se conservan en la edad adulta madura por la testosterona.⁹ La exposición del pelo del cuero cabelludo da como resultado la regresión de los folículos del cabello (recesión temporal). La próstata se agranda de manera progresiva durante la edad adulta. La pérdida posterior de las características sexuales secundarias debe indicar la evaluación en busca de hipogonadismo. Las concentraciones bajas de testosterona ocasionan la pérdida de la masa ósea y osteoporosis en hombres de cualquier edad.

Trastornos del desarrollo sexual e hipofunción testicular

El desarrollo puberal llega a ser prematuro (precoz) o retardado, incluso cuando el desarrollo es normal al nacer.^{41,42} Las descripciones detalladas de la secuencia de las anomalías puberales hormonales del vello, los genitales y el pecho está más allá del alcance de este texto. A conti-

nuación se muestran algunas causas relevantes encontradas en la práctica clínica:

Pubertad tardía o hipogonadismo, con aumento de gonadotropinas (FSH u LH, o ambas)

Síndrome de Klinefelter

Insuficiencia gonadal bilateral

Insuficiencia testicular primaria

Anorquia

Desvanecimiento de testículos

Cáncer por agentes citotóxicos

Radiación

Traumatismo

Infección (paperas, orquitis)

Pubertad retardada con concentraciones normales o bajas de FSH u LH, o ambas

Pubertad retardada constitucional^{43,44}

Disfunción hipotalámica

Desnutrición

Enfermedad sistémica crónica

Obesidad grave

Tumores del SNC

Hipopituitarismo

Panhipopituitarismo

Síndrome de Kallmann (anosmia, paladar hendido y reducción de los valores de FSH y LH)

Deficiencia GH aislada

Hiperprolactinemia (inducida por prolactinoma o fármacos)

Hipotiroidismo

Diversas⁴⁴

Síndrome de Prader-Willi

Síndrome de Laurence-Moon

Síndrome de LEOPARD

Síndrome de florecimiento

Neoplasia por gérmenes

Seudohermafroditismo masculino

Ataxia-telangiectasia

Defectos enzimáticos esteroideogénicos

El diagnóstico diferencial de hipogonadismo incluye el anterior grupo grande y diverso de trastornos que afectan los testículos y la regulación hipotalámica-hipofisaria de los testículos. En la siguiente sección se explican ciertos trastornos importantes.

Hipogonadismo hipergonadotrópico

Las características relevantes de este subconjunto de trastornos incluyen testosterona baja junto con concentraciones elevadas de FSH o LH y producción defectuosa de espermatozoides.

Síndrome de Klinefelter. Este trastorno ocurre en alrededor de 1 de cada 400 hombres. Se origina por un cromosoma extra. El cariotipo más frecuente es 47,XY.⁴⁵ Los hombres con síndrome de Klinefelter presentan testículos pequeños (<2.5 cm) y firmes. En ocasiones se observa, también, ginecomastia (agrandamiento del pecho masculino) en el momento del diagnóstico. Debido a la producción reducida de testosterona, los valores de FSH y LH están elevados.

ESTUDIO DE CASO 19-3

Un hombre de 24 años de edad se presenta con antecedente de alergia al polen, que ha sido tratada con antihistaminas; informa disminución del sentido del olfato. Su crecimiento continúa de manera lenta y el desarrollo puberal descende. El hombre niega erecciones o emisiones nocturnas.

PE	Hombre eunucoïdal, aspecto más joven que su edad cronológica
Altura	1.82 m
Alcance de los brazos	1.90 m
Peso	81 kg
BP	130/82
Vello	Facial superficial, axilar y púbico
Genitales	Pene, 3.1 cm (pequeño)
Testículos	Blandos, 1 cm × 1.5 cm × 1.5 cm (normal, >4.5 × 3 cm × 3 cm)

Laboratorio	
Testosterona	157 ng/dl (normal, prepuberal <100; adulto, 300 a 1 000)
LH	<2 mU/ml (normal, prepuberal <5; adulto, 3 a 18)
Prolactina	6 ng/ml (normal, 5 a 25)
TSH	1.2 mU/ml (normal, 0.3 a 5.0)

Estimulación de la GnRH

Tiempo (min)	LH	Normal
0, GnRH	<2 mU/mL	Pre-, <5 Adulto, 3 a 18
15	<2	Post-, 2.5 veces
30	3	Basal hasta
45	<2	cierto
60	3	punto

Después de preparado de GnRH

Tiempo (min)	LH	Normal
0	<2 mU/mL	Pre-, <5 Adulto, 3-18
15	10	Aumento de LH
30	12	mayor de
45	16	2.5 veces
60	12	basal

Tratamiento

Terapia de reemplazo de testosterona
Madurez sexual
Fertilidad deseada posterior

La terapia pulsátil de GnRH produjo un recuento espermático normal en cuatro meses y la esposa del hombre se embarazó.

Preguntas

1. ¿Cuál es el nivel del defecto?
2. ¿Cuál es la importancia de las mediciones corporales?
3. ¿Cuales son las consideraciones del diagnóstico?
4. ¿Cuál(es) prueba(s) deben obtenerse para realizar el diagnóstico?
5. ¿Qué constituye la fertilidad normal?
6. ¿Qué le aconsejaría a este hombre cuando le preguntara si podrá tener niños?

Además, estos pacientes padecen azoospermia y esterilidad resultante. Los pacientes con mosaïcismo tal vez produzcan algunos espermatozoides y se informan embarazos en dichos casos. La elevación de las concentraciones de FSH y LH induce incremento de la actividad de la aromata-sa, lo que produce concentraciones elevadas de estrógenos. Los hombres con síndrome de Klinefelter quizá muestren reducción de la densidad ósea y cáncer de pecho.

Síndrome de feminización testicular. Ésta es la forma más grave del síndrome resistente a andrógenos, que produce falta de acción de la testosterona en el tejido blanco. Como resultado de la ausencia del efecto de la testosterona, el desarrollo físico sigue el fenotipo femenino, con pechos desarrollados por completo, y distribución femenina de grasa y vello. La mayoría de los pacientes se presentan para la evaluación de amenorrea primaria; en ese momento, la

falta de genitales internos femeninos se vuelve evidente. Los testículos a menudo no descienden y no se eliminan de manera oportuna estos órganos, lo que ocasiona transformación maligna. En la evaluación bioquímica se revelan concentraciones normales de testosterona, con valores elevados de FSH y LH. No hay utilidad ni respuesta en la administración de testosterona exógena.

Deficiencia de 5α-reductasa. El genotipo es XY. La disminución de esta enzima genera la reducción de la concentración de testosterona. El desarrollo físico es similar al fenotipo femenino hasta la pubertad, momento en que la actividad residual de la 5α-reductasa convierte suficiente testosterona a dihidrotestosterona, lo que da como resultado el desarrollo del fenotipo masculino.

Distrofia miotónica. La distrofia miotónica es un trastorno hereditario predominantemente autosómico que se

ESTUDIO DE CASO 19-4

Un hombre de 17 años de edad acude con el médico. En un examen físico escolar se encontró menos vello púbico y axilar que sus compañeros; pene y escroto más pequeños; tejido mamario a partir de los 13 años de edad; no hay erecciones ni emisiones nocturnas, tampoco brote de crecimiento adolescente. La longitud de la manga y del pantalón aumenta cada 4 a 6 meses.

PMH, FH	NC
PE	
Altura	1.85 m
Alcance de los brazos	1.87 m
Peso	67 kg
BP	110/70
Pulso	69
Vello	Axilar y púbico escasos
Pecho	Ginecomastia moderada, 3 cm
Genitales	Pene, 4.5 cm
Testes	1.5 × 1 × 1 cm, bilateral (normal, >4.5 × 2.5 × 2.5 cm)

Laboratorio

Testosterona, total	115 ng/dl (normal, 300 a 1 000)
LH	42 mU/ml (normal, adulto, 3-18)
Cariotipo	47, XXY

Preguntas

1. En este caso, ¿en qué nivel es el defecto?
2. ¿Cuáles posibilidades diagnósticas explicarían los datos endocrinos?
3. ¿Cuál(es) tratamiento(s) estarían disponibles para:
 - a) ¿Tratar su deficiencia andrógena?
 - b) ¿Permitirle engendrar niños si es que desea fertilidad?
4. Su aspecto muestra el defecto ocurrido:
 - a) Antes del nacimiento (durante la vida fetal).
 - b) Después del nacimiento (posnatal).

presenta con hipogonadismo, debilidad muscular, calvicie frontal, diabetes y distonía muscular. La insuficiencia testicular aparece en la cuarta década.

Lesión testicular e infección. La orquitis de paperas ocurre en la infección de paperas pospuberal. La orquitis viral también se observa en algunos pacientes. Además, se describe que la infección por VIH destruye los testículos. La radiación y la quimioterapia para cáncer también dañan los testículos.

Síndrome de sólo células de Sertoli. Este trastorno se caracteriza por falta de células germinales. Los pacientes se presentan con testículos pequeños, concentraciones elevadas de FSH, azoospermia y valores normales de testosterona. La biopsia testicular constituye el único procedimiento para confirmar este diagnóstico.

Hipogonadismo hipogonadotrópico

El sello distintivo de este grupo de trastornos es la ocurrencia de concentraciones bajas de testosterona, junto con valores bajos o normales inapropiados de FSH u LH.

Síndrome de Kallmann. El síndrome se origina por un rasgo recesivo hereditario vinculado a X que se manifiesta como hipogonadismo durante la pubertad. La frecuencia de este síndrome es de 1 por cada 10 000 hombres. Los defectos relacionados, como la anosmia (ausencia de sentido del olfato) y defectos de la línea media (labio y paladar hendidos), deben indicar al médico la sospecha de este

trastorno.^{46,47} Ciertos pacientes padecen ceguera al color rojo-verdoso, sordera congénita o disfunción cerebelar.

Hiperprolactinemia. La elevación de la prolactina originada por cualquier causa (inducida por fármacos o tumores productores de prolactina de la hipófisis) llega a ocasionar hipogonadismo hipogonadotrópico.^{48,49}

Edad. Existe reducción gradual de la testosterona después de los 30 años de edad, con una declinación promedio de alrededor de 110 ng/dl cada década. En el *Baltimore Longitudinal Study of Aging* se encontró reducción de las concentraciones de testosterona total de 19% a los 60 años, de 28% a los 70 años y de 49% a los 80 años,^{50,51} con valores de testosterona libre mucho menores en esos pacientes. Además, la edad se relaciona con la elevación de SHBG en alrededor de 1% por año. Los valores de testosterona total tal vez sean normales en hombres de edad avanzada, pero las concentraciones libres (no unidas) de testosterona son indicadores más confiables de la reducción bioquímica. Las características relacionadas con la reducción del crecimiento de vello sexual secundario, la pérdida del volumen y la fuerza musculares y la pérdida de densidad ósea constituyen evidencia corroborativa que indica la falta de efectos tisulares de la testosterona. La deficiencia de la testosterona abarca una constelación de características clínicas de hipogonadismo combinado con concentraciones bajas de testosterona sérica. La combinación de evidencia bioquímica y clínica de testosterona debe indicar la consideración del reemplazo de testosterona en hombres mayores.

Enfermedad hipofisaria. El hipogonadismo adquirido tal vez sea secundario a una lesión en la hipófisis como resultado de tumores, traumatismo quirúrgico, lesión vascular, hipofisitis autoinmunitaria o enfermedad granulomatosa o metastásica. Además, la hemocromatosis es una causa rara de la disfunción hipofisaria.

Diagnóstico del hipogonadismo

Se deben cumplir tanto las características clínicas como las bioquímicas (fig. 19-2). Las concentraciones de testosterona tienen un ritmo circadiano y es necesario tomar en cuenta el momento del muestreo. Se obtendrán varias estimaciones de las concentraciones de testosterona libre y unida en diferentes días antes de realizar el diagnóstico de hipogonadismo.⁵² La distinción entre primario (enfermedad o destrucción de los testículos) contra secundario (enfermedad o destrucción de la hipófisis) es relativamente fácil de establecer. Los valores de FSH u LH, o ambas, son elevados en el hipogonadismo primario y son normales de manera inapropiada o bajos con etiología secundaria. En individuos jóvenes, se llevará a cabo IRM hipofisaria en presencia de hipogonadismo secundario. Las personas de

edad avanzada a menudo presentan disfunción secundaria o terciaria (hipotalámica) como resultado de la reducción de la frecuencia hipotalámica del generador del pulso, lo que produce concentraciones bajas o normales de manera inapropiada de FSH y LH. Los signos y síntomas clínicos (p. ej., pérdida de las características sexuales secundarias, osteoporosis) del hipogonadismo se corroborarán con valores bajos de testosterona, en particular cuando se contemple la terapia de reemplazo de testosterona.

Terapia de reemplazo de testosterona

Las siguientes formas de administración están disponibles para uso clínico en Estados Unidos:

1. **Testosterona parenteral.** Éste es el modo de administración más disponible y rentable (en particular si se aplica por la esposa o pareja). Los ésteres de cipionato y enantato de testosterona están disponibles por inyección intramuscular. El valor máximo se logra en 72 h, con una duración del efecto por un período de una a dos semanas. Cuando la administración semanal proporciona un valor máximo menor o fluctuación en la concentración de testosterona entre rangos normales,

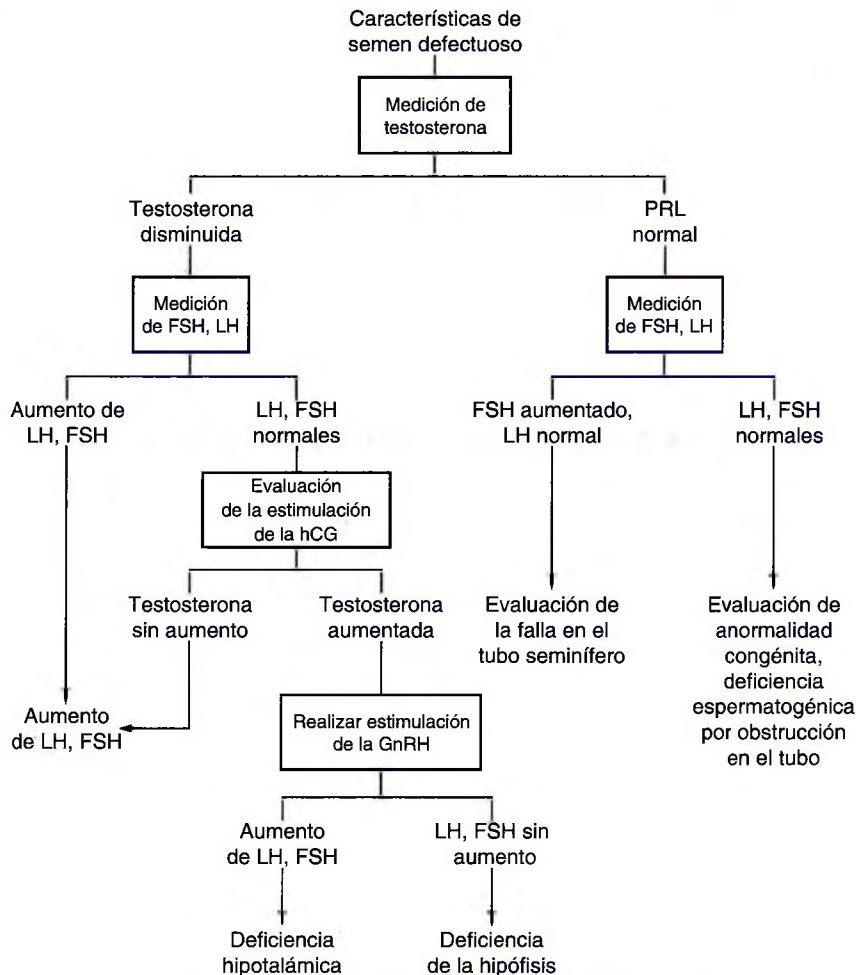


FIGURA 19-2. Evaluación del diagnóstico clínico del hipogonadismo masculino.

la dosis habitual es de 50 a 100 mg cada semana o 200 a 250 mg una vez cada dos semanas. La dosis de la testosterona se basará en la masa corporal magra, no en el peso corporal. Esto se logra a menudo al administrar una dosis estándar de testosterona, con aumentos de dosis menores basados en el punto medio estimado de los valores de testosterona sérica entre dos inyecciones. El objetivo es mantener este punto medio en el nivel de los rangos normales del análisis que se está utilizando.

2. **Terapia de testosterona transdérmica.** Este modo de administración proporciona más valores fisiológicos de testosterona. El parche tiene permeabilidad reforzada para ayudar en la absorción de la testosterona a través de la piel normal. La posible irritación de la piel a menudo limita su uso.
3. **Parche escrotal.** La piel escrotal es delgada y absorbe testosterona con facilidad. Este modo de administración conduce a concentraciones elevadas de dihidrotestosterona como resultado de la conversión mediada por 5α -reductasa, en la que la piel escrotal es rica. Ésta debe afeitarse según se requiera para contribuir a la adhesión del parche, que es en lo que tal vez ciertos pacientes no estén de acuerdo. Los pacientes con síndrome de Klinefelter con frecuencia presentan un saco escrotal desarrollado de manera deficiente que no es lo bastante grande para ajustarse al tamaño del parche.
4. **Testosterona en gel.** Esta preparación de gel hidroalcohólico se aplica a la piel no genital una vez al día. La absorción es gradual y proporciona una concentración sanguínea de testosterona en el rango normal por 24 h. La preocupación principal con esta preparación es la posible transmisión a parejas femeninas o niños en contacto estrecho con la piel.
5. **Preparaciones orales.** En la actualidad, el uso de este modo de administración se desalienta debido a las

complicaciones hepáticas potenciales. Se han descrito anomalías de la función hepática, formación de adenoma y desarrollo de quistes hemorrágicos en el hígado. Una preparación particular disponible en Europa, el éster undecenoato de testosterona, se absorbe dentro de la circulación linfática, desviando de forma directa la circulación portal hepática.

Las complicaciones del reemplazo de testosterona son las siguientes:

- Policitemia.
- Agrandamiento de la próstata.
- Posible efecto promotor del crecimiento en cáncer preexistente de próstata no diagnosticado.
- Empeoramiento de la apnea del sueño.
- Edema periférico.

Monitoreo de la terapia de reemplazo de testosterona

El antígeno específico de la próstata (AEP), el recuento sanguíneo y las concentraciones lipídicas se vigilarán durante tres a seis meses después del reemplazo de testosterona. La evaluación clínica de edema de la pierna, empeoramiento de la apnea del sueño y agrandamiento de la próstata también se recomienda de manera rutinaria. Además, el uso farmacológico de la testosterona reducirá la cifra de espermatozoides al disminuir la concentración de la testosterona intracelular que es varias veces mayor que la concentración sérica. Si se observa elevación del AEP después del reemplazo de la testosterona, se recomienda la evaluación de la próstata con posible biopsia. El cáncer de próstata activo constituye una contraindicación para el reemplazo de la testosterona.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Si los valores séricos de estradiol no aumentan después de la inyección de gonadotropina coriónica humana, el paciente padece:
 - a) Deficiencia hipofisaria.
 - b) Deficiencia ovárica primaria.
 - c) Deficiencia ovárica terciaria.
 - d) Deficiencia ovárica secundaria.
2. Si un paciente presenta un defecto de la fase lútea, ¿cuál hormona es más probable que sea deficiente?
 - a) Estrógeno.
 - b) hCG.
 - c) FSH.
 - d) Prolactina.
 - e) Progesterona.
3. ¿Cuál de los siguientes es el precursor de la formación de estradiol en la placenta?
 - a) Testosterona maternal.
 - b) Progesterona maternal.
 - c) hCG placentaria.
 - d) Colesterol suprarrenal fetal.
 - e) DHEAS suprarrenal fetal.
4. ¿Cuál de los siguientes tejidos blanco es incapaz de producir hormonas esteroideas?
 - a) Placenta.
 - b) Ovario.
 - c) Testículo.
 - d) Corteza suprarrenal.
 - e) Médula suprarrenal.

5. La sustancia madre en la biosíntesis de andrógenos y estrógenos es:
 - a) Cortisol.
 - b) Catecolaminas.
 - c) Progesterona.
 - d) Colesterol.
6. El andrógeno natural con mayor actividad biológica es:
 - a) Androstenediona.
 - b) Dehidroepiandrosterona.
 - c) Epiandrosterona.
 - d) Testosterona.
7. Durante las últimas tres semanas, las concentraciones de estradiol sérico de una mujer embarazada aumentaron de manera constante. Esto es consistente con:
 - a) Un embarazo normal.
 - b) Enfermedad hemolítica del recién nacido.
 - c) Muerte fetal.
 - d) Infección de citomegalovirus congénita.
8. ¿Cuál de las siguientes se secreta por la placenta y se utiliza para la detección temprana del embarazo?
 - a) Hormona foliculoestimulante (FSH).
 - b) Gonadotropina coriónica humana (hCG).
 - c) Hormona luteinizante (LH).
 - d) Progesterona.
9. El dolor metabólico fetal crónico está demostrado por:
 - a) Disminución del estrógeno en el plasma materno y aumento del líquido amniótico de estriol.
 - b) Aumento de estradiol en el plasma materno, con incremento correspondiente de estriol en el líquido amniótico.
 - c) Incremento de la excreción de estriol urinario y aumento del estradiol sérico materno.
 - d) Disminución de la excreción de estriol urinario y disminución del estriol sérico materno.
10. La secreción de andrógeno por los testículos es estimulada por:
 - a) Hormona luteinizante (LH).
 - b) Hormona foliculoestimulante (FSH).
 - c) Testosterona.
 - d) Gonadotropinas.

REFERENCIAS

1. Sherman BM, West JH, Korenman SG. The menopausal transition: analysis of LH, FSH, estradiol, and progesterone concentrations during menstrual cycles of older women. *J Clin Endocrinol Metab* 1976;42:629–636.
2. Gougeon A. Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results. *Hum Reprod* 1986;1:81–87.
3. Jost A, Vigier B, Prepin J, Perchellet JP. Studies on sex differentiation in mammals. *Recent Prog Horm Res* 1973;29:1–41.
4. Filicori M, Santoro N, Merriam GR, Crowley WF Jr. Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:1136–1144.
5. Taylor AE, Whitney H, Hall JE, Martin K, Crowley WF Jr. Midcycle levels of sex steroids are sufficient to recreate the follicle-stimulating hormone but not the luteinizing hormone midcycle surge: evidence for the contribution of other ovarian factors to the surge in normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1541–1547.
6. Klein NA, Battaglia DE, Miller PB, Branigan EF, Giudice LC, Soules MR. Ovarian follicular development and the follicular fluid hormones and growth factors in normal women of advanced reproductive age. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1946–1951.
7. Peters H, Byskov AG, Grinsted J. Follicular growth in fetal and prepubertal ovaries of humans and other primates. *Clin Endocrinol Metab* 1978;7:469–485.
8. Apter D, Cacciatore B, Alfthan H, Stenman UH. Serum luteinizing hormone concentrations increase 100-fold in females from 7 years to adulthood, as measured by time-resolved immunofluorometric assay. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68:53–57.
9. Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child* 1969;44:291–303.
10. Santoro N, Filicori M, Crowley WF Jr. Hypogonadotropic disorders in men and women: diagnosis and therapy with pulsatile gonadotropin-releasing hormone. *Endocr Rev* 1986;7:11–23.
11. Hatch R, Rosenfield RL, Kim MH, Tredway D. Hirsutism: implications, etiology, and management. *Am J Obstet Gynecol* 1981;140:815–830.
12. McKenna TJ. Screening for sinister causes of hirsutism. *N Engl J Med* 1994;331:1015–1016.
13. Nestler JE, Jakubowicz DJ. Decreases in ovarian cytochrome P450c17 alpha activity and serum free testosterone after reduction of insulin secretion in polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med* 1996;335:617–623.
14. O'Driscoll JB, Mamtara H, Higginson J, Pollock A, Kane J, Anderson DC. A prospective study of the prevalence of clear-cut endocrine disorders and polycystic ovaries in 350 patients presenting with hirsutism or androgenic alopecia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994;41:231–236.
15. Welt CK, McNicholl DJ, Taylor AE, Hall JE. Female reproductive aging is marked by decreased secretion of dimeric inhibin. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:105–111.
16. Stanford JL, Hartge P, Brinton LA, Hoover RN, Brookmeyer R. Factors influencing the age at natural menopause. *J Chronic Dis* 1987;40:995–1002.
17. Groff TR, Shulkin BL, Utiger RD, Talbert LM. Amenorrhea-galactorrhea, hyperprolactinemia, and suprasellar pituitary enlargement as presenting features of primary hypothyroidism. *Obstet Gynecol* 1984;63:86S–89S.
18. Warren MP, Vossoughian F, Geer EB, Hyle EP, Adberg CL, Ramos RH. Functional hypothalamic amenorrhea: hypoleptinemia and disordered eating. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:873–877.
19. Saenger P. Turner's syndrome. *N Engl J Med* 1996;335:1749–1754.
20. Timmreck LS, Reindollar RH. Contemporary issues in primary amenorrhea. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2003;30:287–302.
21. Feichtinger W, Kemeter P, Salzer H, Friedrich F. Functional and hormonal differences between group I and group II amenorrhea (WHO classification) (author's transl). *Wien Klin Wochenschr* 1981;93:186–193.

22. Reindollar RH, Novak M, Tho SP, McDonough PG. Adult-onset amenorrhea: a study of 262 patients. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 155:531–543.
23. Reindollar RH, Byrd JR, McDonough PG. Delayed sexual development: a study of 252 patients. *Am J Obstet Gynecol* 1981;140: 371–380.
24. Wise PM, Krajnak KM, Kashon ML. Menopause: the aging of multiple pacemakers. *Science* 1996;273:67–70.
25. Meldrum DR, Abraham GE. Peripheral and ovarian venous concentrations of various steroid hormones in virilizing ovarian tumors. *Obstet Gynecol* 1979;53:36–43.
26. Chlebowski RT, Hendrix SL, Langer RD, et al. Influence of estrogen plus progestin on breast cancer and mammography in healthy postmenopausal women: the Women's Health Initiative Randomized Trial. *JAMA* 2003;289:3243–3253.
27. Stjernquist M. After the early termination of the Women's Health Initiative study. New American recommendations for postmenopausal hormone therapy. *Lakartidningen* 2003;100:1790–1797.
28. Wassertheil-Smoller S, Hendrix SL, Limacher M, et al. Effect of estrogen plus progestin on stroke in postmenopausal women: the Women's Health Initiative: a randomized trial. *JAMA* 2003;289: 2673–2684.
29. Rapp SR, Espeland MA, Shumaker SA, et al. Effect of estrogen plus progestin on global cognitive function in postmenopausal women. The Women's Health Initiative Memory Study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003;289:2663–2672.
30. Shumaker SA, Legault C, Thal L, et al. Estrogen plus progestin and the incidence of dementia and mild cognitive impairment in postmenopausal women. The Women's Health Initiative Memory Study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003;289: 2651–2662.
31. Pines A. Lessons from the Women's Health Initiative (WHI) using hormone replacement therapy with regard to heart disease—the dream that has been broken? *Harefuah* 2003;142:163–165, 240.
32. Dewing P, Bernard P, Vilain E. Disorders of gonadal development. *Semin Reprod Med* 2002;20:189–198.
33. Sharpe RM, McKinnell C, Kivlin C, Fisher JS. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction* 2003;125: 769–784.
34. Goncharova ND, Lapin BA, Khavinson V. Age-associated endocrine dysfunctions and approaches to their correction. *Bull Exp Biol Med* 2002;134:417–421.
35. Grumbach MM. The neuroendocrinology of human puberty revisited. *Horm Res* 57 2002;Suppl 2:2–14.
36. Tong S, Wallace EM, Burger HG. Inhibins and activins: clinical advances in reproductive medicine. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003; 58:115–127.
37. Labrie F. Extragonadal synthesis of sex steroids: intracrinology. *Ann Endocrinol (Paris)* 2003;64:95–107.
38. Hiort O, Holterhus PM. Androgen insensitivity and male infertility. *Int J Androl* 2003;26:16–20.
39. Lee DK, Chang C. Molecular communication between androgen receptor and general transcription machinery. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2003;84:41–49.
40. Santoro N, Filicori M, Crowley WF Jr. Hypogonadotropic disorders in men and women: diagnosis and therapy with pulsatile gonadotropin-releasing hormone. *Endocr Rev* 1986;7:11–23.
41. Sultan C, Gobinet J, Terouanne B, et al. The androgen receptor: molecular pathology. *J Soc Biol* 2002;196:223–240.
42. Sultan C, Lumbroso S, Paris F, et al. Disorders of androgen action. *Semin Reprod Med* 2002;20:217–228.
43. Kelly BP, Paterson WF, Donaldson MD. Final height outcome and value of height prediction in boys with constitutional delay in growth and adolescence treated with intramuscular testosterone 125 mg per month for 3 months. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;58: 267–272.
44. Zachmann M. Therapeutic indications for delayed puberty and hypogonadism in adolescent boys. *Horm Res* 1991;36:141–146.
45. Styne DM. Puberty and its disorders in boys. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1991;20:43–69.
46. Seminara SB, Hayes FJ, Crowley WF Jr. Gonadotropin-releasing hormone deficiency in the human (idiopathic hypogonadotropic hypogonadism and Kallmann's syndrome): pathophysiological and genetic considerations. *Endocr Rev* 1998;19:521–539.
47. Labhart A. Male sex hormones and their derivatives. Pathophysiology and therapy. *Fortschr Med* 1978;96:2029–2034.
48. Heaton JP, Morales A. Endocrine causes of impotence (nondiabetes). *Urol Clin North Am* 2003;30:73–81.
49. Walsh JP, Pullan PT. Hyperprolactinaemia in males: a heterogeneous disorder. *Aust N Z J Med* 1997;27:385–390.
50. Harman SM, Metter EJ, Tobin JD, Pearson J, Blackman MR. Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men. Baltimore Longitudinal Study of Aging. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:724–731.
51. Morley JE. Androgens and aging. *Maturitas* 2001;38:61–71; discussion, 71–73.
52. Korenman SG, Morley JE, Mooradian AD, et al. Secondary hypogonadism in older men: its relation to impotence. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:963–969.

LECTURAS RECOMENDADAS

- Goldmann M. Basic Clinical Endocrinology.
 Becker. Textbook in Endocrinology.
 William's Textbook in Endocrinology.
 Degroot's Textbook in Endocrinology.
 Hypogonadism Guidelines. *Endocr Prac* 2002;8(6):455.
 Harrison's Textbook of Medicine.
 Meikle, AW. Androgen replacement therapy of male hypogonadism. In: Endocrine Replacement in Clinical Practice. Therapy. Ottawa, NJ: Humana Press, 333–368.

Función de la glándula tiroides

Daniel H. Knodel

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

■ LA TIROIDES

Anatomía y desarrollo de la tiroides
Síntesis de la hormona tiroidea
Unión proteica de la hormona tiroidea
Control de la función de la tiroides
Acciones de la hormona tiroidea

■ PRUEBAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA TIROIDES

Pruebas sanguíneas

■ OTROS INSTRUMENTOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA TIROIDES

Evaluación por medicina nuclear
Ultrasonido de la tiroides
Aspiración con aguja fina

■ TRASTORNOS DE LA TIROIDES

Hipotiroidismo
Tirotoxicosis

Enfermedad de Graves

Adenomas tóxicos y bocios multinodulares

■ DISFUNCIÓN DE LA TIROIDES INDUCIDA POR FÁRMACOS

Enfermedad de la tiroides inducida por amiodarona
Tiroiditis subaguda

■ ENFERMEDAD NO TIROIDEA

■ NÓDULOS TIROIDEOS

■ RESUMEN

■ PREGUNTAS DE REPASO

■ REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Analizar la biosíntesis, la secreción, el transporte y la acción de las hormonas tiroideas.
- Conocer la ubicación de la glándula tiroides.
- Describir el eje hipotalámico-hipofisario-tiroideo y cómo regula la producción de la hormona tiroidea.
- Explicar los principios de cada una de las pruebas de la función tiroidea que se estudian.

- Correlacionar la información de laboratorio con respecto a los trastornos tiroides sospechados, establecidos los datos clínicos del paciente.
- Describir el protocolo apropiado de prueba de laboratorio de la función tiroidea para utilizarlo en la evaluación o la vigilancia efectiva de pacientes con sospecha de enfermedad tiroidea.

TÉRMINOS CLAVE

Anticuerpos receptores de TSH

Células foliculares

Eje hipotalámico-hipofisario-tiroideo

Enfermedad de Graves

Glándulas paratiroides

Globulina de unión con tiroxina (GUT)

Hipertiroidismo

Hipertiroidismo subclínico

Hipotiroidismo

Hipotiroidismo subclínico

Hormona liberadora de tirotropina (TRH)

Peroxidasa tiroidea

(POT)

Prealbúmina de unión con tiroxina (PAUT)

T₄ libre

Tiroglobulina

Tiroiditis subaguda

Tirotoxicosis

Tirotropina (TSH)

Tiroxina (T₄)

Triyodotironina (T₃)

LA TIROIDES

La glándula tiroides es responsable de la producción de dos hormonas: tiroidea y calcitonina; la última se secreta por células C parafoliculares y participa en la homeostasis del calcio. La hormona tiroidea es crítica en la regulación del metabolismo corporal, el desarrollo neurológico y otras numerosas funciones corporales. Desde el punto de vista clínico, los trastornos que afectan las concentraciones de la hormona tiroidea son mucho más frecuentes y constituyen el tema principal de este capítulo.

Anatomía y desarrollo de la tiroides

La glándula tiroides se localiza en la parte anterior inferior del cuello y tiene forma similar a la de una mariposa. Se divide en dos lóbulos, uno a cada lado de la tráquea. Una franja de tejido tiroideo, denominada istmo, sirve de puente entre los lóbulos. Debajo de la glándula tiroides se encuentran las *glándulas paratiroides* (responsables del equilibrio del calcio) y los nervios laríngeos recurrentes (inervación para las cuerdas vocales). Estas estructuras tardías adquieren gran importancia durante la cirugía de la tiroides, cuando es necesario tener cuidado para evitar lesión e hipocalcemia resultante o ronquera permanente, respectivamente.

La tiroides fetal se desarrolla a partir del recubrimiento de la parte anterior del intestino a la base de la lengua, y emigra a su localización normal sobre el cartílago tiroideo en las primeras 4 a 8 semanas de gestación. Para la semana 11 de gestación, la glándula tiroides comienza a producir cantidades cuantificables de hormona tiroidea.¹ Ésta resulta crítica para el desarrollo neurológico del feto. El yodo es un componente esencial de la hormona tiroidea. En partes del mundo donde existe deficiencia grave de yodo, ni la madre ni el feto llegan a producir hormona tiroidea y ambos desarrollan hipotiroidismo. El impacto es más importante en la descendencia porque el *hipotiroidismo* conduce a retardo mental y cretinismo. Donde la deficiencia de yodo no es un problema, surgen otras complicaciones con el desarrollo de la tiroides. Por ejemplo, 1 de cada 4 000 niños nace con hipotiroidismo congénito.² Si la madre tiene función tiroidea normal, el feto será protegido durante el desarrollo por cantidades pequeñas de hormona tiroidea materna que atraviesan la placenta. Sin embargo, inmediatamente después del parto es necesario que estos recién nacidos comiencen a recibir dosis apropiadas de hormona tiroidea o, de lo contrario, su desarrollo neurológico se verá dañado en gran medida. En el mundo desarrollado, se realizan pruebas de valoración en todos los recién nacidos para diagnosticar hipotiroidismo congénito y prevenir complicaciones catastróficas a través de la institución oportuna de la terapia de la hormona tiroidea.

Síntesis de la hormona tiroidea

La hormona tiroidea se compone en su mayor parte del oligoelemento yodo.¹ Con esto en mente, resulta comprensible que el metabolismo del yodo juegue un papel clave en la función de la tiroides. El yodo se encuentra en

mariscos, productos lácteos, panes enriquecidos con este elemento y vitaminas; es importante en el cuidado de la salud, también está presente en elevadas concentraciones en el medio de contraste utilizado para visualizar arterias en cauterizaciones del corazón y exámenes de tomografía por computadora (TC) y en la amiodarona, un medicamento empleado para tratar ciertos problemas cardíacos. La ingesta mínima recomendada de yodo es de 150 µg/día, aunque la mayoría de la gente de países desarrollados consume mucho más de esta cantidad. Si la ingesta de yodo cae por debajo de 50 µg/día, la glándula tiroides será incapaz de producir cantidades adecuadas de hormona tiroidea, por lo que sobrevendrá la deficiencia de esta hormona: el *hipotiroidismo*.³

Las células tiroides están organizadas en folículos. Éstos son esferas de células tiroides que rodean un núcleo de una sustancia viscosa denominada *coloide*. El principal componente del coloide es la *tiroglobulina*, una glucoproteína producida de manera exclusiva por las *células foliculares* de la tiroides. La tiroglobulina es rica en el aminoácido tiroxina. Algunos de estos residuos tiroxilos son yodados, lo que proporciona bloques de construcción de la hormona tiroidea. En el lado externo del folículo, el yodo se transporta de manera activa en la célula tiroides por el transportador Na^+/I^- localizado en la membrana basamental. Dentro de la célula tiroides, el yodo se difunde a través de la célula al lado apical del folículo, lo que finaliza el núcleo del coloide. Aquí, el yodo concentrado, catalizado por una enzima de unión con la membrana denominada *peroxidasa tiroidea* (TPO), se oxida y se une con los residuos tiroxilos en la tiroglobulina. Esto ocasiona la producción de monoyodotironina (MIT) y diyodotironina (DIT). Esta misma enzima ayuda, también, al acoplamiento de dos residuos tiroxilos para formar *triyodotironina* (T_3) (un residuo MIT + un residuo DIT) o *tetrayodotironina* (T_4) (dos residuos de DIT). Éstas son las dos formas activas de la hormona tiroidea. Esta matriz de la tiroglobulina, con ramificaciones que sostienen ahora T_4 y T_3 , se almacena en el núcleo del folículo tiroideo. La *hormona estimulante de la tiroides* (TSH) señala la célula folicular para ingerir una gota microscópica de coloide por endocitosis. Dentro de la célula folicular, estas gotas se digieren por lisosomas intracelulares dentro de T_4 , T_3 y otros productos.³ Luego la T_4 y T_3 se secretan por la célula tiroides en la circulación (fig. 20-1).

La actividad de la hormona tiroidea depende de la localización y el número de átomos de yodo. Alrededor de 80% de T_4 se metaboliza en T_3 (35%) o rT_3 (45%). La deiodinación del anillo exterior de T_4 (5'-deiodinación) conduce a la producción de 3,5,3'-triyodotironina (T_3). La T_3 tiene actividad metabólica de tres a ocho veces mayor que T_4 y a menudo se le considera la forma activa de la hormona tiroidea, en tanto la T_4 es la "pre" hormona (con tiroglobulina como la "prohormona"). Sin embargo, la deiodinación del anillo interno de T_4 origina la producción de reserva con inactividad metabólica T_3 (rT_3) (fig. 20-2).

Existen tres formas de 5'-deiodinasa. El tipo 1,5'-deiodinasa, la más abundante, se encuentra de manera primordial en el hígado y en el riñón, y es responsable de

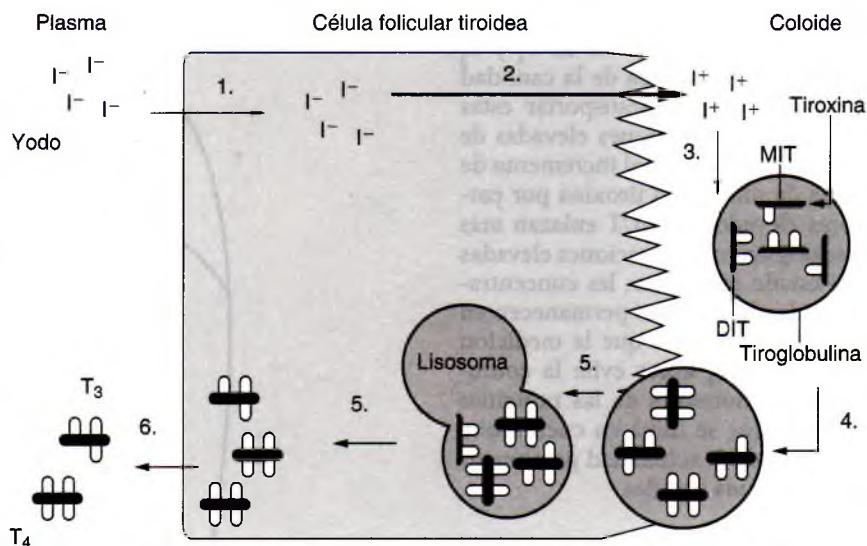


FIGURA 20-1. Biosíntesis de la hormona tiroidea. La síntesis de la hormona tiroidea incluye los siguientes pasos: (1) yodo (I^-) atrapado por células foliculares; (2) difusión de yodo al ápice de la célula y transporte en el coloide; (3) oxidación del yodo inorgánico a yodo e incorporación del yodo en los residuos de tiroxina dentro de moléculas de tiroglobulina en el coloide; (4) combinación de dos moléculas de diyodotiroxina (DIT) para formar tetrayodotironina (tiroxina, T_4), o de monoyodotiroxina (MIT) con DIT para formar triyodotironina (T_3); (5) captación de tiroglobulina a partir del coloide en la célula folicular por endocitosis, fusión de la tiroglobulina con un lisosoma y proteólisis y liberación de T_4 y T_3 ; (6) liberación de T_4 y T_3 en la circulación.

la contribución más grande al depósito circulante de T_3 . Ciertos fármacos (p. ej., propiltiouracil, glucocorticoides y propranolol) llegan a retardar la actividad de esta deyodinasa y se utilizan en el tratamiento de hipertiroidismo grave. El tipo 2,5'-deyodinasa se encuentra en el cerebro y la hipófisis. Su función es mantener constantes las concentraciones de T_3 en el sistema nervioso central. Su actividad disminuye cuando los valores circulantes de T_4 son elevados y se incrementa cuando las concentraciones son bajas. La actividad de las enzimas de deyodinación

proporciona otro nivel de control en la actividad de la hormona tiroidea distinto al control hipotalámico-hipofisario por medio de la TRH y TSH (fig. 20-2).¹

Unión proteica de la hormona tiroidea

Cuando se libera en la circulación, sólo 0.04% de la T_4 y 0.4% de la T_3 no se unen a proteínas y están disponibles para la actividad hormonal. Las tres principales proteínas de unión son, en orden de importancia, la globulina

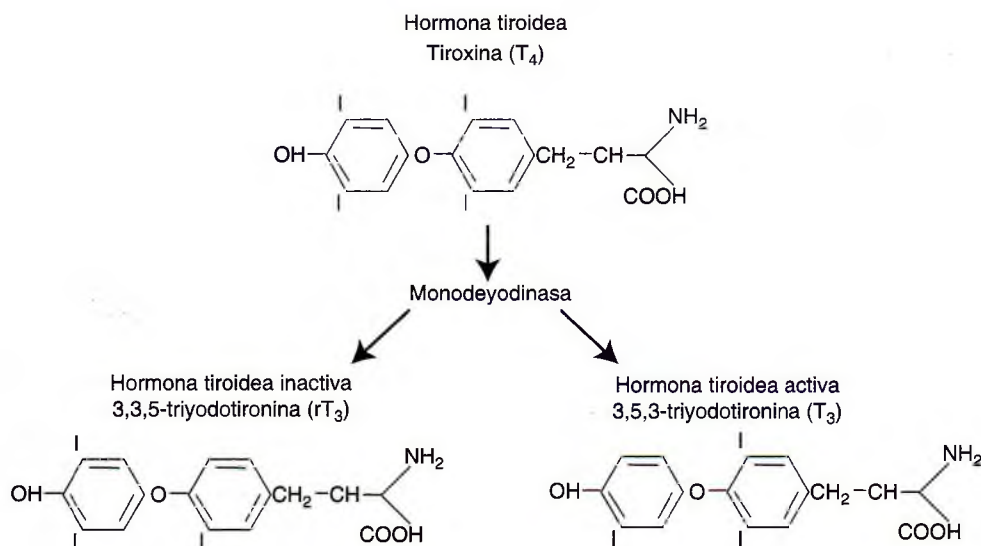


FIGURA 20-2. Metabolismo de la tiroxina.

de unión a la tiroxina (GUT), la prealbúmina de unión a la tiroxina (PAUT) y la albúmina. La cantidad de T_4 y T_3 en la circulación depende en gran medida de la cantidad de proteína de unión disponible para transportar estas hormonas. Por ejemplo, las concentraciones elevadas de estrógeno durante el embarazo conducen al incremento de la producción de proteína de unión a la tiroxina por parte del hígado. Los valores elevados de GUT enlazan más hormona tiroidea, lo que origina concentraciones elevadas de T_3 y T_4 totales. En el estado eutiroides, las concentraciones de la hormona tiroidea libre activa permanecen en el rango normal. Puesto que es posible que la medición de las concentraciones de T_3 y T_4 libres evite la confusión causada por los valores anormales de las proteínas de unión, las pruebas en las que se toma en cuenta este hecho constituyen la elección de la actualidad para medir las concentraciones de la hormona tiroidea.

Control de la función de la tiroides

La clave para interpretar de manera adecuada la prueba de la función de la tiroides radica en la comprensión del eje hipotalámico-hipofisario-tiroideo. La función de este eje es regular la producción de la hormona tiroidea. La hormona liberadora de tirotropina (TRH) se sintetiza por las neuronas de los núcleos supraóptico y supraventricular del hipotálamo y se almacena en la eminencia media del hipotálamo. Cuando se secreta, esta hormona estimula células de la hipófisis anterior para producir y liberar tirotropina (TSH). La TSH, a su vez, circula a la glándula tiroides e induce aumento de la producción y liberación de la hormona tiroidea. Cuando el hipotálamo y la hipófisis perciben que existe una cantidad inadecuada de hormona tiroidea en la circulación, se incrementa la secreción de TRH y TSH, y se origina aumento de la producción de la hormona tiroidea. Si las concentraciones de hormona tiroidea son elevadas, se inhibirá la liberación de TRH y TSH, lo que conduce a menor producción de la hormona tiroidea. Este ciclo de retroalimentación requiere que el hipotálamo, la hipófisis y la tiroides tengan función normal, además de ausencia de agentes que imiten la acción de la TSH (fig. 20-3).

Acciones de la hormona tiroidea

La hormona tiroidea circula en el flujo sanguíneo. La T_3 y T_4 libres están disponibles para viajar a través de la membrana celular. En el citoplasma, la T_4 es deiodinada a T_3 , la hormona tiroidea activa. La T_3 se combina con su receptor nuclear en los genes que responden a la hormona tiroidea, lo que conduce a la producción del mensajero RNA y luego, a su vez, las proteínas que influyen en el metabolismo y el desarrollo. Los efectos de la hormona tiroidea incluyen el crecimiento del tejido, la maduración del cerebro, el aumento en la producción de calor, el incremento en el consumo de oxígeno, y la elevación de la cantidad de receptores β -adrenérgicos. Desde el punto de vista clínico, los pacientes con exceso de hormona tiroidea (tirotoxicosis) tendrán síntomas de metabolismo elevado. Los pacientes con hipotiroidismo informan síntomas de metabolismo bajo.

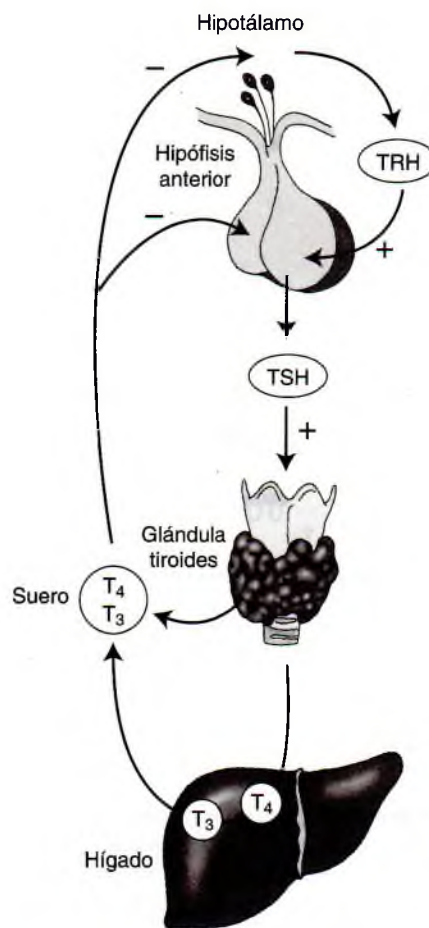


FIGURA 20-3. Eje hipotalámico-hipofisario-tiroideo. La hormona liberadora de tirotropina (TRH) estimula la producción y liberación de tirotropina (TSH). La TSH estimula la glándula tiroides para sintetizar y secretar hormona tiroidea. La T_4 que se libera por la glándula tiroides se convierte en su mayor parte en T_3 por el hígado y el riñón. La retroalimentación de T_3 y T_4 inhibe la liberación de TSH de manera directa a través de la acción en la hipófisis y de forma indirecta por disminución de la liberación de TRH a partir del hipotálamo. (Modificado de Surks MI y Sievert R, *Drugs and thyroid function*, N Engl J Med, 1995;333:1688.)

PRUEBAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA TIROIDES

Pruebas sanguíneas

TSH

La prueba más útil para evaluar la función de la tiroides es la de la TSH. A través de los años, se desarrollaron tres generaciones de análisis. Todos diagnostican hipotiroidismo primario (enfermedad de la glándula tiroides que conduce a baja producción de la hormona tiroidea) con elevadas concentraciones de TSH. Los análisis inmunométricos de TSH de segunda generación, con límites de detección de 0.1 mU/L, detectan de manera efectiva el hipertiroidismo. Sin embargo, es menos probable que las pruebas quimioluminométricas de TSH de tercera generación, con límites de detección de 0.01, proporcionen resultados falsos negativos. Además, dichas pruebas cuentan con mayor precisión para distinguir entre un paciente con hipertiroidismo y otro con eutiroidismo. Los análisis de TSH de segunda y tercera generaciones

se utilizan de manera rutinaria para vigilar y ajustar la terapia de reemplazo de la hormona tiroidea, así como para valorar hipertiroidismo e hipotiroidismo.⁴ Nuestra confianza en estas pruebas dio lugar a un aumento de nuevos diagnósticos ante grados leves de disfunción tiroidea, a lo que se le denomina *enfermedad subclínica*. En el *hipotiroidismo subclínico*, la TSH muestra una elevación mínima, en tanto la T_4 es normal. En el *hipertiroidismo subclínico*, la TSH se suprime, en tanto la T_4 es normal. El valor del análisis de TSH se basa en el hecho de que pequeños cambios en las concentraciones de T_4 libre (a menudo dentro del rango normal) inducen un importante cambio recíproco en la cifra de TSH.⁵

T_4 y T_3 séricos

Por lo general, los valores séricos totales de T_4 y T_3 son por radioinmunoanálisis (RIA), análisis quimioluminométrico o técnica inmunométrica similar. Debido a que más de 99.9% de la hormona tiroidea se une a proteína, las alteraciones en las proteínas de unión a la hormona tiroidea, sin relación con la enfermedad tiroidea, a menudo conducen a valores de T_3 total y T_4 totales fuera del rango normal. Por esta razón, se realizan esfuerzos para desarrollar análisis que midan la T_4 y T_3 libres, las formas con actividad biológica de la hormona tiroidea.⁶ Por desgracia, los equipos disponibles en la actualidad tienen limitaciones en la medición de las concentraciones de T_4 libre. Es decir, muestran dificultad para proporcionar valores precisos de T_4 libre a través de todas las anomalías de proteínas de unión conocidas.⁷ A pesar de estas desventajas, los equipos de T_4 libre reemplazaron las determinaciones de T_4 total en el ámbito clínico, debido a su facilidad de interpretación y menor costo de procesamiento. Sin embargo, los equipos que sirven para calcular las concentraciones de T_3 libre también cuentan con desventajas teóricas puesto que su utilidad clínica aún está por definirse con claridad.

Tiroglobulina

La tiroglobulina es sintetizada y secretada de manera exclusiva por las células foliculares tiroideas. Esta prohormona en la circulación demuestra la presencia de tejido tiroideo residual, sea benigno o maligno. Este hecho hace que la tiroglobulina sea un indicador ideal de tumor para pacientes con cáncer de la tiroides. Los pacientes con cáncer de la tiroides bien establecido, que recibieron tratamiento de manera exitosa con cirugía y ablación con yodo radiactivo, tal vez presenten concentraciones indetectables de tiroglobulina.

En la actualidad, la tiroglobulina se mide por métodos de radioinmunoanálisis (RIA) de doble anticuerpo, inmunoanálisis ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés), análisis inmunoradiométrico (IRMA, por sus siglas en inglés) y análisis inmunoquimioluminiscente (ICMA, por sus siglas en inglés). La precisión del análisis de tiroglobulina depende sobre todo de la especificidad del anticuerpo utilizado y la ausencia de autoanticuerpos antitiroglobu-

lina. Incluso con análisis modernos, los autoanticuerpos antitiroglobulina conducen a resultados de tiroglobulina poco confiables. Por esta razón, resulta de importancia crítica la valoración de anticuerpos siempre que se mida la tiroglobulina. Si están presentes anticuerpos, el valor del análisis de tiroglobulina es marginal. Alrededor de 25% de los pacientes con cáncer tiroideo bien establecido presentarán autoanticuerpos antitiroglobulina. Esto es alrededor de dos veces más elevado que en la población general. Cuando a un paciente con cáncer tiroideo bien diferenciado y autoanticuerpos antitiroglobulina se le trata de manera exitosa con cirugía y ablación con yodo radioactivo, se espera que los autoanticuerpos desaparezcan con el tiempo.⁴

Autoinmunidad de la tiroides

Muchas enfermedades de la glándula tiroides se relacionan con procesos autoinmunitarios. En la enfermedad de la tiroides autoinmunitaria, los anticuerpos se dirigen al tejido tiroideo con respuestas variables. La causa más frecuente de hipertiroidismo es una enfermedad autoinmunitaria denominada *enfermedad de Graves*. El anticuerpo de este trastorno se dirige al receptor de TSH y estimula al receptor, lo que origina el crecimiento de la glándula tiroides y la producción de cantidades excesivas de hormona tiroidea. Es posible diagnosticar esta afección con pruebas que detectan anticuerpos en el receptor de la TSH. En los anticuerpos estimuladores de la tiroides (TSAb, TSI) se utiliza un bioanálisis para determinar la presencia de hipertiroidismo autoinmunitario. Las pruebas para los *anticuerpos del receptor de la TSH* (TRAb, TSHR-Ab) detectan el anticuerpo del receptor de la TSH sea que actúen para estimular o bloquear el receptor de la TSH. Ambos tipos de análisis con anticuerpos serán positivos en 70 a 100% de los pacientes con enfermedad de Graves. La tiroiditis linfocítica crónica se encuentra en el otro extremo del proceso autoinmunitario. Se trata de la causa más frecuente de hipotiroidismo en el mundo desarrollado. En este trastorno, los anticuerpos propician el descenso de la producción de la hormona tiroidea por la glándula tiroides. La mejor prueba para esta afección es el anticuerpo de la peroxidasa tiroidea, que se encuentra presente en 10 a 15% de la población general, y en 80 a 99% de los pacientes con hipotiroidismo autoinmunitario (cuadro 20-1).

OTROS INSTRUMENTOS PARA LA EVALUACION DE LA TIROIDES

Evaluación por medicina nuclear

El yodo radiactivo es útil en la evaluación de la actividad metabólica del tejido de la tiroides y contribuye a la evaluación y el tratamiento del cáncer de la tiroides. Cuando el yodo radiactivo se administra de manera oral, la glándula tiroides capta un porcentaje de la dosis. A este porcentaje se le denomina captación de yodo radiactivo (CYRA). La captación ele-

CUADRO 20-1. PREVALENCIA DE LOS ANTICUERPOS DE LA TIROIDES

ANTICUERPO	POBLACIÓN GENERAL	ENFERMEDAD DE GRAVES	HIPOTIROIDISMO AUTOINMUNITARIO
Antiglobulina	3%	12 a 30%	35 a 60%
Peroxidasa tiroidea (antes, anticromosómica)	10 a 15%	45 a 80%	80 a 99%
Receptor anti-TSH	1 a 2%	70 a 100%	6 a 60%

vada sugiere que la glándula presenta actividad metabólica y produce cantidades importantes de hormona tiroidea. La captación baja sugiere que la glándula tiene inactividad metabólica. Debido a que la TSH estimula la captación de yodo por la glándula tiroides, es importante interpretar la tomografía en conjunción con esta prueba de la función de la tiroides. Una TSH indetectable debe suprimir la captación de yodo por parte de la glándula tiroides. Cuando la captación es elevada, con una TSH indetectable, la tiroides actúa de manera autónoma (sin tomar en cuenta el sistema de retroalimentación habitual) o a través de un sustituto de la TSH. En el caso de la enfermedad de Graves, una inmunoglobulina activa el receptor de la TSH sobre la glándula tiroides, lo que conduce a índices elevados de producción de la hormona tiroidea y CYRA elevada. La concentración alta de hormona tiroidea en la circulación se retroalimenta en la hipófisis y el hipotálamo, lo que suprime la TSH. Por desgracia, esto no tiene efecto en la inmunoglobulina estimulante de la tiroides (sustituto de la TSH). Si la TSH es indetectable con captación baja de yodo radiactivo, el diagnóstico diferencial incluye ingestión oral excesiva de hormona tiroidea, consumo elevado de yodo o un trastorno en el que la hormona tiroidea almacenada se está fugando de la glándula tiroides (por lo general a partir de una causa de *tiroiditis subaguda*).

El yodo radiactivo es útil, también, en la evaluación de los nódulos tiroideos seleccionados. Es poco probable que los nódulos de la tiroides que captan cantidades importantes de yodo radiactivo en las tomografías de la tiroides (nódulos calientes) representen cáncer tiroideo. Por desgracia, lo opuesto no contiene la verdad. La mayor parte de los nódulos tiroideos son fríos o indeterminados en la tomografía de la tiroides e incluso la mayor parte son benignos.

Ultrasonido de la tiroides

Los ultrasonidos de la tiroides se volvieron más importantes en las valoraciones de la anatomía de la tiroides y en la determinación de las características de cualquier anomalía palpable de la tiroides. Los ultrasonidos de la tiroides sirven para detectar pequeños nódulos tiroideos, a menudo sin importancia desde el punto de vista clínico. En hasta 50% de las glándulas tiroideas normales, se observan nódulos tiroideos pequeños (<1 cm).

Aspiración con aguja fina

La biopsia de la tiroides por aspiración con aguja fina (AAF) a menudo constituye el primer paso y es el instrumento más preciso en la evaluación de los nódulos tiroides. El uso rutinario de la biopsia por AAF permite la identificación y el tratamiento oportunos de malignidades tiroideas y evita cirugías innecesarias en la mayoría de los pacientes con lesiones benignas de la tiroides. En este procedimiento, se coloca a los pacientes agujas de calibre pequeño insertadas en los nódulos, en tanto las células se aspiran para evaluación citológica.

TRASTORNOS DE LA TIROIDES

Hipotiroidismo

Una de las enfermedades más frecuentes de la glándula tiroides es el hipotiroidismo. Este trastorno se diagnostica

por una concentración baja de T₄ libre (en hipotiroidismo primario o central) o TSH elevada (en hipotiroidismo primario), o ambas. Los síntomas de hipotiroidismo varían, lo que depende del grado de hipotiroidismo y de la velocidad de su desarrollo (cuadro 20-2). Cuando la hormona tiroidea disminuye en gran medida, se informan síntomas de intolerancia al frío, fatiga, piel seca, estreñimiento, ronquera, disnea en el ejercicio, disfunción cognoscitiva, pérdida de cabello y aumento de peso. En el examen físico, es posible que los pacientes con hipotiroidismo grave presenten temperatura corporal baja, movimientos lentos, bradicardia, retraso en la fase de relajación de los reflejos del tendón profundo, decoloración amarilla de la piel (debido a la hipercarotenemia), pérdida de cabello, hipertensión diastólica, efusiones pleurales y pericárdicas, irregularidades menstruales e hinchazón periorbital.

El hipotiroidismo conduce a varias anomalías. En presencia de concentraciones inapropiadas de hormona antidiurética, tal vez ocasione hiponatremia.⁹ Además, el hipotiroidismo importante llega a producir miopatía y cifras elevadas de creatina fosfoquinasa (CPK).¹⁰ También se observa anemia en el hipotiroidismo.¹¹ La etiología de la anemia es resultado de la demanda mas baja en la capacidad de transporte de oxígeno o bien a través de anemia perniciosa autoinmunitaria asociada. Asimismo, es posible que el hipotiroidismo conduzca a hiperlipidemia,¹² en especial cuando la TSH es mayor a 10 mU/L. En un estudio se documentó que el 4.2% de los pacientes con hiperlipidemia padecía hipotiroidismo.¹³ En otro estudio se informó que más de la mitad de los pacientes con hipotiroidismo pade-

CUADRO 20-2. SÍNTOMAS Y SIGNOS DEL HIPOTIROIDISMO

SÍNTOMAS	SIGNOS
Intolerancia al frío	Movimientos y lenguaje lentos
Disnea en el ejercicio	Retraso en la relajación de los reflejos del tendón
Aumento de peso	Bradicardia
Disfunción cognoscitiva	Carotenemia
Retardo mental (niños)	Piel tosca
Estreñimiento	Cara hinchada y pérdida de cejas
Falta de crecimiento	Edema periorbital
Piel seca	Agrandamiento de la lengua
Ronquera	Hipertensión diastólica
Edema	Efusiones pleurales y pericárdicas
Mialgia y parestesia	Ascitis
Depresión	Galactorrea
Menorragia	
Artralgia	
Retraso puberal	

ESTUDIO DE CASO 20-1

Una mujer de 24 años de edad presenta dos meses de posparto con síntomas de hipertiroidismo. No se observa evidencia de oftalmopatía de Graves. Su concentración de TSH es indetectable y la T_4 libre está dos veces por arriba del límite superior normal.

Preguntas

1. ¿Cuáles son las posibles causas de su tirotoxicosis?
2. ¿Cuáles pruebas serán útiles para determinar la causa de la tirotoxicosis?

cían hipercolesterolemia. En todos los trastornos ya mencionados (hiponatremia, concentraciones elevadas de CPK inexplicables, anemia, hiperlipidemia), es prudente evaluar la presencia de hipotiroidismo como causa secundaria.

Es posible clasificar al hipotiroidismo en enfermedad primaria, secundaria o terciaria, de acuerdo a si el defecto se localiza en la glándula tiroides, la hipófisis, el hipotálamo, respectivamente (cuadro 20-3). En países desarrollados, la causa más frecuente de hipotiroidismo es por tiroiditis linfocítica crónica, o tiroiditis de Hashimoto. Ésta es una enfermedad autoinmunitaria de la glándula tiroides, que a menudo se le relaciona con el agrandamiento de la glándula tiroides (bocio). El examen del anticuerpo POT será positivo en 80 a 99% de pacientes con tiroiditis linfocítica crónica. Otras causas frecuentes de hipotiroidismo incluyen deficiencia de yodo, cirugía de la tiroides y tratamiento con yodo radiactivo. Ciertos fármacos llegan a causar hipotiroidismo (cuadro 20-3). En ocasiones, los pacientes experimentarán hipotiroidismo transitorio relacionado con inflamación de la glándula tiroides. Entre los ejemplos de hipotiroidismo transitorio se encuentran recuperación de enfermedad no tiroidea y de la fase hipotiroidea de una de las formas de tiroiditis subaguda (dolorosa, posparto y sin dolor).

El hipotiroidismo es frecuente: 5 a 15% de mujeres mayores de 65 años de edad lo presentan. Por esta razón, varias organizaciones recomiendan evaluaciones periódicas rutinarias de la función de la tiroides en mujeres.^{14,15}

El hipotiroidismo se trata con terapia de reemplazo de la hormona tiroidea. La levotiroxina (T_4) es el tratamiento de elección. En el hipotiroidismo primario, el objetivo de la terapia es lograr una TSH normal. Cuando el hipotiroidismo es de origen hipofisario o hipotalámico (hipotiroidismo secundario o terciario), las concentraciones de TSH no serán útiles en el control del trastorno y una concentración media normal de T_4 se vuelve el objetivo de la terapia. La levotiroxina tiene una vida media de alrededor de siete días. Cuando las dosis de la hormona tiroidea se cambian, es importante esperar cuando menos cinco vidas medias antes de reconfirmar las pruebas de la función de la tiroides para lograr un nuevo estado estable.

Tirotoxicosis

La tirotoxicosis es un complejo de hallazgos que se producen cuando el tejido periférico está presente con exceso de hormona tiroidea y responde a él. La tirotoxicosis se origina por ingesta excesiva de hormona tiroidea, pérdida de la hormona tiroidea almacenada de la reserva de los folículos tiroideos o producción excesiva de la glándula tiroides de la hormona tiroidea. A esta última forma de tirotoxicosis se le denomina *hipertiroidismo*. Las manifestaciones de tirotoxicosis varían, lo que depende del grado de elevación de la hormona tiroidea y del estado del paciente. Por lo general, los síntomas incluyen ansiedad; fragilidad emocional; debilidad; temblor; palpitaciones; intolerancia al calor; aumento de la transpiración; y pérdida de peso, a pesar de apetito normal o mayor (cuadro 20-4).

Enfermedad de Graves

La *enfermedad de Graves* es la causa más frecuente de tirotoxicosis. Se trata de un trastorno autoinmunitario en el que se producen anticuerpos que activan el receptor de TSH. Las características de la enfermedad de Graves incluyen tirotoxicosis, bocio, oftalmopatía (cambios en

CUADRO 20-3. ETIOLOGÍA DEL HIPOTIROIDISMO

	TRASTORNO	COMENTARIOS
Primaria	Tiroiditis linfocítica crónica	TPOAb o TgAb son positivos en 80 a 99% de los pacientes
	Tiroides de yodo radiactivo para bocio tóxico	Los antecedentes son clave para el diagnóstico
	Tiroidectomía subtotal para bocio tóxico	Los antecedentes y el examen físico (cicatriz del cuello) son claves para el diagnóstico
	Ingesta excesiva de yodo	Los antecedentes y el yodo urinario son útiles para el diagnóstico
	Tiroiditis subaguda (con dolor, sin dolor o posparto)	El hipotiroidismo por lo general es transitorio
Secundaria	Hipopituitarismo	Causado por adenoma hipofisario, terapia de radiación hipofisaria o destrucción hipofisaria.
Terciaria	Disfunción hipotalámica	Raro

CUADRO 20-4. SÍNTOMAS Y SIGNOS DE LA TIROTOXICOSIS

SÍNTOMAS	SIGNOS
Nerviosismo, irritabilidad, inquietud, reducción del periodo de atención, problemas de conducta	Taquicardia
Temblor	Temblor fino
Palpitaciones	Piel caliente, húmeda, sonrojada, lisa
Fatiga o debilidad, disminución en la tolerancia al ejercicio	Retraso en el parpadeo, hendiduras palpebrales ensanchadas
Pérdida de peso con buen apetito	Agrandamiento de la tiroides
Hiperdefecación	Reflejos rápidos
Intolerancia al calor y transpiración	Debilidad muscular, atrofia
Cambio menstrual; por lo general oligomenorrea	Dermopatía (enfermedad de Graves)
Masa en el cuello	Oftalmopatía (enfermedad de Graves)
Prominencia de ojos	
Debilidad muscular	

los ojos relacionados con inflamación e infiltración del tejido periorbital) y dermopatía (cambios en la piel en las extremidades inferiores que tienen una textura de cáscara de naranja). Existe una fuerte disposición familiar para la enfermedad de Graves: 15% de los pacientes tendrá un pariente cercano con este trastorno. Es cinco veces más probable que las mujeres desarrollen este trastorno que los hombres. Por lo general, en las pruebas de laboratorio se documentará una concentración elevada de T_4 y T_3 libres, así como TSH indetectable. Los anticuerpos receptores de TSI y TSH suelen ser positivos en esta enfermedad. La CYRA será elevada, en tanto la tomografía de la tiroides mostrará captación difusa (cuadro 20-5).

La oftalmopatía de Graves tal vez resulte bastante problemática.¹⁶ Alrededor de 20 a 25% de los pacientes con hipertiroidismo de Graves presentan oftalmopatía de Graves obvia desde el punto de vista clínico. Con pruebas más sen-

sibles, como la tomografía por computadora (TC) orbital o las imágenes de resonancia magnética (IRM), la mayoría de los pacientes con hipertiroidismo de Graves tienen oftalmopatía.¹⁷ Entre los hallazgos de la oftalmopatía de Graves se encuentran inflamación de tejido blando orbital, inyección de la conjuntiva, proptosis (protrusión frontal del ojo, secundaria a la infiltración de músculos y grasa retroorbitales), visión doble (secundaria a la afección del músculo orbital y fibrosis) y enfermedad de la córnea (a menudo relacionada con dificultad para cerrar los párpados). El tratamiento de la oftalmopatía de Graves es controversial. En ocasiones, los pacientes requieren descompresión quirúrgica de las órbitas para prevenir daño al nervio óptico y ceguera.

La enfermedad de la tiroides relacionada con enfermedad de Graves es tratada con medicamentos, yodo radiactivo o cirugía. Al principio, la mayoría de los pacientes tirotóxicos reciben tratamiento con β -bloqueadores para controlar los síntomas del exceso adrenérgico, como temblor y taquicardia. Es posible agregar propiltiouracilo (PTU) o metimazol (MMI) para inhibir la biosíntesis y secreción de la hormona tiroidea.¹⁸ Además, estos medicamentos presentan efectos inmunomoduladores en la enfermedad autoinmunitaria subyacente, lo que ayuda a promover la remisión del trastorno después de varios meses de terapia. En Estados Unidos, los índices de remisión a largo plazo varían, pero por lo general se encuentran entre 20 y 50%. Al parecer es más probable que se logre remisión en mujeres que en hombres. Del mismo modo, los pacientes con bocios pequeños e hipertiroidismo leve tienen más probabilidad de lograr la remisión. El yodo dietético bajo aumenta la posibilidad de permanencia de la remisión a largo plazo. Los pacientes que experimentan dicha remisión no requieren terapia con reemplazo de la hormona tiroidea.

Cuando se utiliza yodo radiactivo o cirugía, el objetivo es destruir o eliminar suficiente tejido tiroideo para que el paciente se vuelva hipotiroideo. Por lo general se requiere tratamiento subsiguiente de por vida con terapia de reemplazo de la hormona tiroidea. La terapia con yodo radiac-

ESTUDIO DE CASO 20-2

A una mujer de 67 años de edad se le prescribe tratamiento para hiperlipidemia. Su colesterol y triglicéridos son elevados, a pesar del tratamiento con medicamentos reductores de lípidos. Se observa que padece pérdida de cabello (porta una peluca) y ronquera en su voz. Se queja de intolerancia al frío y fatiga.

Preguntas

1. ¿Qué estudio sería útil para valorar la enfermedad tiroidea?
2. ¿Qué tratamiento recomendaría?
3. ¿Qué otras anomalías de laboratorio son frecuentes en pacientes con hipotiroidismo, además de hiperlipidemia y pruebas de función tiroidea anormal?

CUADRO 20-5. TRASTORNOS RELACIONADOS CON LA TIROTOXICOSIS

	TRASTORNO	MECANISMO PATOGENICO	NIVEL DE TSH	CAPTACIÓN DE YODO RADIACTIVO (CYRA)	OTRAS PRUEBAS IMPORTANTES PARA EL DIAGNÓSTICO
Hipertiroidismo	Enfermedad de Graves	Anticuerpos receptores de TSH	Disminuido	Aumentado	TRAb, TSI positivo Imagen en tomografía tiroidea
	Adenoma tóxico	Tumor benigno	Disminuido	Aumentado	Imagen en tomografía tiroidea
	Bocio multinodular tóxico	Focos de autonomía funcional	Disminuido	Aumentado	Imagen en tomografía tiroidea
	Estados de exceso de TSH	Tumor hipofisario secretor de TSH	Elevado de manera inapropiada	Aumentado	IRM de hipófisis
Sin hipertiroidismo	Tiroiditis dolorosa	Pérdida de hormona tiroidea	Disminuido	Disminuido	Tg elevada de manera inapropiada
	Tiroiditis posparto	Pérdida de hormona tiroidea, base autoinmunitaria	Disminuido	Disminuido	Anticuerpos de POT por lo general elevados
	Ingestión de hormona	Hormona en alimentos o medicamentos	Disminuido	Disminuido	
	Tejido tiroideo ectópico	Metástasis funcional del tumor tiroideo; estruma ovárico	Disminuido	Disminuido	Tomografía de la tiroides

tivo se ha utilizado para el tratamiento de la enfermedad de Graves durante más de 50 años, y suele ser segura y efectiva. La cirugía está relacionada con riesgo de lesión del nervio laríngeo recurrente, lo que ocasiona ronquera permanente o lesión a las glándulas paratiroides, o ambas, con lo que se origina hipocalcemia secundaria a hipoparatiroidismo. Existen dos situaciones en la enfermedad de Graves en las que se prefiere la cirugía sobre otras formas de terapia. Si hay preocupación de que el paciente padezca cáncer tiroideo además de enfermedad de Graves, la cirugía constituye la mejor manera de asegurar la eliminación del cáncer potencial. En pacientes con oftalmopatía grave, algunos expertos en el control de la enfermedad de Graves prefieren la cirugía debido a la preocupación de que el tratamiento con yodo radiactivo cause un destello agudo relacionado con problemas del ojo.

Adenomas tóxicos y bocios multinodulares

Los adenomas tóxicos y bocios multinodulares son dos causas relativamente frecuentes de hipertiroidismo. Estos trastornos se originan por tejido tiroideo de función autónoma. No se requieren TSH ni inmunoglobulina estimulante del receptor de TSH para estimular la producción de la hormona tiroidea. En algunos nódulos tóxicos, se identifican mutaciones. Estas mutaciones tienen el mismo efecto que la estimulación crónica del receptor de la TSH en la producción de la hormona tiroidea. Desde el punto de vista clínico, en pacientes con hipertiroidismo están presentes adenomas tóxicos y un nódulo tiroideo palpable. En la tomografía de

la tiroides, los nódulos son “calientes”, es decir, captan yodo radiactivo con avidez. Además, la captación de yodo radiactivo es elevada de manera inapropiada para el nivel suprimido de la TSH. En bocios multinodulares tóxicos, hay varias áreas dentro de la glándula tiroides que producen de manera autónoma hormona tiroidea. El tratamiento para estos dos trastornos incluye cirugía, yodo radiactivo o medicamentos (MMI o PTU). Aunque es posible que los medicamentos bloqueen la producción de hormona tiroidea en estos pacientes, no se espera que conduzcan a la remisión de estos dos trastornos. A menudo, los nódulos tóxicos producen tanta hormona tiroidea que el resto de la glándula tiroidea está suprimida e inactiva desde el punto de vista metabólico. Cuando se administra yodo radiactivo, éste tiende a destruir sólo las porciones hiperactivas (autónomas) de la glándula tiroidea, lo que deja sin daño el tejido tiroideo normal (suprimido). Los pacientes que reciben este tipo de tratamiento a menudo quedan con función normal de la tiroides sin necesidad de terapia de reemplazo de la hormona tiroidea.

DISFUNCIÓN DE LA TIROIDES INDUCIDA POR FÁRMACOS

Enfermedad de la tiroides inducida por amiodarona

Varios fármacos, como el PTU y metimazol, afectan la función tiroidea. La amiodarona, utilizada para tratar arritmias cardíacas, es uno de estos fármacos.¹⁹ Es soluble en grasa y, por tanto, tiene una larga vida media (50 días) en el cuerpo.

El hecho de que 37% del peso molecular de la amiodarona sea yodo explica una parte importante de la disfunción tiroidea observada. El yodo, cuando se administra en dosis grandes, conduce de manera sutil a la inhibición de la producción de la hormona tiroidea. A esto se le denomina efecto de Wolff-Chaikoff. La amiodarona también bloquea la conversión de T_4 a T_3 . La combinación de estas dos acciones produce hipotiroidismo en 8 a 20% de los pacientes en terapia crónica. Además, la amiodarona origina hipertiroidismo en 3% de los pacientes tratados de manera crónica con esta medicación. Ciertos pacientes desarrollan hipertiroidismo a medida que eluden el efecto de Wolff-Chaikoff y utilizan el exceso de yodo para la producción de la glándula tiroides. Otros desarrollan hipertiroidismo si la medicación conduce a inflamación de la glándula tiroides (tiroiditis subaguda) y pérdida subsiguiente de la hormona tiroidea almacenada en la circulación.

Tiroiditis subaguda

Varios trastornos ocasionan cambios transitorios en las concentraciones de la hormona tiroidea.²⁰ Estos trastornos están relacionados con inflamación de la glándula tiroides, pérdida de la hormona tiroidea almacenada y reparación posterior de la glándula. Aunque la nomenclatura varía entre autores, donde algunos agrupan juntas a la tiroiditis posparto, no dolorosa y dolorosa como formas de tiroiditis subaguda, se trata de uno de los esquemas de clasificación más sencillos. Estos trastornos a menudo se vinculan con una fase tirotóxica cuando se pierde hormona tiroidea de la circulación, con una fase hipotiroidea cuando la glándula tiroides se repara por sí misma y con una fase eutiroidea cuando la glándula es reparada. Estas fases llegan a durar de semanas a meses.

La tiroiditis posparto es la forma más frecuente de tiroiditis subcutánea. Ocurre en 3 a 16% de las mujeres posparto.²¹ Se relaciona en gran medida con los anticuerpos POT y la tiroiditis linfocítica crónica. Los pacientes quizá experimenten tirotoxicosis seguida por hipotiroidismo o sólo hipotiroidismo o hipertiroidismo. Por lo general, las concentraciones de hormona tiroidea regresan a lo normal después de varios meses; sin embargo, durante cuatro años después del parto, 25 a 50% de las pacientes presenta hipotiroidismo persistente o bocio, o ambos.²² Durante la fase tirotóxica, es posible utilizar β -bloqueadores si es que el tratamiento es necesario. Durante la fase hipotiroidea, se puede administrar la terapia de reemplazo de la hormona tiroidea, por lo general durante tres a seis meses, a menos que evolucione el hipotiroidismo permanente. La fase tirotóxica de este trastorno, así como otras formas de tiroiditis subaguda, se distingue de la enfermedad de Graves por una CYRA baja y ausencia de anticuerpos receptores de TSI o TSH. La tiroiditis indolora o linfocítica subaguda comparte muchas características de la tiroiditis posparto, excepto que no hay embarazo asociado.

La tiroiditis dolorosa, también denominada *granulomatosa subaguda*, *tiroiditis no supurativa subaguda* o *tiroiditis de Quervain*, se caracteriza por dolor del cuello, fiebre de bajo grado, mialgia, bocio difuso delicado y oscilaciones

en pruebas de la función de la tiroides (como ya se analizó). Se piensa que las infecciones virales desencadenan este trastorno. Por lo general, los anticuerpos POT están ausentes; el índice de sedimentación eritrocita y las concentraciones de tiroglobulina a menudo son elevadas.

ENFERMEDAD NO TIROIDEA

Los pacientes hospitalizados, en especial aquellos con enfermedad crítica, a menudo presentan anomalías en sus pruebas de la función tiroidea. Por lo general, el patrón de laboratorio consta de T_4 , FT_4 y (algunas veces) TSH bajas. Debido a que la enfermedad disminuye la actividad de la 5'-monodeyodinas, se convierte menos T_4 a T_3 activa. Esto conduce a reducción de las concentraciones de T_3 y mayores valores de T_3 inversa. Al parecer también hay un elemento de hipotiroidismo central y cambios de unión de la hormona tiroidea relacionados con enfermedad grave. Se cree que muchos de estos cambios son una adaptación apropiada a la enfermedad, y la terapia de reemplazo de la hormona tiroidea no está indicada.

NÓDULOS TIROIDEOS

Los nódulos tiroideos son comunes. En clínica, los nódulos tiroideos evidentes están presentes en 6.4% de mujeres adultas y en 1.5% de hombres adultos, de acuerdo con los datos de Framingham.²³ Con el ultrasonido tiroideo se localizan nódulos tiroideos insospechados en 20 a 45% de las mujeres, y 17 a 25% de los hombres.²⁴ La principal preocupación con los nódulos tiroideos es que tal vez representan un cáncer tiroideo. Por fortuna, sólo en 5 a 9% de los nódulos tiroideos se demuestra que se trata de cáncer tiroideo. La aspiración con aguja fina (AAF) de estos nódulos, con examen citológico del aspirado, se ha vuelto una práctica rutinaria para ayudar a diferenciar los nódulos que requieren extirpación quirúrgica de aquellos que no la necesitan.²⁵

RESUMEN

La glándula tiroides es responsable de la producción de la hormona tiroidea. Se producen dos tipos de hormonas tiroideas con actividad metabólica: la T_4 y T_3 . La mayor parte de la T_4 liberada por la glándula tiroides se convierte en la periferia a T_3 con actividad metabólica. Estas hormonas son críticas en la regulación del metabolismo corporal, el desarrollo neurológico y otras numerosas funciones corporales. La deficiencia de la hormona tiroidea es frecuente, y por lo general se diagnostica con una TSH elevada en pruebas de laboratorio. Los pacientes con este trastorno a menudo presentan síntomas relacionados con un metabolismo lento. La tirotoxicosis es resultado del exceso de hormona tiroidea. Desde el punto de vista clínico, los pacientes con este trastorno tienen valores indetectables de TSH y cifras elevadas de T_3 y T_4 libre. Las afecciones tiroideas tienden a ser muy tratables. Es importante estar familiarizado con los síntomas, las pruebas de diagnóstico y los algoritmos de tratamiento de la enfermedad tiroidea.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Todas las siguientes afirmaciones sobre el yodo son verdaderas, EXCEPTO:
 - a) La deficiencia de yodo es una de las causas más frecuentes de hipotiroidismo en el mundo.
 - b) La T_4 tiene cuatro moléculas de yodo.
 - c) El tratamiento con yodo radiactivo de la enfermedad de Graves es efectivo en menos de 40% de los pacientes tratados con este agente.
 - d) La captación de yodo radiactivo a menudo es útil en la determinación de la causa de tirotoxicosis.
2. El feto:
 - a) Es dependiente de la hormona tiroidea para el desarrollo neurológico normal.
 - b) No desarrolla la glándula tiroides hasta el tercer trimestre.
 - c) No es susceptible de daño por terapia de yodo radiactivo proporcionada a la madre.
 - d) Nacerá con hipotiroidismo en alrededor de 1 de cada 400 nacimientos en países desarrollados.
3. La glándula tiroides:
 - a) Es una trampa de yodo ineficaz.
 - b) Depende de la peroxidasa tiroidea (POT) para permitir la yodinación de los residuos de tirosil para producir MIT y DIT.
 - c) Depende la peroxidasa tiroidea (POT) para permitir la unión de dos residuos de DIT para formar T_3 .
 - d) Por lo general funciona de manera independiente con los valores de TSH.
4. La glándula tiroides produce todas las siguientes, EXCEPTO:
 - a) TSH.
 - b) Tiroglobulina.
 - c) T_3 .
 - d) T_4 .
5. Por lo general, el hipotiroidismo se relaciona con todos los siguientes, EXCEPTO:
 - a) Aumento de peso.
 - b) Elevación de las concentraciones de TSH.
 - c) Anticuerpos POT.
 - d) Anticuerpos receptores de TSH.
6. Una mujer de 34 años de edad presenta bocio, taquicardia, y pérdida de peso de dos meses de duración. La TSH es indetectable y la T_4 libre es elevada. Todas las siguientes pruebas son útiles en el diagnóstico de la causa del hipertiroidismo, EXCEPTO:
 - a) Anticuerpos receptores de TSH.
 - b) CYRA.
 - c) Biopsia por aspiración con aguja fina de la glándula tiroides.
 - d) TSH.
7. Una mujer de 65 años de edad presenta fatiga, hipotermia, efusiones pericárdicas y pérdida de cabello. En las pruebas de función de la tiroides se muestra una TSH bastante elevada y una T_4 libre baja. Todas las siguientes anomalías de pruebas de laboratorio se relacionan con su enfermedad subyacente, EXCEPTO:
 - a) Concentración elevada de colesterol.
 - b) Anemia.
 - c) Concentraciones elevadas de CPK.
 - d) WBC elevada.
8. Un hombre de 26 años de edad presenta un nódulo de 3 cm en el lóbulo derecho y una TSH normal. ¿Cuál es la próxima prueba que debe realizarse?
 - a) AAF del nódulo.
 - b) Valor de T_4 libre.
 - c) Ultrasonido de la tiroides.
 - d) Tomografía de la tiroides.
9. Las siguientes son opciones de tratamiento para hipertiroidismo relacionado con enfermedad de Graves, EXCEPTO:
 - a) PTU.
 - b) β -bloqueadores.
 - c) Yodo radiactivo.
 - d) Hormona tiroidea.
10. Todas las siguientes anomalías se esperan en un paciente con enfermedad grave, EXCEPTO:
 - a) T_4 baja.
 - b) T_3 baja.
 - c) TSH baja.
 - d) T_3 inversa baja.

REFERENCIAS

1. Greenspan FS. The thyroid gland. In: Greenspan FS, Strewler GJ, eds. Basic & Clinical Endocrinology, 5th ed. New York: Appleton & Lange, 1997.
2. Lavin L. Manual of Endocrinology, 2nd ed. Boston: Little, Brown & Co., 1994:395.
3. Utiger TD. Thyroid hormone synthesis and physiology. www.UpToDate.com, online 11.1, 2002.
4. Ross DS. Laboratory assessment of thyroid function. www.UpToDate.com, online 11.1, 2002.
5. Spencer CA, LoPresiti JS, Patel A, et al. Applications of a new chemiluminometric thyrotropin assay to subnormal measurement. J Clin Endocrinol Metab 1990;70(2):453-460.
6. Ekins R. The free hormone hypothesis and measurement of free hormones (editorial). Clin Chem 1992;38(7):1289-1293.

7. Wong TK, Pekary AE, Hoo GS, et al. Comparison of methods for measuring free thyroxine in nonthyroidal illness. *Clin Chem* 1992; 38(5):720-724.
8. Tan GH, Gharib H. Thyroid incidentalomas: management approaches to nonpalpable nodules discovered incidentally on thyroid imaging. *Ann Intern Med* 1997;126:226.
9. Skowsky WR, Kikuchi TA. The role of vasopressin in the impaired water excretion of myxedema. *Am J Med* 1987;64(4): 613-621.
10. Khaleeli AA, Gohil K, McPhail G, et al. Muscle morphology and metabolism in hypothyroid myopathy: effects of treatment. *J Clin Pathol* 1983;36(5):519-526.
11. Green ST, Ng JP. Hypothyroidism and anaemia. *Biomed Pharmacother* 1986;40(9):326-331.
12. Diekman T, Lansberg PJ, Kastelein JJ, Wiersinga WM. Prevalence and correction of hypothyroidism in a large cohort of patients referred for dyslipidemia. *Arch Intern Med* 1995;155(14):1490-1495.
13. O'Brien T, Dinneen SF, O'Brien PC, Palumbo PJ. Hyperlipidemia in patients with primary and secondary hypothyroidism. *Mayo Clin Proc* 1993;68(9):860-866.
14. American College of Physicians. Clinical Guideline, Part 1. Screening for thyroid disease. *Ann Intern Med* 1998;129(2): 141-143.
15. Ladenson PW, Singer PA, Ain KB, et al. American Thyroid Association guidelines for detection of thyroid dysfunction. *Arch Intern Med* 2000;160(11):1573-1575.
16. Burch HB, Wartofsky L. Graves' ophthalmopathy: current concepts regarding pathogenesis and management. *Endocr Rev* 1993;14(6):747-793.
17. Villadolid MC, Yokoyama N, Izumi M, et al. Untreated Graves' disease patients without clinical ophthalmopathy demonstrate a high frequency of extraocular muscle (EOM) enlargement by magnetic resonance. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80(9):2830-2833.
18. Solomon BL, Evald JE, Burman KD, Wartofsky L. Remission rates with antithyroid drug therapy: continuing influence of iodine intake? *Ann Intern Med* 1987;107(4):510-512.
19. Nademanee K, Singh BN, Callahan B, et al. Amiodarone, thyroid hormone indexes, and altered thyroid function: long-term serial effects in patients with cardiac arrhythmias. *Am J Cardiol* 1986; 58(10):981-986.
20. Burman KD. Overview of thyroiditis. www.UpToDate.com, online 11.1, 2002.
21. Gerstein HC. How common is postpartum thyroiditis? A methodologic overview of the literature. *Arch Intern Med* 1990;150(7): 1397-1400.
22. Othman S, Phillips DI, Parkes AB, et al. A long-term follow-up of postpartum thyroiditis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1990;32(5): 559-564.
23. Vander JB, Gaston EA, Dawber TG. The significance of nontoxic thyroid nodules. *Ann Intern Med* 1968;69:537.
24. Brander A, Viikinkoski P, Nickels J, et al. Thyroid gland: US screening in a random adult population. *Radiology* 1991;181:683.
25. Ezzat S, Sarti DA, et al. Thyroid incidentalomas: prevalence by palpation and ultrasonography. *Arch Intern Med* 1994;154:1838.
26. Gharif H. Changing concepts in the diagnosis and management of thyroid nodules. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1997;26:777.

Función paratiroidea y control de la homeostasis del calcio

Thomas P. Knecht y Lauren E. Knecht

CAPÍTULO

21

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

■ HOMEOSTASIS DEL CALCIO

Control hormonal del metabolismo del calcio

■ FISIOLÓGIA ORGANICA Y METABOLISMO DEL CALCIO

Sistema gastrointestinal

Sistema renal

Sistema óseo

■ HIPERCALCEMIA

Signos y síntomas de la hipercalcemia

Causas de la hipercalcemia

■ HIPOCALCEMIA

Signos y síntomas de hipocalcemia

Causas de hipocalcemia

■ FÁRMACOS QUE AFECTAN EL METABOLISMO DEL CALCIO

■ ENFERMEDADES ÓSEAS METABÓLICAS

Raquitismo y osteomalacia

Osteoporosis

■ RESUMEN

■ PREGUNTAS DE REPASO

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Describir la fisiología endocrina y orgánica del metabolismo del calcio.

- Analizar las herramientas de laboratorio utilizadas para evaluar el metabolismo del calcio.
- Aplicar las herramientas de laboratorio en los estados patológicos clínicos del metabolismo del calcio.

TÉRMINOS CLAVE

Absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA)

Bisfosfonatos

Cinacalcet

1,25-Dihidroxivitamina D (1,25(OH)₂D)

Diuréticos tiacídicos

25-Hidroxivitamina D

Hipercalcemia

Hipocalcemia

Hormona paratiroidea

(PTH)

Hueso cortical

Hueso trabecular (también conocido como *hueso*)

cancellous, aunque no es tan frecuente y no se le utiliza en este capítulo)

Litio

Osteoblasto

Osteoclasto

Osteomalacia

Osteoporosis

Proteína relacionada con la hormona paratiroidea (PTHrP)

Raquitismo

Receptor detector del calcio

Regeneración ósea

Teriparatida

Vitamina D

HOMEOSTASIS DEL CALCIO

En la forma fisiológica clásica, bajo condiciones de salud normales y con la función fisiología endocrina y orgánica intacta, el metabolismo del calcio está en equilibrio en seres humanos y se preservan los rangos normales. En este capítulo se revisa la fisiología endocrina y orgánica responsable del control del calcio sanguíneo y la manera en que los trastornos de estos sistemas causan enfermedad.¹ Cualquier comprensión del metabolismo del calcio requiere una revisión de los órganos implicados en la homeostasis del calcio y de los sistemas hormonales que afectan la fisiología orgánica (fig. 21-1).

En la comprensión de la homeostasis del calcio, resulta esencial la determinación de cuál parámetro de “calcio” es el blanco de regulación. El calcio sanguíneo (calcio sérico desde el punto de vista del analito) es, desde una perspectiva teleológica, lo que la red del sistema endocrino/orgánico desarrolla para mantener un rango “normal”.^{2,3} Al igual que se analizó en las secciones sobre hormonas, glándulas, órganos y tejidos, se debe tener en mente que el cuerpo dispone de una red integrada para mantener el calcio sanguíneo “dentro de los límites normales”. Los efectos celulares y tisulares del calcio, que implican maquinaria contráctil, papeles estructurales y funciones en reacciones enzimáticas, entre otros, dependen de que el calcio sanguíneo se encuentre dentro de los valores normales.

El depósito circulante (sangre) de calcio está en flujo constante. El calcio entra al depósito sanguíneo y sale de él. Debido a que el calcio es el elemento central en la homeostasis del calcio, resulta útil tomar en cuenta los factores que lo colocan en la sangre (los factores “en la sangre”) y los que lo eliminan de ella (los factores “fuera de la sangre”) (fig. 21-1). Los principales órganos que participan en este flujo son el intestino delgado, el esqueleto (huesos) y los riñones. Todo el calcio que ingresa al cuerpo después del nacimiento se adquiere a través de absorción gastrointestinal (GI). Por tanto, el calcio dietético desempeña un papel crucial en la homeostasis como la única fuente “externa” para el cuerpo. El hueso, reserva principal de calcio en el cuerpo, sirve para eliminarlo de la sangre al almacenarlo en el hueso y liberar el calcio óseo almacenado a la sangre. Además de las pérdidas intrascendentes del cuerpo a través del tracto GI, el sudor y la saliva, la única pérdida neta real de calcio del cuerpo ocurre por medio de los riñones en la orina.

Al estudiar la homeostasis del calcio, se revisará en primer lugar las hormonas implicadas en el control del calcio sanguíneo y, después, los órganos que juegan los papeles

principales en la homeostasis del calcio. Se demostrará la manera en que la regulación hormonal de la función órgano/tejido mantiene el calcio sanguíneo y la forma en que varios procesos patológicos interfieren con uno o más pasos de esta red reguladora. Al hacerlo, se observará la interrupción de la homeostasis del calcio.

Control hormonal del metabolismo del calcio

Dos hormonas desempeñan el papel predominante en la regulación endocrina de la homeostasis del calcio: la hormona paratiroidea (PTH) y la vitamina D. Estas hormonas juegan papeles vitales en la regulación de la función órgano/tejido para mantener el calcio sanguíneo dentro del rango normal.

Vitamina D

Antes de esbozar los aspectos fisiológicos de la vitamina D, se debe puntualizar que ésta es, en realidad, una hormona. Como suele suceder en las hormonas, la vitamina D se produce en un sitio o sitios diferentes de los órganos a los que afecta en su función.⁴ Se le conoce como vitamina con base en términos históricos, y esa terminología se ha adoptado. La vitamina D comparte similitudes notables de origen con las hormonas esteroideas; es decir, la vitamina D es un producto metabólico de la ruta sintética del colesterol. Los tejidos implicados en la síntesis de la vitamina D son la piel, el hígado y los riñones (fig. 21-2), en tanto que la función tisular afectada consta del intestino, el hueso y la paratiroides.⁴

La síntesis nueva de la vitamina D comienza en la piel, donde el 7-dehidrocolesterol se transforma en vitamina D₃ por la acción de la luz ultravioleta. La vitamina D₃ está inerte desde el punto de vista biológico y debe ser metabolizada de manera adicional al metabolito con actividad biológica.

Una enzima del hígado, la 25-hidroxilasa hepática, metaboliza la vitamina D₃ a 25-hidroxivitamina D. La 25-hidroxilasa hepática no está regulada por ningún componente del sistema homeostático del calcio y funciona constitutivamente en la vitamina D₃ hidroxilada en la posición 25 del sistema de anillo de esterol. La 25-hidroxivitamina D constituye la prueba sanguínea utilizada para evaluar la pertinencia de las reservas de vitamina D en el cuerpo. Los valores de 25-hidroxivitamina D son bajos en la mayor parte de las formas de raquitismo y osteomalacia (véase más adelante).

Una enzima de los riñones, la α -hidroxilasa renal, completa el metabolismo de la vitamina D al metabolito activo, la 1,25-dihidroxivitamina D (1,25(OH)₂D). La 1 α -hidroxi-

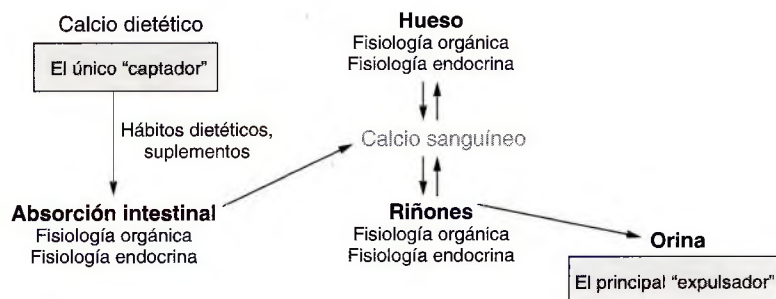


FIGURA 21-1. Homeostasis del calcio. Tejidos y órganos incluidos en la homeostasis del calcio (intestino, esqueleto, y riñones) y cómo ellos relacionan al calcio de la sangre. También se muestran los medios de incorporación del calcio nuevo al sistema (absorción GI) y la eliminación del calcio del sistema (excreción renal) bajo condiciones fisiológicas normales.

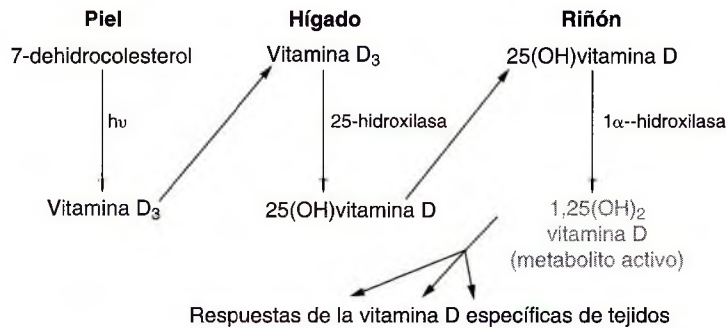


FIGURA 21-2. Síntesis de la vitamina D. Tejidos implicados en la síntesis de la vitamina D y los pasos por los que es responsable cada tejido. Además, se muestran las enzimas que se encargan de los dos pasos mediados por enzimas (25-hidroxilación hepática y 1α -hidroxilación renal). El producto de este proceso, $1,25(\text{OH})_2$ vitamina D, es responsable de los efectos específicos de los tejidos de la vitamina D.

lasa renal es una enzima regulada por la *hormona paratiroidea* (PTH). Ésta estimula la 1α -hidroxilasa y, por tanto, también la síntesis del metabolito activo de la vitamina D, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

La edad, la exposición a la luz solar y la latitud llegan a influir en la pertinencia de las concentraciones de vitamina D. Es más probable que los individuos de edad avanzada, aquellos con exposición a la luz solar baja o nula y aquellos que habitan en latitudes de los hemisferios norte y al sur desarrollen deficiencia de vitamina D (si es que no reciben suplementos en la dieta).

La vitamina D se obtiene, también, a partir de fuentes dietéticas. En Estados Unidos, la vitamina D es relativamente rara en la mayor parte de los alimentos típicos que se consumen en ese país, cuando no están fortificados. Las únicas fuentes dietéticas de vitamina D que suelen encontrarse son las vitaminas (en especial multivitamínicos o suplementos especificados que contienen vitamina D) y la leche fortificada con vitamina D. A la leche se le fortifica por radiación ultravioleta, de manera similar a la luz ultravioleta que penetra a la piel y media la formación de vitamina D_3 . Por lo general, en los multivitamínicos se proporcionan 400 unidades de vitamina D_3 , casi la misma cantidad que se obtiene de un litro de leche fortificada con vitamina D. Otra de estas fuentes frecuentes es el aceite de hígado de bacalao.

Como ya se mencionó, existen similitudes de evolución entre la vitamina D y las hormonas esteroideas. El proce-

so biosintético del colesterol proporciona los precursores de la vitamina D y de las hormonas esteroideas. Existen una relación evolutiva adicional, en la que el receptor de vitamina D está en la misma familia del supergén que los receptores de las hormonas esteroideas, la hormona tiroidea, los receptores retinoides y varios receptores “huérfanos” (estos receptores huérfanos no tienen un ligando conocido; al parecer algunos funcionan a través de la regulación del estado de fosforilación). Al igual que con todos los receptores en esta familia de supergén, el receptor de vitamina D es un receptor nuclear y lleva a cabo la regulación fisiológica al dirigir la transcripción de los genes específicos de respuesta a la vitamina D. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ es el ligando natural para el receptor de vitamina D.

El complejo $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -receptor de vitamina D se une al flujo ascendente (5') del elemento de respuesta de la vitamina D del sitio inicial de transcripción de genes que influyen en la vitamina D e interviene en la transcripción del gen por la interacción con otros elementos de transcripción y la polimerasa RNA para regular la transcripción del gen en cuestión (fig. 21-3).

La influencia fisiológica de la vitamina D se realiza a través de sólo algunos sistemas/tejidos orgánicos. En las células epiteliales (sobre todo duodenales) del intestino delgado, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ regula la expresión de varios genes que estimulan el transporte de calcio transepitelial del lumen intestinal a la sangre. El sitio de mayor absorción

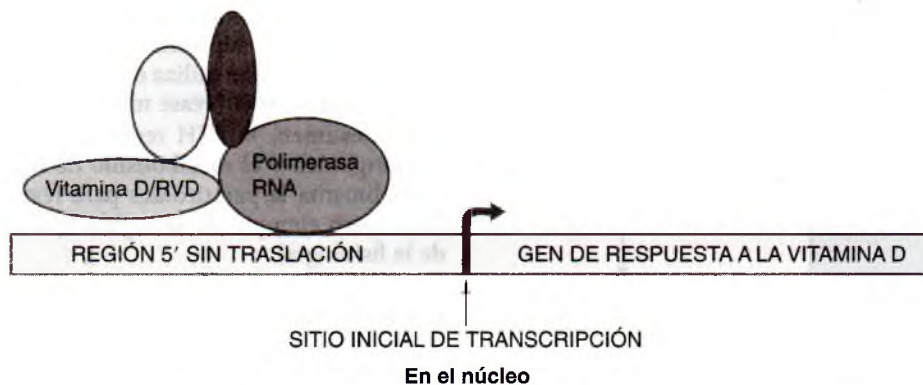


FIGURA 21-3. Mecanismo de acción de la vitamina D. Se muestra el enlace y la interacción del DNA con otros componentes de la maquinaria de transcripción del complejo vitamina D-receptor de la vitamina D. Observe la notable similitud evolutiva entre este mecanismo y el de otras hormonas esteroidea y tiroidea. Como ejemplo primario, la vitamina D inhibe la transcripción del gen de la PTH en el tejido de la paratiroides y estimula la transcripción del transportador del calcio en el epitelio intestinal del borde áspero.

es el duodeno. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ también estimula la absorción de fosfato.

En el hueso, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ estimula la diferenciación terminal de los precursores de osteoclastos a osteoclastos. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ también estimula a los osteoblastos para influir en los osteoclastos en la movilización del calcio óseo. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ no afecta de forma directa la fisiología del osteoclasto maduro. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ juega un papel importante en la mineralización del hueso. Se observa hueso anormal cuando la vitamina D es deficiente o tiene metabolismo defectuoso.

Como ya se indicó, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ aumenta el calcio sanguíneo mediante el incremento de la absorción intestinal de calcio luminal. El calcio sanguíneo retroalimenta el tejido paratiroideo y afecta la síntesis y secreción de la PTH (que se analiza en la siguiente sección). Sin embargo, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ también tiene control de transcripción directo sobre el gen de PTH en la paratiroides. El complejo $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -receptor de vitamina D se une al flujo ascendente del elemento de respuesta de la vitamina D del gen de la PTH y subregula la transcripción del gen de la PTH. Éste es un caso típico de regulación endocrina de la función tisular (fig. 21-4): la PTH estimula la producción de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, y ésta, a su vez, se retroalimenta para disminuir la secreción de la PTH, todo ello para mantener al calcio sanguíneo dentro del rango normal.

Hormona paratiroidea

Desde el punto de vista fisiológico, la PTH mantiene el calcio sanguíneo y el fosfato en el rango normal.⁵ En condiciones normales, hay cuatro glándulas paratiroides, que por lo general se encuentran en la región de la glándula tiroides (de ahí el nombre de *paratiroides*). Algunas veces, una o más glándulas paratiroides se encuentran dentro de la glándula tiroides. Las glándulas paratiroides se encuentran, también, fuera de su sitio anatómico normal, en cualquier lugar entre el hueso hioideo del cuello y el mediastino.

Para remarcarlo, el nombre de paratiroides sólo se refiere a la proximidad anatómica con la glándula tiroides. No existe relación metabólica entre la glándula tiroides y la paratiroides. Cuando se mide la PTH, se debe valorar la molécula *intacta* (hormona paratiroidea intacta, PTH intacta, PTH_i), no la molécula media más antigua u otros fragmentos de la molécula intacta.⁶

La PTH actúa de manera primordial para aumentar el calcio sanguíneo. Cuando éste es bajo, representa la primera señal para que la paratiroides afecte esta respuesta. La PTH actúa sobre el hueso (para causar resorción ósea e incrementar el calcio sanguíneo) y los riñones (para elevar la reabsorción fraccional del calcio tubular renal [filtrado glomerular] y, por tanto, incrementar el calcio sanguíneo). Además, estimula la 1α -hidroxilación renal de la 25-hidroxivitamina D, para producir $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, el metabolito activo de la vitamina D; al hacerlo, la PTH estimula de manera indirecta la absorción intestinal de calcio, lo que contribuye a aumentar el calcio sanguíneo. La PTH también disminuye las concentraciones de fosfato sanguíneo.

Existe un *receptor sensible al calcio* en las glándulas paratiroides.⁵ Este receptor está en la familia que abarca siete transmembranas de receptores. El receptor sensible al calcio detecta el calcio sanguíneo del entorno y origina una respuesta para contribuir a la regulación de la secreción de PTH. La respuesta de la PTH al calcio ambiental se centra en un punto de ajuste, con respuestas más pronunciadas cerca de la parte media del rango normal del calcio sanguíneo (fig. 21-5). El receptor sensible al calcio detecta si el calcio ambiental es demasiado bajo y la secreción de PTH se eleva. El incremento de la PTH circulante aumenta la resorción ósea, produce retención renal de calcio (reabsorción tubular del calcio en el filtrado glomerular) y estimula la absorción intestinal de calcio (a través del efecto de la PTH sobre la producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$). En respuesta a este proceso, el calcio ambiental aumenta. A su vez, la elevación del calcio retroalimenta la glándula paratiroides. Cuando el calcio sanguíneo aumenta demasiado, el receptor sensible al calcio lo detecta y la secreción de PTH se suprime, lo que permite mayor pérdida urinaria de calcio, y que el calcio permanezca en el hueso y no se estimule la absorción intestinal de calcio (al dejar de estimular la producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$). La supresión de PTH por concentraciones elevadas de calcio se utiliza en clínica para valorar una causa de hipercalcemia (véase más adelante).

En resumen, la PTH regula la concentración de calcio sanguíneo y el metabolismo de la vitamina D, lo que retroalimenta la paratiroides para regular la secreción de PTH (otro ejemplo de la regulación endocrina exquisita de la fisiología).

Al igual que sucede con todas las hormonas, la PTH media su efecto por unión saturable de afinidad elevada a un receptor específico.⁵ El receptor de la PTH es un receptor de proteína transmembrana que media el efecto de la PTH, cuando menos en parte, por activación de la enzima adenilato ciclasa y la segunda vía del mensajero que comprende el AMP cíclico (AMPc), con sus efectos en la fosforilación de la proteína. Un ejemplo interesante de la medicina molecular es el *seudohipoparatiroidismo*, que se

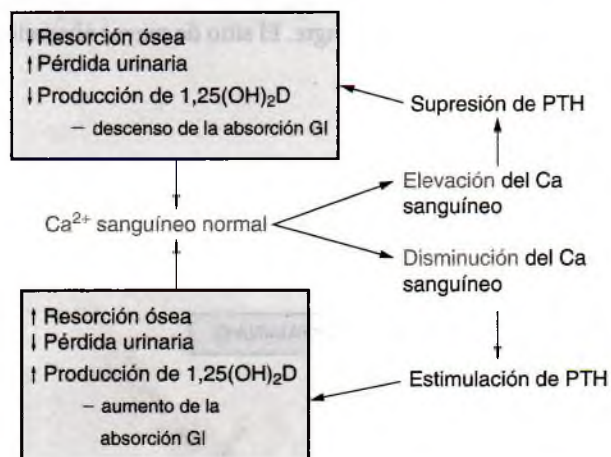


FIGURA 21-4. Circuitos de alimentación hacia adelante y hacia atrás. Se muestra la respuesta endocrina a los cambios en el calcio sanguíneo (elevación o descenso). Una respuesta concertada de la hormona, mediada a nivel orgánico por los órganos que se muestran en la figura 21-1, ayuda a restaurar el calcio sanguíneo a valores normales.

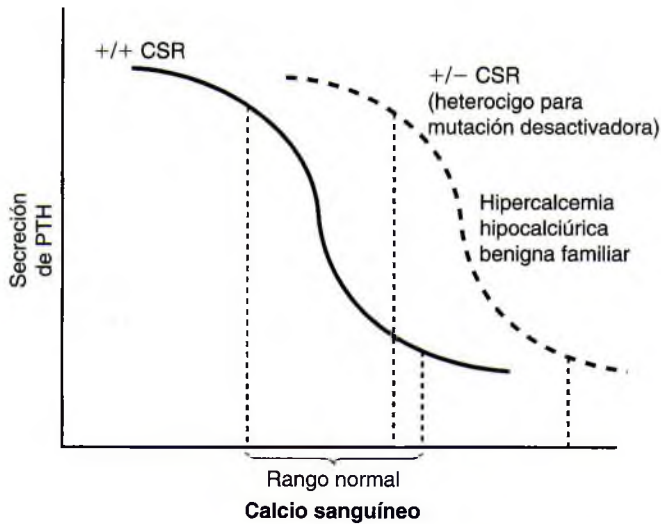


FIGURA 21-5. Receptor sensible al calcio: efecto en la secreción de PTH. Se muestra la respuesta del tejido paratiroideo (como se demuestra por la secreción de PTH) al calcio sanguíneo. El *punto fijo* se determina por la respuesta de la paratiroides mediada por la transmembrana del receptor sensible al calcio. La *curva normal* corresponde a heterocigocidad para el receptor sensible al calcio "tipo comodín" (+/+). La *curva desplazada a la derecha* que se muestra corresponde al caso en que hay heterocigocidad para el receptor (hipercalcemia hipocalciúrica benigna familiar): una copia tipo comodín del gen y mutación desactivadora (+/-).

analiza más adelante en la sección sobre hipocalcemia. Se trata de una enfermedad en la que hay mutación desactivadora en la proteína G estimuladora (Ge) que acopla al receptor de la PTH a la adenilato ciclasa. El desacoplado del receptor de la PTH de la adenilato ciclasa hace que el tejido blanco de la PTH sea insensible a PTH, aunque ésta se encuentre presente y, de hecho, elevada en comparación con los valores normales (de ahí la denominación de *seudohipoparatiroidismo*).⁷

FISIOLOGÍA ORGÁNICA Y METABOLISMO DEL CALCIO

Como ya se mencionó, tres sistemas dominan la contribución del sistema orgánico al metabolismo del calcio: el tracto GI, los riñones y los huesos.

Sistema gastrointestinal

La función intestinal normal se requiere para la absorción del calcio.⁸ Las interrupciones en la función intestinal, como se observa con los defectos genéticos o fisiológicos de los síndromes del intestino delgado, llegan a afectar la absorción del calcio. Se requiere la disponibilidad y el metabolismo normales de la vitamina D para la absorción óptima del calcio. Es necesaria la ingesta adecuada de calcio dietético. El calcio duodenal casi se duplica por la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, de alrededor de 30% de ingesta a casi 60 a 70%. Cabe hacer notar que el fosfato dietético se une al calcio dietético en el lumen intestinal, se forma el precipitado insoluble fosfato de calcio y se evita la absorción tanto de calcio como de fosfato. La insolubilidad del fosfato de calcio se refleja en su constante de producto de solubilidad, K_{ps} , que es igual a 1.2×10^{-29} . Ésta es la base para que el carbonato de calcio se utilice como enlazador de fosfato en pacientes con insuficiencia renal. Por esta razón, una dieta con elevado contenido de fosfato (p. ej., una dieta de alimento chatarra o consumo elevado de refresco) tenderá a inhibir la absorción de calcio.

Sistema renal

Los riñones desempeñan un papel esencial en el metabolismo del calcio.⁹ El papel de los riñones en el metabolismo de la vitamina D es crucial. Constituye una fuente importante de insuficiencia renal con alteración del metabolismo de calcio (insuficiencia para producir $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, absorción intestinal subóptima de calcio, PTH elevada, incapacidad de los riñones con insuficiencia para regular la excreción

ESTUDIO DE CASO 21-1

Una mujer de 40 años de edad acude a su médico con queja de dolor importante en el costado izquierdo que comenzó la noche anterior. Ella asegura que el dolor es peor que el que se produce al dar a luz. Además, informa la presencia de sangre en su orina más temprano ese mismo día. Se siente fatigada y más olvidadiza, y cree que su concentración no fue tan buena durante el último año. No presenta antecedentes médicos importantes, no toma medicamentos y su historial familiar no es contributivo. En un examen físico, al parecer sufre dolor agudo. Hay sensibilidad marcada a la percusión suave sobre el ángulo costovertebral izquierdo. La sangre está pálida y notable en calcio, 11.2 mg/dl (normal, 8.5 a 10.2 mg/dl); albúmina, 3.8 g/dl (normal, 3.5 a 4.8

g/dl) y PTH intacta, 162 pg/ml (normal, 11 a 54 pg/ml). La función renal es normal (NUS, 25; creatinina, 0.9). El análisis de la orina es notable en sangre, y >50 glóbulos rojos por campo de poder elevado. Esto indica una recolección de orina a las 24 h, que revela calcio elevado a 483 mg/24 h (normal, 100 a 250 mg/24 horas).

Preguntas

1. ¿Cuáles resultados de laboratorio son anormales?
2. ¿Cuál es el presunto diagnóstico para esta paciente? ¿Y el diagnóstico diferencial?
3. ¿Qué tratamiento está indicado para esta patología?

de calcio y fosfato, deposición ectópica de fosfato de calcio en tejidos suaves y salud ósea deficiente).

Los riñones responden a la PTH de varias maneras clave, para conservar el calcio sanguíneo y evitar hipocalcemia. Ya se revisó el papel de la PTH en la estimulación de la 1α -hidroxilación de la 25(OH) vitamina D. Además, la PTH estimula la reabsorción tubular de calcio a partir del filtrado glomerular, lo que regresa el calcio filtrado a la sangre, conserva el calcio sanguíneo y previene hipocalcemia.

Al analizar la fisiología renal con relación a la homeostasis del calcio, resulta importante diferenciar entre reabsorción fraccional de calcio a partir del túbulo y la carga excretada neta de calcio. En la hipercalcemia que se origina por hiperparatiroidismo primario y en el establecimiento de la hipercalcemia en la mayor parte de otras causas, la carga filtrada de calcio aumenta en gran medida. Aunque la PTH estimula la reabsorción tubular de calcio, por la mayor carga filtrada, la excreción *net*a de calcio aún permanece elevada en comparación con el estado normal (no hiperparatiroidismo). La hipercalcemia se origina como un componente estándar del hiperparatiroidismo primario. Cabe notar que la hipercalcemia originada por cualquier causa plantea un mayor riesgo de cálculos que contienen calcio en los riñones. Esto explica el aparente aumento paradójico de la reabsorción renal fraccional de calcio y el mayor riesgo de cálculos renales en el hiperparatiroidismo primario. De hecho, la hipercalcemia por casi cualquier causa aumentó el riesgo de cálculos de calcio.

Sistema óseo

A lo largo de la vida, tiene lugar un proceso acoplado en el hueso con formación y resorción óseas, al que a menudo se le conoce como *renovación ósea*.¹⁰ En condiciones normales, este proceso está acoplado de manera estrecha, de modo que uno no ocurre sin el otro. La formación ósea es mediada por los osteoblastos y la resorción ósea por los osteoclastos (una célula de la familia monocito/macrófago). Resulta interesante que el osteoclasto requerido para movilizar el calcio del esqueleto no defina receptores para $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ o PTH, las hormonas principales que estimulan la resorción ósea. En cambio, estas hormonas actúan de manera directa en los osteoblastos que, a su vez, producen una serie compleja de citocinas, que luego activan los osteoclastos y causan resorción ósea y la liberación del calcio del esqueleto. Cuando la formación ósea mediada por osteoblastos y la resorción ósea mediada por osteoclastos se desacoplan, de tal modo que el índice de resorción sobrepasa la tasa de formación (con lo que se favorece la resorción neta), el efecto global con el tiempo es la pérdida de masa ósea. La resorción neta ósea tal vez afecte la salud del esqueleto, lo que ocasiona pérdida de masa ósea y deterioro de la microarquitectura del esqueleto, con lo que aumenta el riesgo de fractura.

Los dos tipos principales de hueso en el esqueleto son el *trabecular* y el *cortical*.¹¹ Este último es el tipo principal en los huesos largos. El hueso cortical es fuerte en las dimensiones axial y sección transversal, por lo que se adapta de

manera adecuada a las necesidades de los huesos largos. El hueso trabecular consta de miles a millones de conexiones de hebras transversales, a las que se les denomina trabéculas. Gracias a estas trabéculas interconectadas, el hueso trabecular es fuerte y el hueso compacto que origina, como los cuerpos vertebrales de la espina dorsal, proporcionan fuerza e integridad. La contribución de los huesos trabeculares y corticales varía en diferentes sitios del esqueleto. Los huesos largos son en esencia corticales y los cuerpos vertebrales de la columna espinal son principalmente trabeculares. Otros sitios del esqueleto consisten en una combinación de huesos corticales y trabeculares, que incluyen el cuello femoral, el radio distal y el húmero proximal. El hueso trabecular es el que más está sujeto a pérdida ósea debido a hipogonadismo (considérese menopausia) o dosis farmacológica de glucocorticoides (prednisona) que, a su vez, están relacionados con mayor riesgo de fractura.

En resumen, la homeostasis del calcio constituye un equilibrio complejo entre los factores internos y externos de la sangre, lo que refleja la fisiología endocrina y orgánica integrada. Es este equilibrio lo que permite un metabolismo de calcio normal; cuando se altera, el resultado son trastornos en el metabolismo del calcio que llegan a originar varias afecciones médicas que se analizan a continuación.

HIPERCALCEMIA

La hipercalcemia se define como el estado de concentraciones de calcio sanguíneo por arriba del rango normal.¹² El calcio ionizado (libre) es el componente con actividad biológica del calcio circulante. Alrededor de la mitad del calcio circulante forma complejo (se une) con proteínas séricas, sobre todo albúmina, con la mitad remanente ionizada (libre). Cuando el calcio total se mide en un panel químico de suero, hay que recordar que sólo casi la mitad se ioniza. Por tanto, el valor del calcio total es limitado, a menos que se considere en el contexto de la albúmina sérica del paciente. En pacientes con albúmina sérica baja, se esperaría que tengan calcio total bajo y calcio ionizado normal; lo contrario ocurre en pacientes con albúmina sérica elevada. Al solicitar una valoración de calcio ionizado, es posible eliminar esta salvedad. Ésta es una medición directa del calcio libre y refleja el estado de calcio, sin necesidad de tomar en cuenta la fracción unida a proteínas séricas. El calcio ionizado se correlaciona de mejor manera con la actividad biológica del calcio, así como con síntomas de hipercalcemia o hipocalcemia cuando el calcio se encuentra fuera del rango normal. La unión del calcio ionizado a las proteínas es una función del pH; más calcio se une a pH más alcalino y menos a pH más ácido. La sangre arterial, que debe presentar un pH de alrededor de 7.4, por lo general tiene más calcio unido a proteínas que la sangre venosa, que debe de tener un pH cercano a 7.2. Debido a la diferencia arterial-venosa en el calcio ionizado, éste suele medirse en sangre arterial. En la actualidad es posible medir el calcio ionizado en sangre venosa; el laboratorista clínico calcula el equivalente de calcio ionizado a un pH de 7.4 e informa ese valor.

Signos y síntomas de la hipercalcemia

Los signos y síntomas de la hipercalcemia tal vez sean pro-teicos y dependen del grado de ésta. Desde el punto de vista clínico, los signos y síntomas varían tanto entre los pacientes como en las concentraciones de calcio sanguíneo en que incurrir (trastornos comórbidos también influyen en el desarrollo de los síntomas).¹² Por lo general, los signos y síntomas se describen por sistema orgánico:

- Sistema nervioso central (SNC): los pacientes llegan a presentar alteración de la función del SNC, que incluye letargo, actitud apática, depresión, confusión, olvido, obnubilación y, en casos extremos, estado de coma.
- GI: los pacientes experimentan anorexia, estreñimiento y náusea y vómito.
- Renal: el calcio actúa como diurético y afecta la capacidad de los riñones para concentrar orina. Es posible que esto cause deshidratación, que llega a empeorar a hipercalcemia. En el establecimiento de la mayor parte de las causas de hipercalcemia, la hipercalcemia aumenta el riesgo de cálculos renales que contienen calcio.
- Esquelético: los pacientes con la mayor parte de las causas de hipercalcemia presentan aumento de la resorción ósea y, por tanto, mayor desmineralización ósea. Esto incrementa el riesgo de fractura.
- Cardiovascular: la hipercalcemia tal vez cause hipertensión o la exacerbe. El intervalo QT en el ECG pudiera acortarse como resultado del aumento de la afluencia de calcio durante la despolarización del miocardio.

Causas de la hipercalcemia

Causas endocrinas

Como ya se mencionó, las causas endocrinas de hipercalcemia se relacionan con trastornos que afectan la función de la paratiroides y de la vitamina D, así como con otros fenómenos que guardan cierta relación. En esta sección también se tratan los fármacos que causan hipercalcemia.

El hiperparatiroidismo primario¹³ representa la causa más frecuente de hipercalcemia en el entorno del paciente externo sano. Se trata de una afección que se origina por adenoma, adenomas múltiples o hiperplasia de la paratiroides. El término *primario* se refiere al hecho de que el defecto fisiológico radica en las glándulas tiroides. Por lo general son benignos (rara vez son malignos) y producen hipersecreción de PTH, de manera independiente a la regulación de la retroalimentación normal por el calcio ambiental. En esencia, a menudo se trata de un problema de punto de ajuste:⁵ al parecer hay un nuevo punto de ajuste reconocido por las células paratiroides en el tejido paratiroideo anormal. El tejido anormal “piensa” que el calcio ambiental normal es demasiado bajo y lo lleva a una cifra anormalmente elevada por hipersecreción de HPT. En el hiperparatiroidismo primario (HPT 1°), la PTH por lo general es elevada, pero en realidad pudiera encontrarse en el rango normal alto. Al pensar que el calcio elevado debe suprimir el tejido paratiroideo normal (en un esfuerzo por restaurar las concentraciones de calcio normal [razonamiento clásico de retroalimentación endocrina]), esto ayuda a considerar una PTH normal elevada en presencia de hipercalcemia como anormal. Se calcula que alrededor

ESTUDIO DE CASO 21-2

Un hombre de 58 años de edad ha sido fumador durante muchos años. Según recuerda, fuma tres cajetillas por día, e insiste en que sus cigarrillos “no me hacen ningún daño, *doc*”. Sin embargo, últimamente se siente enfermo, con ausencia de apetito, malestar y pérdida de peso. Su estado mental se volvió apático en fecha reciente, y no recuerda “de un momento a otro” lo que está haciendo en su trabajo. Hace poco su tos básica empeoró, y observa manchas de sangre en su expectoración cuando la examina. No tiene antecedentes médicos importantes distintos al abuso de tabaco. No toma medicamentos. Su historial familiar sólo es notable porque su padre murió de cáncer pulmonar a la edad de 63 años y su madre de enfisema, a los 68 años.

En un examen físico, se muestra que se trata de un hombre delgado, con aspecto mucho más viejo que su edad cronológica. Cuando produce algunas expectoraciones a solicitud del médico, se observa que tienen tinte rosa y manchas de sangre. El examen del pecho revela resuellos y estertores esparcidos en la región pulmonar superior derecha. Muestra debilidad difusa en la

prueba de fuerza muscular. Los hallazgos de laboratorio son notables: calcio, 16.8 mg/dl (normal, 8.5 a 10.2 mg/dl); albúmina, 3.4 (normal, 3.5 a 4.8 g/dl); NUS, 27; y creatinina, 1.3. En la radiografía se revela una masa hilar de 3 cm en la región derecha proximal con manchado distal. Se indican pruebas adicionales y se descubre PTH intacta indetectable a <1 pg/ml (normal, 11 a 54 pg/ml) y PTHrP elevada a 18.3 pmol/L (normal, 0.0 a 1.5 pmol/L).

Preguntas

1. ¿Considera que el tabaquismo de este paciente se relaciona con su hipercalcemia?
2. ¿Qué otros resultados de laboratorio son anormales?
3. ¿Cuál es el diagnóstico del paciente? ¿Y su pronóstico?

de 5 a 10% de los pacientes con HPT 1° presentan PTH en el rango normal alto. Por lo general, la hipercalcemia de HPT 1° no es extrema, a menos que esté acompañada por factores adicionales, como deshidratación o insuficiencia o falla renal. En el HPT 1°, aunque la PTH aumente la reabsorción tubular fraccional de calcio, la carga filtrada de calcio es mucho mayor de lo normal, de modo que hay un aumento neto en la excreción de calcio a pesar del incremento en la reabsorción fraccional. La hipercalcemia es un hallazgo esperado en el HPT 1°. Por lo común, la PTH también incrementa la excreción renal de fosfato, por lo que tal vez el HPT 1° ocasione hipofosfatemia. Sin embargo, esto depende de la dieta y, en términos generales, el fosfato sérico sólo es útil si se mide en ayunas (el fosfato sérico no se mide de manera rutinaria en pacientes tratados por HPT 1°). En el HPT 1°, se espera encontrar calcio sanguíneo elevado (en condiciones ideales, medido como calcio ionizado), PTH elevada (o normal elevada) y aumento en la excreción de calcio urinario (medida en una recolección de orina a las 24 horas); en ayunas, también llega a observarse hipofosfatemia.

En la mayor parte de los casos, el hiperparatiroidismo primario ocurre de manera esporádica, pero también se presenta en varios síndromes genéticos:

- La neoplasia endocrina múltiple tipo 1 (NEM 1) produce tumores de la paratiroides, la hipófisis y el páncreas. Se origina por la pérdida de un gen supresor del tumor que realiza el mapeo para el cromosoma humano 11.¹⁴
- La neoplasia endocrina múltiple tipo 2A (NEM 2A) da como resultado tumores de la paratiroides, hiperplasia o cáncer de la tiroides medular y feocromocitoma. Se origina por una mutación activadora en el protooncogén *ret*, que reside en el cromosoma humano 10. Se debe medir de manera rutinaria el protooncogén *ret* en el laboratorio clínico. Se medirá siempre que se sospeche este trastorno, de modo que otros miembros de la familia, cuando sea apropiado, deben ser alertados y examinarse.¹⁴
- El hiperparatiroidismo familiar causa HPT 1°, sin otros tumores relacionados. El gen es desconocido, pero se le ha ubicado en el cromosoma humano 1.¹⁴
- Hipercalcemia hipocalciúrica benigna familiar (HHBF). Por lo general, este interesante síndrome se origina por mutaciones en el receptor sensible al calcio (*vide supra*). Se relaciona con hipercalcemia e hiperparatiroidismo leves (fig. 21-5) y excreción del calcio urinario disminuida (o normal baja).¹⁵ La disminución de la excreción del calcio urinario distingue la HHBF del HPT 1°, lo que hace que sea la única prueba que diferencia entre ambos. Como su nombre lo indica, se trata de un trastorno benigno y no requiere tratamiento. No predispone a fractura ni cálculos renales. El reconocimiento es crítico, de modo que no sea necesaria la paratiroidectomía.

La hipervitaminosis D es un trastorno que se produce por la ingesta excesiva de vitamina D, o por la producción aberrante de 1,25(OH)₂D como resultado de 1α-hidroxilación extrarrenal de 25-hidroxivitamina D, por lo general

relacionada con afecciones granulomatosas o tejido linfóideo anormal.¹⁶ Es difícil consumir demasiada vitamina D en la dieta, suponiendo que todos los sistemas orgánicos funcionen de manera normal. La causa observada más a menudo (aunque aún es muy poco frecuente) de hipercalcemia con hipervitaminosis D se debe a la actividad extrarrenal de la 1α-hidroxilasa en los granulomas o el tejido linfóideo. Ésta no es la misma enzima 1α-hidroxilasa encontrada en los riñones, con actividad regulada por la PTH y el calcio. Se trata de un producto genético diferente que no muestra regulación por retroalimentación de calcio. Esta actividad de la 1α-hidroxilasa funciona de manera constitutiva para producir 1,25(OH)₂D, que, a su vez, llega a causar hipercalcemia por los mecanismos ya analizados (*fisiología endocrina y fisiología orgánica*). La hipercalcemia que se produce por exceso de vitamina D está mediada de manera primordial por estimulación de absorción GI de calcio y por reclutamiento de osteoclastos, lo que ocasiona resorción ósea.¹⁶ La 1,25(OH)₂D suprime la transcripción genética de PTH; por tanto, el perfil de laboratorio esperado en un paciente con hipervitaminosis D a partir de 1α-hidroxilación ectópica de 25-hidroxivitamina D es hipercalcemia, PTH suprimida y 1,25(OH)₂D elevada. Las afecciones granulomatosas relacionadas más a menudo con esto son la sarcoidosis y la tuberculosis.

Ciertos cánceres producen hipercalcemia mediada por hormonas como un síndrome paraneoplásico. En algunos casos, estos factores actúan más de una manera paracrina que endocrina real. En todos estos casos, el factor o los factores producidos por el tumor no están sujetos a regulación de retroalimentación por calcio.

El mieloma múltiple es una malignidad de β-linfocitos que produce anticuerpos (es decir, células plasmáticas). Estas malignidades a menudo producen hipercalcemia por secreción de citocinas, que activan osteoclastos para la resorción del hueso, y resorción desacoplada a partir de formación ósea mediada por osteoblastos.¹⁷ Debido a que el tejido paratiroideo no es anormal en estos pacientes, la PTH se suprime de manera apropiada en la hipercalcemia de mieloma múltiple. La hipercalcemia tal vez sea extrema. Es posible que las cadenas ligeras de inmunoglobulina de la enfermedad también causen necrosis tubular renal y produzcan insuficiencia renal, lo que empeora la hipercalcemia. En radiografías del hueso afectado, se observan lesiones líticas óseas.

La proteína relacionada con la hormona paratiroidea (PTHrP) representa una causa hormonal frecuente de hipercalcemia relacionada con varias malignidades.^{18,19} Se produce, también, por tumores benignos y causa hipercalcemia.²⁰ La PTHrP comparte la homología secuencial N-terminal con la PTH (de ahí el nombre de *proteína relacionada con la PTH*). La PTH y la PTHrP se unen al mismo receptor en riñones y hueso; el receptor también se encuentra en varios otros tejidos. El papel fisiológico normal de la PTHrP no está claro. Tal vez desempeña una función en la regulación paracrina normal de varios tejidos, como el cartílago, la piel, las neuronas del SNC y el pecho (calcio de la leche materna). Los cánceres que suelen relacionarse con la producción de PTHrP (a la que históricamente

se le conoce como *hipercalcemia humoral de malignidad*) incluyen cáncer pulmonar de células escamosas, cáncer de pecho y cáncer renal. Otros tumores que llegan a vincularse con hipercalcemia mediada por la PTHrP constan de feocromocitoma, algunos tumores celulares del islote y ciertos linfomas. La secreción de la PTHrP no está regulada de una manera de retroalimentación por el calcio sanguíneo (fig. 21-6). Cuando la PTHrP (que tal vez funcione desde el punto de vista fisiológico de una manera paracrina) se produce por cánceres, se produce en exceso en gran medida a tal grado que circula de manera sistemática, lo que le permite actuar de una manera endocrina (desde una perspectiva clínica, afecta de manera primordial al hueso y al riñón). Es posible medirla en sangre cuando se sospecha hipercalcemia humoral de malignidad. La PTHrP y la PTH no hacen reacción cruzada entre sí en inmunoanálisis, lo que permite medir de manera confiable cada proteína en el laboratorio clínico. La hipercalcemia mediada por PTHrP se relaciona con la supresión de la PTH. Al igual que con la hipercalcemia mediada por la PTH, la hipercalcemia mediada por la PTHrP se origina sobre todo por resorción ósea y aumento de la reabsorción tubular renal fraccional de calcio. Los cánceres que producen PTHrP y causan hipercalcemia se vinculan con un pronóstico bastante malo. Los síntomas relacionados con el síndrome incluyen cambios en el estado mental, cálculos renales y fracturas, así como otras manifestaciones relacionadas con cáncer.

Causas por el sistema orgánico

El síndrome leche-álcali es una causa rara de hipercalcemia, pero a lo largo del tiempo ha tenido importancia.²¹ Se le describió por primera vez en la década de 1920 en pacientes tratados por úlceras pépticas con leche o crema, o ambas, y sales de carbonato o bicarbonato. El consumo de dosis elevadas de calcio y antiácidos absorbibles (p. ej., bicarbonato de sodio; ambos agentes se encuentran juntos en el carbonato de calcio) tal vez ocasione hipercalcemia y alcalosis metabólica. El síndrome leche-álcali se relaciona a menudo con insuficiencia renal. El mecanismo actual del síndrome leche-álcali es un poco impreciso, pero se

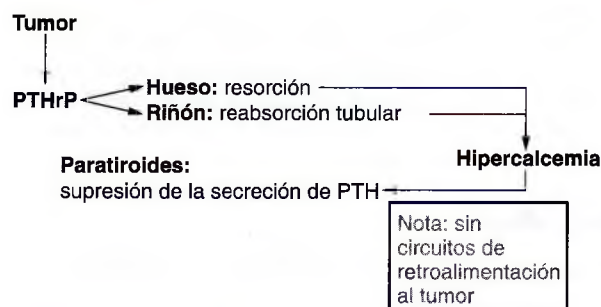


FIGURA 21-6. Fisiopatología endocrina de la PTHrP. Se demuestra el efecto de los tumores que producen PTHrP en exceso. El efecto fisiopatológico es a través de los mismos sistemas orgánicos utilizados por la PTH para aumentar el calcio sanguíneo. La diferencia entre la PTH y la PTHrP es que la primera está sujeta a regulación por retroalimentación, en tanto la PTHrP no depende de ninguna regulación por retroalimentación por calcio (compárese con la fig. 21-4.).

relaciona, cuando menos en parte, con aumento de la absorción intestinal y disminución de la depuración renal de calcio y bicarbonato. La PTH se suprime en la hipercalcemia del síndrome leche-álcali.

La insuficiencia renal causa varias anormalidades en el metabolismo de calcio, como hipercalcemia e hipocalcemia, lo que depende de varios factores.^{21,22} No es correcto por completo decir si se trata de una causa no hormonal de hipercalcemia porque a menudo también se encuentran variaciones anormales en el metabolismo de la PTH y la vitamina D. En la insuficiencia renal, la excreción renal de calcio y fosfato se encuentra suprimida en gran medida, si no es que por completo. El fosfato de calcio es insoluble y tiende a precipitarse en tejido blando. Por lo general, la PTH aparece elevada en presencia de insuficiencia renal y, en equilibrio con la precipitación de fosfato de calcio y la pérdida de excreción del calcio urinario, tal vez contribuya a hipercalcemia. La 1-hidroxilación de la 25-hidroxivitamina D es abolida en la insuficiencia renal, de modo que no se produce la forma activa de la vitamina D. Se suele administrar 1,25(OH)₂D a pacientes con insuficiencia renal, lo que quizá contribuya a hipercalcemia.

Fármacos que causan hipercalcemia

Varios fármacos causan hipercalcemia.²¹ Estos fármacos se analizan más adelante con mayor detalle ("Fármacos que afectan el metabolismo del calcio").

Los *diuréticos tiazídicos* cuentan con una larga historia en el tratamiento de hipertensión y llegan a causar retención del calcio filtrado de manera glomerular y producen hipercalcemia o contribuyen a ella. A las dosis utilizadas de rutina para tratar hipertensión, la hipercalcemia es poco habitual. Cualquier otro factor que exacerbe el efecto hipercalcémico de las tiazidas tal vez aumente la probabilidad de hipercalcemia relacionada con la tiazida (p. ej., insuficiencia renal, hiperparatiroidismo primario).

El *litio*, a dosis usadas de rutina para tratar el trastorno afectivo bipolar, quizá se relaciona con hipercalcemia. Al parecer el litio cambia el punto de ajuste de regulación de calcio para la secreción de PTH, lo que favorece una concentración más elevada de calcio sanguíneo. Además, esto aumenta la señalización de PTH al tejido blanco de la PTH (en particular hueso y riñón), lo que incrementa el calcio sanguíneo.

Las dosis elevadas de vitamina A o los análogos/metabolitos de vitamina A de la familia del ácido retinoico se relacionan con hipercalcemia. En la hipercalcemia de vitamina A/ácido retinoico, la PTH y la 1,25(OH)₂D se suprimen, en tanto la PTHrP no se eleva. Al parecer la vitamina A/ácido retinoico funciona a través de la activación de osteoclastos y resorción ósea.

HIPOCALCEMIA

La *hipocalcemia* se define como el estado de concentraciones de calcio sanguíneo por debajo del rango normal.²³ Tal vez la mejor manera de medirla sea por calcio ionizado. El calcio total no es diagnóstico, a menos que también se acompañe por una medición de albúmina.

Signos y síntomas de hipocalcemia

Los signos y síntomas de hipocalcemia, con respecto a los signos y síntomas relacionados con hipercalcemia, son proteicos y demuestran variación individual en el descenso de calcio ante cualquier signo o síntoma particular que aparezca.²³ Por lo general, los signos y síntomas de hipocalcemia se describen por sistema orgánico:

- Neuromusculares: la tetania (contracción muscular involuntaria) afecta de manera primordial los músculos de las manos, los pies, las piernas y la espalda. La afección del 7° nervio craneal (nervio facial), justo en la parte anterior del oído, llega a producir contracción en la esquina ipsilateral de la boca (signo de Chvostek). Se observa entumecimiento y hormigueo en cara, manos y pies. La inflación de un puño de presión sanguínea a 20 mmHg por arriba de la presión sanguínea sistólica del paciente que induce un estado de isquemia en el brazo (acidosis metabólica), tal vez produzca espasmo en los músculos de la muñeca y de la mano (signo de Trousseau).
- SNC: se observan irritabilidad, convulsiones, cambios de personalidad y alteración del funcionamiento intelectual.
- Cardiovasculares: el calcio no sólo juega un papel crucial en la corriente lenta de calcio interno del complejo QRS de despolarización ventricular, sino que también desempeña una función crítica en el acoplamiento electromecánico. En la hipocalcemia, tal vez se observe prolongación QT en la ECG. En el extremo, se detecta disociación electromecánica (DEM). La disfunción contráctil cardíaca es rara pero, en casos extremos, origina cardiopatía congestiva. La disfunción cardíaca a partir de hipocalcemia debe tratarse con calcio intravenoso emergente.

Causas de hipocalcemia

Causas endocrinas

La PTH y la vitamina D dominan las causas endocrinas de hipocalcemia. Esto es importante para comenzar con el análisis de una *respuesta endocrina clave* a la hipocalcemia (o la amenaza de ésta). Con excepción de la hipocalcemia debida a hipoparatiroidismo, una respuesta fisiológica endocrina clave para todos (otros) los tipos de hipocalcemia es que la paratiroides secreta más PTH para tratar de prevenir o contrarrestar la hipocalcemia. A la elevación de la PTH en respuesta a una amenaza de hipocalcemia se le conoce como *hiperparatiroidismo secundario*²³ y, debido a él, se encuentra que muchos pacientes con esta respuesta mantienen el calcio sanguíneo dentro de los límites normales. El hiperparatiroidismo secundario se distingue del hiperparatiroidismo primario de varias maneras importantes (cuadro 21-1). En el hiperparatiroidismo primario, la PTH se eleva debido a un trastorno del tejido paratiroideo (una o más glándulas paratiroides); en el hiperparatiroidismo secundario, la paratiroides es normal y saludable, y la PTH se eleva como adaptación fisiológica a la amenaza de hipocalcemia. En el hiperparatiroidismo primario, la *hipercalcemia* se cura por extirpación de la(s) paratiroides afectadas. En el hiperparatiroidismo secundario, la hipocalcemia (o la amenaza de ésta) empeoraría bastante y sería más difícil de tratar si se extirpara la paratiroides. Cuando sea posible, se debe tratar el hiperparatiroidismo secundario al atacar la causa subyacente o amenaza de hipocalcemia y dejar sola a la paratiroides.

Debido a que el papel principal de la PTH es prevenir la hipocalcemia, resulta comprensible que la función inadecuada de la paratiroides causaría hipocalcemia o tendencia hacia ella.²⁴ El trastorno de función paratiroidea inadecuada (o pérdida de la misma), o hipoparatiroidismo, ocurre

ESTUDIO DE CASO 21-3

Un hombre de 26 años de edad acude con su médico tres semanas después de someterse a extirpación quirúrgica de la tiroides por cáncer de la tiroides. Su doctor le asegura que "todo está resuelto". Sin embargo, a partir del momento en que regresó a casa, notó calambres musculares involuntarios bastante dolorosos. Además, tuvo entumecimiento y hormigueo alrededor de la boca y en manos y pies. Su novia informa que ha estado "más irritable" durante el último par de semanas. Su historial médico sólo es notable por el diagnóstico reciente de cáncer de la tiroides y la resección de tres semanas antes de su visita. El único medicamento que toma es L-tiroxina. Los antecedentes familiares no contribuyen. En el examen físico, se observa la cicatriz de la tiroidectomía bien cicatrizada. El golpeteo en la cara, en la parte interior de los oídos, causa contracción en la esquina ipsilateral de la boca (signo de Chvostek). No hay masas palpables en el lecho tiroideo. El puño

de presión sanguínea inflado por arriba de la presión sistólica induce una contractura muscular involuntaria en la mano ipsilateral después de 60 s (signo de Trousseau). Los resultados de laboratorio son notables para calcio, 5.6 mg/dl (normal, 8.5 a 10.2 mg/dl); albúmina, 4.1 g/dl; NUS, 20; y creatinina, 1.0. La PTH intacta es indetectable a <1 pg/ml.

Preguntas

1. ¿Cuáles resultados de laboratorio son anormales?
2. ¿Qué trastorno está experimentando a partir de la tiroidectomía?
3. ¿Cuál es la causa de esta afección sintomática?
4. ¿Cuál es el tratamiento para este paciente, además de la medicación con tiroxina?

CUADRO 21-1. HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO (1°) CONTRA SECUNDARIO (2°)^a

	HPT 1°	HPT 2°
Calcio sanguíneo	Elevado	Bajo o normal
Concentración de PTH	Elevado	Elevado
Calcio urinario	Elevado	Por lo general bajo
Anormalidad/disfunción	Paratiroidismo	

^a En este cuadro se resumen importantes distinciones entre el hiperparatiroidismo primario (HPT 1°) y el hiperparatiroidismo secundario (HPT 2°), como calcio sanguíneo y PTH, calcio urinario y la ubicación del defecto subyacente.

en varias situaciones, de las cuales la más frecuente es la posquirúrgica. La cirugía del cuello llega a eliminar las glándulas paratiroides o las daña de manera irreversible. El contexto más habitual es la cirugía de la tiroides, como resultado de la proximidad anatómica de la paratiroides a la glándula tiroides. No es posible resaltar lo suficiente la importancia de un cirujano experimentado en cabeza y cuello para ayudar a reducir al máximo la posibilidad de eliminación o daño accidental de la paratiroides. Al igual que sucede con muchas glándulas endocrinas, el tejido paratiroideo es atacado por el sistema inmunitario y origina destrucción de la paratiroides autoinmunitaria. Al hiperparatiroidismo autoinmunitario se le agrupa con otras enfermedades autoinmunitarias, como la diabetes tipo 1, enfermedad de la tiroides autoinmunitaria y enfermedad de Addison. El hiperparatiroidismo autoinmunitario es un poco raro en comparación con otras enfermedades que se observan con mayor frecuencia. El tratamiento del hiperparatiroidismo se centra en el mantenimiento normal del calcio sanguíneo, sin ocasionar otros efectos adversos. La PTH no está disponible en clínica para la terapia de reemplazo (dada la reciente disponibilidad de la PTH₁₋₃₄ recombinante humana, es posible que pronto se utilizará la PTH para tratar el hiperparatiroidismo). Cuando la paratiroides ya no está presente o funciona de manera apropiada, la deficiencia se trata con una dosis relativamente elevada de vitamina D y calcio.²⁴ La vitamina D estimula la absorción intestinal de calcio. Sin embargo, en ausencia de la PTH, el calcio absorbido tal vez se excrete en la orina libre, lo que produce hipercalcemia que, a su vez, pudiera incrementar el riesgo de cálculos renales con contenido de calcio. Por tanto, es necesario que exista cierto equilibrio en el consumo de calcio y vitamina D para prevenir de manera simultánea hipocalcemia e hipercalcemia. Por lo general, el objetivo es mantener el calcio sanguíneo en el extremo inferior de lo normal para ayudar a lograr este equilibrio.

El pseudohiperparatiroidismo es una enfermedad genética que da como resultado desacoplamiento del receptor de la PTH de la adenilato ciclasa, debido a una proteína G estimuladora mutante (G_s).⁷ En esta enfermedad, no hay un efecto fisiológico de la PTH. Ésta se une con su recep-

tor, pero no activa al segundo mensajero, la AMP cíclica (AMPc). Los pacientes tienen hipocalcemia y a menudo hiperfosfatemia, similar a los pacientes con hipoparatiroidismo; sin embargo, al medir la PTH, ésta es elevada. Nótese que la PTH elevada constituye la respuesta fisiológica de tejido paratiroideo normal y sano a la hipocalcemia porque el defecto radica en la señalización a través del receptor de la PTH y no en la glándula paratiroides. Éste es un ejemplo clásico de un síndrome de resistencia hormonal. Además, los pacientes con pseudohipoparatiroidismo tienen baja estatura, y 4° y 5° metacarpianos cortos. Se trata de un trastorno raro, pero un caso instructivo de la medicina molecular y el metabolismo del calcio. El tratamiento consta de calcio y vitamina D, como ya se describió para el hiperparatiroidismo.

La hipovitaminosis D describe de manera amplia un grupo de estados que amenazan al cuerpo con hipocalcemia, como disponibilidad baja de vitamina D,²⁵ metabolismo defectuoso de la vitamina D,²⁶ o mutaciones en el receptor de la vitamina D.²⁶ Estos problemas causan acción insuficiente de la vitamina D (el efecto de la vitamina D es mediado por 1,25(OH)₂ vitamina D que se une al receptor de la vitamina D, un miembro de la familia del supergén receptor nuclear, y regula la transcripción de los genes responsables de la vitamina D). Esto causa la amenaza de hipocalcemia, enfrentada por el desarrollo de hiperparatiroidismo secundario, que reducirá a su mínima expresión la hipocalcemia o la eliminará. El hiperparatiroidismo secundario es una respuesta de adaptación para reducir al máximo la fisiopatología de la acción defectuosa de la vitamina D y nunca se tratará con paratiroidectomía. El tratamiento depende del defecto subyacente. La insuficiencia de vitamina D se trata por reemplazo de la vitamina D con fuentes dietéticas (leche fortificada con vitamina D o suplementos vitamínicos). Los defectos genéticos del metabolismo de la vitamina D se tratan al suministrar el metabolito activo, 1,25(OH)₂D, para evitar el defecto metabólico. Las anomalías genéticas del receptor de la vitamina D tal vez sean más difíciles de tratar; por lo general, se administra 1,25(OH)₂D en dosis farmacológicas, y la respuesta es variable.

El fenómeno del hiperparatiroidismo terciario se menciona de manera breve porque se aborda con frecuencia en la literatura. Por lo general, este trastorno (sin implicaciones respecto a la fisiopatología subyacente) se encuentra en pacientes con insuficiencia o falla renal crónica. La insuficiencia o falla renal es una etiología frecuente para hiperparatiroidismo secundario. Se piensa que la estimulación prolongada de la función de la paratiroides en el hiperparatiroidismo secundario pudiera estimular el desarrollo de un adenoma paratiroideo o hiperplasia paratiroidea, lo que se asemeja al hiperparatiroidismo primario en el establecimiento de hiperparatiroidismo secundario previo.²⁷ Los autores ponen en duda esta supuesta fisiopatología del hiperparatiroidismo terciario: es como si el hipotiroidismo crónico estimulara el desarrollo de adenomas tirotróficos hipofisarios o la enfermedad de Addison estimulara el desarrollo de adenomas corticotropos hipofisarios o la enfermedad de Graves estimulara el desarrollo

de adenomas tiroideos con hiperfunción (ninguna de estas situaciones sucede en realidad). No obstante, abunda la literatura sobre el hiperparatiroidismo terciario. A diferencia de lo que sucede con el hiperparatiroidismo secundario, el terciario casi siempre se trata con medios quirúrgicos.

Causas en el sistema orgánico

Las causas de hipocalcemia en el sistema orgánico se relacionan con los sistemas orgánicos que juegan papeles clave en la homeostasis del calcio.

Los problemas intestinales, que incluyen síndrome del intestino delgado, síndromes de malabsorción y síndromes de secreción, llegan a producir malabsorción de calcio y, por tanto, amenaza de hipocalcemia. Una vez más, la amenaza de hipocalcemia se contrarresta por el desarrollo de hiperparatiroidismo secundario, que trata de mantener el calcio sanguíneo dentro de los límites normales al extraer calcio del hueso y aumentar la reabsorción tubular renal de calcio. Por lo general, el tratamiento consta de dosis elevadas de vitamina D y calcio.

La insuficiencia o falla renal causa hipocalcemia por hiperfosfatemia (la constante del producto de baja solubilidad, K_{bs} , para el fosfato de calcio es $K_{bs} = 1.2 \times 10^{-29}$) y por metabolismo defectuoso de la vitamina D.²⁷ Además, estos pacientes desarrollarán hiperparatiroidismo como respuesta adaptable. El calcio sérico de pacientes tratados con hemodiálisis o diálisis peritoneal es fácil de normalizar (el fosfato no se controla con tanta facilidad mediante diálisis). Por lo general, el trasplante corrige el defecto. El tratamiento con calcitriol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) a menudo es útil, pero conlleva el riesgo concomitante de desarrollo de hipercalcemia.

Otra causa de hipocalcemia es un defecto genético en el túbulo renal que causa incapacidad para recuperar de manera normal el calcio filtrado fuera del líquido tubular. El calcio filtrado se pierde en esencia por la orina. Esto también causa hiperparatiroidismo secundario para prevenir la hipocalcemia, que generaría el consumo inapropiado de calcio. El hiperparatiroidismo aumenta la absorción GI

de calcio y la resorción ósea y aminora la tendencia a hipocalcemia, pero no incrementa la reabsorción tubular de calcio debido al defecto genético. Por tanto, estos pacientes presentan hipercalcemia y tendencia a cálculos renales. El tratamiento para este trastorno es la hidroclorotiazida (HCTZ) a dosis más elevadas que las utilizadas para tratar hipertensión.⁹ Los aspectos finales del tratamiento son la normalización de la excreción de calcio urinario y la normalización de la PTH.

FÁRMACOS QUE AFECTAN EL METABOLISMO DEL CALCIO

Una vez analizada la homeostasis del calcio y la hipercalcemia y la hipocalcemia, hay que mencionar ciertas clases importantes de fármacos que afectan el metabolismo del calcio. Es posible que estos fármacos se relacionen de manera directa con la fisiología endocrina y orgánica ya analizada.

Los fármacos antirresortivos inhiben la resorción ósea mediada por osteoclastos.²⁸ Los fármacos de esta categoría amplia incluyen fármacos que han estado disponibles por varios años para tratar o prevenir osteoporosis, como estrógenos, *bisfosfonatos*, moduladores receptores de estrógeno selectivo (SERMS; el prototipo es la raloxifena), y calcitonina. Estos fármacos actúan a través de varios mecanismos sobre los osteoclastos para prevenir la resorción ósea mediada por osteoclastos, de ahí el nombre de la categoría, *antirresortivos*. Estos fármacos se utilizan en varias situaciones clínicas para ayudar a prevenir la renovación ósea y la pérdida de masa esquelética y a disminuir el riesgo de fractura. Entre los ejemplos clínicos más sobresalientes en encuentran la osteoporosis posmenopáusica, la osteoporosis inducida por glucocorticoides y la osteoporosis idiopática. En algunos casos, varios de estos fármacos se utilizan para tratar hipercalcemia (*vide supra*). De manera específica, varios bisfosfonatos administrados por vía intravenosa se emplean para tratar la hipercalcemia maligna. Además, la calcitonina subcutánea se utiliza para tratar el calcio sanguíneo peligrosamente elevado, aunque

ESTUDIO DE CASO 21-4

Una mujer de 82 años de edad que vive en un hogar para ancianos siente inestabilidad en sus pies y ya no sale mucho a la calle. No ha tomado leche, ya que es intolerante a la lactosa. No toma algún suplemento dietético. Ella dice, "son los estragos de la edad, *doc*" pero por otra parte no tiene ninguna queja específica. En su evaluación de laboratorio anual, se encontró calcio un poco bajo de 8.2 mg/dl (normal, 8.5 a 10.2 mg/dl), con albúmina de 3.5 mg/dl (normal, 3.5 a 4.8 g/dl); NUS, 28; y creatinina, 1.1. Esto indica valoración adicional, que revela PTH intacta elevada a 181 pg/ml y $25(\text{OH})$ vitamina D baja de 6 ng/ml (normal, 20 a 50 ng/ml).

Preguntas

1. ¿Qué posibilidad diagnóstica sugieren los resultados de laboratorio iniciales de su evaluación anual?
2. Este diagnóstico diferencial del paciente incluye dos enfermedades. ¿Cuáles son?
3. ¿Su función renal se relaciona con cualquiera de estas dos enfermedades?
4. ¿Cómo se debe tratar a esta paciente?

la taquifilaxia se desarrolla con rapidez y se establecerán otros medios para reducir el calcio en el momento en que se ponga en práctica.

Además, existen fármacos que estimulan la resorción ósea, sobre todo los glucocorticoides, como la prednisona y la metilprednisolona. Estos fármacos se utilizan de manera amplia para tratar trastornos inflamatorios, como asma, artritis reumatoide y lupus, así como en el régimen de medicamentos antirrechazo que se emplean en pacientes con trasplantes orgánicos. Las dosis farmacológicas de glucocorticoides semejan el efecto del cortisol elevado en el síndrome de Cushing endógeno.²⁹ La prednisona (p. ej., glucocorticoide) afecta al metabolismo del calcio de varias maneras. Una de ellas es a través de la estimulación de los osteoclastos para la resorción ósea. Esto desacopla relativamente la formación y resorción óseas, lo que favorece esta última. El resultado es una pérdida neta de masa ósea (y arquitectura ósea). Una fuente principal de morbilidad relacionada con dosis farmacológicas de glucocorticoides es la osteoporosis inducida por glucocorticoides. Dos bisfosfonatos, el alendronato y risedronato, están aprobados por la Administración de Fármacos y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) de Estados Unidos para el tratamiento de la pérdida ósea inducida por glucocorticoides. Otros medicamentos relacionados con la resorción ósea acelerada incluyen anticonvulsivos (en particular la fenitoína), ciclosporina A y varios agentes citotóxicos.

El litio, un catión monovalente pequeño de la familia alcalino-terra/primer columna de la tabla periódica, se emplea para tratar el trastorno afectivo bipolar. A dosis rutinarias para tratar dicho trastorno, el litio se relaciona con hipercalcemia. Al parecer el litio cambia el punto de ajuste para la regulación del calcio de la secreción de la PTH, lo que favorece una concentración elevada del calcio sanguíneo. Además, es posible que esto aumente la señalización de la PTH al tejido objetivo de la PTH (en particular hueso y riñón), lo que eleva el calcio sanguíneo.

Los diuréticos de la tiazida, que cuentan con un largo historial en el tratamiento de la hipertensión, llegan a causar retención de calcio filtrado de manera glomerular e hipercalcemia o contribuyen a ella. En Estados Unidos, la HCTZ es el agente de esta clase más utilizado. A dosis rutinarias para tratar la hipertensión, la hipercalcemia es rara, aunque los factores que exacerban el efecto hipercalcémico de las tiazidas tal vez incrementen la probabilidad de hipercalcemia relacionada con la tiazida (p. ej., enfermedad renal, hiperparatiroidismo primario).²¹ Sin embargo, la causa de un problema quizá sea el tratamiento de otro. La HCTZ es el tratamiento de elección para la filtración renal genética de calcio que causa hipercalcemia (y predisposición a cálculos renales que contienen calcio) e hiperparatiroidismo secundario.

En fecha reciente, la FDA aprobó la PTH₁₋₃₄ recombinante humana, o *teriparatida*, un fármaco con el que, por primera vez, se logra la estimulación directa de la formación ósea mediada por osteoblastos.³⁰ Debido a que se trata de una hormona peptídica, debe administrarse de manera parenteral (de manera semejante a la insulina); se inyecta por vía subcutánea de la misma forma que la insulina. Aun-

que parece paradójico, la PTH, la hormona ya descrita para reabsorber hueso, también se utiliza para construir hueso. Esto tiene que ver con la farmacocinética de la teriparatida. En las células óseas, sólo los osteoblastos expresan receptores de la PTH. La teriparatida, administrada una vez al día, tiene una vida media breve en el suero, de alrededor de una a dos horas, y sale del sistema en sólo unas cuantas horas. La administración una vez al día de la teriparatida señala a los osteoblastos la construcción de hueso; sin embargo, debido a la duración de la señal, no permite que los osteoblastos envíen la señal de la citocina a los osteoclastos (a los que habrían respondido por resorción del hueso). La teriparatida estimula la formación del hueso cortical y trabecular sin una respuesta de resorción ósea acoplada. Sólo está aprobada para tratar osteoporosis grave. Sin embargo, tiene otros usos, como el tratamiento de hipoparatiroidismo y aumento de la curación de fracturas, que están bajo estudio. Además, es posible utilizarla en combinación con un fármaco antirresortivo, que llega a potenciar aún más el efecto del medicamento sobre el esqueleto.

Está en desarrollo una interesante nueva clase de fármacos, los calcimiméticos, para tratar el hipertiroidismo. El congénere de esta clase, *cinacalcet*, es un agonista del receptor sensible al calcio.³¹ Al unirse al receptor sensible al calcio en el tejido paratiroideo, este agente señala a la célula paratiroidea que hay calcio ambiental adecuado, que subregula la transcripción del gen de la PTH y la secreción de PTH. Este agente se encuentra bajo estudios clínicos para evaluar su función en el tratamiento no quirúrgico del hiperparatiroidismo primario y como coadyuvante para el tratamiento del carcinoma paratiroideo y el hiperparatiroidismo secundario.

ENFERMEDADES ÓSEAS METABÓLICAS

Varios estados patológicos afectan la microarquitectura y macroarquitectura, la fuerza y la integridad del esqueleto. Los ejemplos que se proporcionan aquí constituyen modelos para la enseñanza o suelen encontrarse en ciertas poblaciones de pacientes. En la mayor parte de los casos, estos modelos se relacionan con los principios fisiológicos antes revisados.

Raquitismo y osteomalacia

El *raquitismo* y la *osteomalacia* son enfermedades del metabolismo de la vitamina D.^{25,26} Ambas enfermedades muestran defectos en la mineralización del esqueleto (deposición de calcio y fosfato, o hidroxiapatita, en hueso). Una diferencia distintiva entre estas enfermedades es la edad de inicio: el raquitismo se caracteriza por comenzar en la infancia, en tanto que la osteomalacia aparece en la edad adulta. Varios defectos causan raquitismo y osteomalacia; de acuerdo con el momento de inicio, las manifestaciones esqueléticas difieren. El raquitismo está relacionado con deformidades óseas debido a la presión de los huesos largos bajo la influencia de la gravedad. Puesto que los huesos ya están formados para el momento de inicio de la osteomalacia, dicha deformidad ósea no se manifiesta. Por lo general, ambos trastornos están vinculados con el desarrollo del hiperparatiroidismo

secundario. En ambos casos, es posible que surjan fracturas a causa de la deficiente estructura ósea; es probable que éstas contribuyan a hiperparatiroidismo secundario. En ocasiones se observa hipocalcemia, aunque también llega a encubrirse por los efectos del hiperparatiroidismo secundario. Gracias a la existencia de la leche fortificada con vitamina D y a la conciencia pública, ambos trastornos se volvieron menos frecuentes que a principios del siglo pasado. No obstante, la gente de cualquier edad que no recibe la luz solar y aquella que no incluye suplementos en su dieta están en riesgo de deficiencia en vitamina D. La pertinencia de la vitamina D en el cuerpo se valora por la concentración sanguínea de la 25-hidroxivitamina D. Debido a que en estas condiciones también se espera hiperparatiroidismo secundario, se obtendrán PTH intacta en suero y calcio, y albúmina o calcio ionizado para su confirmación.

El raquitismo se origina, también, por los defectos genéticos en el metabolismo de la vitamina D o en el receptor de la vitamina D.²⁶ El análisis bioquímico de pertinencia de la vitamina D (25(OH)vitamina D) tal vez sea normal, lo que depende del defecto. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ es baja, normal o elevada, de acuerdo con el defecto genético. Los defectos en el metabolismo de la vitamina D se tratan de mejor manera al administrar el compuesto de actividad metabólica, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (calcitriol). Se han descrito varios defectos del receptor de la vitamina D, que incluyen la unión anormal del ligando, la unión anormal del DNA y la transactivación anormal de la maquinaria transcripcional en el sitio regulatorio de los genes de respuesta de la vitamina D. El defecto determina la conveniencia con que el paciente responderá a las dosis farmacológicas de calcitriol.

Osteoporosis

Se le considera una consecuencia inevitable de la edad y es la enfermedad ósea metabólica más frecuente en adultos. La osteoporosis es una enfermedad silenciosa hasta que

causa una fractura, con frecuencia a un grado de traumatismo que no habría causado una fractura en un esqueleto no osteoporótico (es decir, la fractura por fragilidad osteoporótica). En la actualidad, se reconoce que la osteoporosis es una enfermedad específica con significado personal y consecuencias en la salud pública. Con este reconocimiento, se lograron avances importantes en el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de la osteoporosis.

En Estados Unidos, la osteoporosis afecta a un estimado de 20 a 25 millones de habitantes (con predominancia de alrededor de 4:1, mujeres:hombres) y causa cerca de un millón y medio de fracturas cada año.³² La mayor parte son compresiones vertebrales, seguida por la cadera, y después por el antebrazo distal, las costillas y el húmero. La fractura osteoporótica más mórbida es la de cadera, en ésta todas las fracturas requieren cirugía. Aunque alrededor de la mitad de las compresiones vertebrales llega a ser asintomática, la fractura de cadera conlleva una morbilidad importante, así como mayor mortalidad. De hecho, la mortalidad por fractura de cadera aumenta alrededor de 20% en el primer año después de la fractura. Además, se piensa que en la actualidad la cantidad de muertes relacionadas con fractura de cadera es igual a la de cáncer de pecho.

Existen varios factores de riesgo para la disminución de la masa ósea con aumento concomitante de riesgo de fractura,³² pero la valoración del factor de riesgo por sí sola constituye un pobre factor pronóstico de osteoporosis. Los factores de riesgo aceptados de disminución de la masa ósea incluyen hipogonadismo (más a menudo el estado posmenopáusico en mujeres, pero también hipogonadismo en hombres), incremento de la edad, antecedente familiar de osteoporosis (aunque el gen o los genes implicados no se conocen), hábitos corporales de delgadez, ascendencia caucásica o asiática, tabaquismo, alcoholismo, exceso de glucocorticoides (síndrome de Cushing o, con mayor frecuencia, administración exógena), hiperparatiroidismo, trastornos del metabolismo de la vitamina D, hipertiroidismo endó-

ESTUDIO DE CASO 21-5

Una niña de 6 años de edad es llevada con el pediatra debido a que sus padres informan que su altura no se desarrolla de la manera en que ellos piensan que debería hacerlo (o como lo hizo su hermana de 8 años) y sus piernas tienen aspecto arqueado. La paciente toma leche y, más allá de su baja estatura y sus piernas arqueadas, tiene las características normales de sus amigos de 6 años. No toma medicamentos. Sus antecedentes familiares incluyen primos en la familia del padre con un problema similar. El pediatra obtiene resultados de laboratorio que son notables para calcio, 7.2 mg/dl (normal, 8.5 a 10.2 mg/dl), con albúmina, 4.1 g/dl (normal 3.5 a 4.8 g/dl). En la radiografía de la extremidad inferior se muestra arqueado de los huesos largos y desmineralización generalizada. Esto indica la obtención de otras pruebas de laboratorio, mismas que revelan una PTH intacta elevada a 866 pg/ml (normal, 11 a 54 pg/ml); 25(OH) vitamina D, normal a 35 ng/ml

(normal, 20 a 57 ng/ml); y $1,25(\text{OH})_2$ vitamina D indetectable a <1 pg/ml (normal, 20 a 75 pg/ml).

Preguntas

1. ¿Cuál trastorno indican las pruebas preliminares de laboratorio?
2. ¿Cuál es el significado de las concentraciones de 25(OH) vitamina D y de $1,25(\text{OH})_2$ vitamina D en las pruebas de laboratorio de seguimiento?
3. Describa el error innato del metabolismo de esta paciente.
4. ¿Cuál trastorno secundario ocurrirá si el tratamiento de la vitamina D se interrumpe en una etapa posterior de su vida?

CUADRO 21-2. PRUEBAS DE LABORATORIO QUE SON ÚTILES EN LA EVALUACIÓN DE PACIENTES PARA DENSIDAD ÓSEA BAJA O FRACTURA^a

NUS, creatinina
Bicarbonato
Calcio y albúmina (o calcio ionizado)
Fracción de globulina (proteína-albúmina total)
Fosfatasa alcalina, fosfatasa alcalina específica del hueso, osteocalcina
TSH, T ₄ libre
Gonadotropinas, estradiol o testosterona
PTH intacta
RSC, WBC diferencial
25-hidroxivitamina D
1,25 dihidroxivitamina D
Calcio urinario a las 24 horas
Otras pruebas de laboratorio de acuerdo con el perfil del paciente: PTHrP, cortisol libre urinario, electroforesis proteica en suero, proteína de Bence Jones
Radiografías del sitio del esqueleto en cuestión
Densitometría mineral ósea (DEXA)
Otros análisis de acuerdo con el perfil del paciente

^a Se enumeran las pruebas de laboratorio (no todas concluyentes) que son útiles en la determinación de insuficiencia renal, acidosis, hipercalcemia, aumento de la fracción de globulina, renovación ósea, función tiroidea, hiperparatiroidismo, hipercalcúria, anemia, pertinencia de vitamina D y otras dirigidas de manera más específica a cualquier anomalía encontrada o considerada.

geno (en particular mujeres posmenopáusicas) y algunas malignidades (incluyendo la ausencia de metástasis ósea). Algunos de estos factores cuentan con terapias específicas, en las que se pone énfasis en la importancia de la evaluación y el tratamiento de las causas secundarias de la pérdida ósea antes de tan sólo comenzar con la terapia general para

osteoporosis. Varias pruebas de laboratorio son útiles en el diagnóstico de osteoporosis u otros procesos patológicos que tal vez ocasionen salud ósea deficiente (cuadro 21-2).

La osteoporosis se diagnostica con base en una fractura que ocurre a un grado inapropiado de traumatismo (*osteoporótico*, o fractura por *fragilidad*). Dichas fracturas no incluyen aquellas que suceden a un grado apropiado de traumatismo. La ocurrencia de una primera fractura por fragilidad predice más fracturas de este tipo. Es preferible diagnosticar osteoporosis antes de la ocurrencia de una primera fractura por fragilidad. Esto es posible al utilizar absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA, por sus siglas en inglés) de la espina lumbar y la cadera. Esta técnica, a la que se le suele conocer como *densitometría mineral ósea* (o densidad mineral ósea o densidad ósea), en esencia mide la mineralización ósea. Lo que DEXA mide en realidad son los gramos de calcio por centímetro cuadrado del área seccional transversal de hueso (g/cm^2), es decir, no una *densidad masa/volumen*, o g/cm^3 en absoluto; sin embargo, la terminología de *densidad* ha permanecido. El riesgo mínimo de fractura en la vida sucede cuando la densidad ósea está en su valor máximo, por lo general alrededor de los 30 años de edad tanto en hombres como en mujeres, y se incrementa cuando se pierde masa ósea (fig. 21-7). El diagnóstico de osteoporosis basado en la densitometría ósea se establece al comparar la densidad ósea del paciente con el promedio de densidad ósea máxima correspondiente al grupo étnico y género en la vida. Esto se informa como desviaciones estándar por arriba o debajo de la masa ósea máxima, como una calificación T (+ = arriba del promedio máximo en la vida; - = debajo del promedio máximo en la vida). La densidad ósea normal se encuentra por arriba de una calificación T de -1.0. La osteoporosis se indica por una calificación T de -2.5 o menor. Un intermedio entre normal y osteoporosis, la osteopenia, se diagnostica como una calificación T entre -1.0 y -2.5.

La terapia de la osteoporosis está dirigida a un objetivo: la prevención de la fractura. El tratamiento debe incluir modificación de factores de riesgo evitables, como el tabaquismo, el estilo de vida sedentario, el alcohol excesivo y la ingesta adecuada de calcio (por lo general, 1 500 mg por día) y vitamina D (400 UI/día es el mínimo recomendado; lo dosis óptima tal vez sea cercana a 800 a 1 000 UI/día).

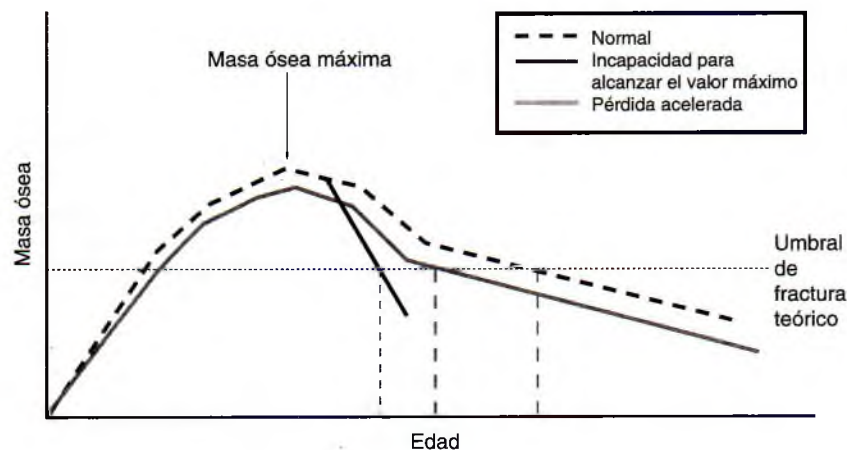


FIGURA 21-7. La masa ósea como función de la edad; las perturbaciones que la afectan. Se muestra la acumulación de la masa ósea con la edad a un valor máximo que ocurre a mediados de la tercera década de vida y principios de la cuarta (en ambos sexos), y la pérdida ósea que ocurre a lo largo de la vida después de este valor máximo. El riesgo de fractura se incrementa a medida que se pierde masa ósea. El "umbral de fractura teórico" es una noción artificial, pero tal vez sea útil en la demostración de que a un grado dado de traumatismo (que varía del simple acto de levantar peso al aumento de los niveles de impacto) los factores que están relacionados con la masa ósea baja elevan el riesgo de fractura, y que la edad a la que se alcanza el riesgo de fractura es relativamente menor que la mínima a la que se alcanza la masa ósea más baja.

ESTUDIO DE CASO 21-6

Una mujer de 74 años de edad se resbaló al trapear el suelo de la cocina y sufrió una fractura de cadera, que se trató con reducción abierta y fijación interna (RAFI). Después de darla de alta del hospital, acude con su médico, para preguntarle si padece osteoporosis y, si es así, lo que tiene que hacer. No toma suplementos dietéticos de calcio ni de vitamina D y sólo consume leche en su cereal. La mujer tiene asma, y ha recibido tratamiento con descarga de prednisona y adelgazadores alrededor de seis veces en su vida (al menos eso es lo que recuerda). Entró en la menopausia a la edad de 49 años y nunca se sometió a reemplazo hormonal. Además de su cadera, no informa otras fracturas en la edad adulta, pero indica que ha perdido alrededor de 6 cm de altura. Piensa que su madre tuvo osteoporosis porque padeció cifosis. El médico ordena una densitometría ósea, en la que se muestra una calificación T de la espi-

na AP de -3.8 y calificación T de la cadera (realizada sobre la parte de la cadera que no estaba rota) de -3.1. Los resultados de laboratorio muestran calcio y albúmina, función renal, función de la tiroides, fracción de globulina (proteína-albúmina total) y RSC normales. La fosfatasa alcalina se encuentra un poco elevada, pero se debe a que tuvo una fractura reciente.

Preguntas

1. ¿Cuál es el diagnóstico de esta paciente?
2. Mencione cinco factores de riesgo para este diagnóstico.
3. Además de los suplementos de calcio y vitamina D adecuados, ¿para cuál otro nuevo fármaco terapéutico sería candidata esta paciente?

La terapia llega a incluir prevención de osteoporosis y tratamiento de la osteoporosis establecida. El objetivo de la prevención de la osteoporosis es intervenir antes de que exista pérdida importante de masa ósea. Por lo general, las terapias farmacológicas utilizadas con mayor frecuencia se clasifican como antirresortivas, ya que inhiben la resorción ósea mediada por osteoclastos.^{28,29} Estos fármacos incluyen los bisfosfonatos (alendronato y risedronato), el modulador receptor de estrógeno selectivo (raloxifeno), el reemplazo hormonal gonadal (estrógeno \pm progestina en mujeres y testosterona en hombres) y la calcitonina. La teriparatida (PTH₁₋₃₄ recombinante humana), lanzada en fecha reciente, es el primer agente disponible para el tratamiento de osteoporosis que funciona a través de la estimulación directa de la formación ósea mediada por osteoblastos.³⁰ La experiencia con la teriparatida es limitada hasta el momento. Las contraindicaciones para la teriparatida incluyen hipercalcemia; hiperparatiroidismo; falta de cierre epifisario (niños); y osteosarcoma, un raro cáncer óseo.

La parte del tratamiento de la osteoporosis debe incluir análisis sobre la prevención de caídas y recomendación de

medidas para disminuir el riesgo de caída, como andadores, barandales, luces nocturnas y almohadillas para la cadera.

RESUMEN

Se revisaron los componentes clave de la homeostasis y el metabolismo del calcio, así como los principales sistemas orgánicos y hormonas implicados en la regulación del calcio sanguíneo. En este capítulo se abordaron los estados patológicos de hipercalcemia e hipocalcemia y se les relacionó como los mismos sistemas orgánicos y hormonas, en tanto se incorporó al análisis los factores genéticos y ambientales que afectan la homeostasis del calcio. Se estudiaron, también, varios estados patológicos vinculados con los sistemas orgánicos y la fisiología endocrina, además de varios fármacos que es posible utilizar para tratar estos trastornos. La esperanza de los autores es que este breve resumen ayude al lector a relacionarse de mejor manera con el cuidado del paciente con respecto a problemas de la homeostasis del calcio.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Cuáles hormonas principales participan en la regulación fisiológica normal de la homeostasis del calcio?
2. ¿Cuáles órganos principales están implicados en el mantenimiento de la homeostasis del calcio?
3. ¿Cuál tejido participa en la producción del metabolito activo de la vitamina D?
4. ¿Cuáles son las fuentes principales de vitamina D?
5. ¿Cuál es la mejor prueba sanguínea para determinar la pertinencia de vitamina D?
6. ¿Cuál hormona es más probable que sea producida por cánceres y cause hipercalcemia relacionada con cáncer? En este trastorno, ¿la PTH está elevada, normal o suprimida?
7. ¿Cuál hormona es más probable que sea producida por enfermedades granulomatosas o trastornos linfoides y cause hipercalcemia? En este trastorno, ¿la PTH está elevada, normal o suprimida?

8. ¿Dónde se localiza el defecto en el hiperparatiroidismo primario? ¿Y en el hiperparatiroidismo secundario?
9. ¿Cuál es el riesgo principal de hipercalcemia (aumento de la excreción urinaria de calcio)? ¿Cómo se mide la hipercalcemia?
10. ¿Cuál es la causa más frecuente de hipoparatiroidismo?
11. ¿Cuáles son los dos tipos de hueso? ¿Cuál se pierde con mayor rapidez en respuesta al hipogonadismo y a la terapia con glucocorticoides?
12. ¿Cuáles células del hueso son responsables de la resorción ósea? ¿Y de la formación ósea?
13. ¿Cuál es la enfermedad ósea metabólica mas prevalente en Estados Unidos?
14. Mencione tres categorías de fármacos que llegan a inhibir la resorción ósea en pacientes osteoporóticos.
15. Mencione el único fármaco aprobado en la actualidad para el tratamiento de osteoporosis grave que estimula de manera directa la formación ósea (es decir, no se trata de un medicamento antirresortivo).

REFERENCIAS

1. Favus MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:1-232.
2. Broadus AE. Mineral balance and homeostasis. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:74-80.
3. Portale AA. Blood calcium, phosphorus, and magnesium. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:15-18.
4. Holick MF. Vitamin D: photobiology, metabolism, mechanism of action, and clinical applications. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:92-98.
5. Juppner H, Brown EM, Kronenberg HM. Parathyroid hormone. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:80-87.
6. Blind E, Gagel RF. Assay methods: parathyroid hormone, parathyroid hormone-related protein, and calcitonin. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:119-124.
7. Levine MA. Parathyroid hormone resistance syndromes. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:230-238.
8. Lemann J Jr, Favus MJ. The intestinal absorption of calcium, magnesium, and phosphate. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:63-67.
9. Bushinsky DA. Calcium, magnesium, and phosphorus: renal handling and urinary excretion. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:67-74.
10. Mundy GR. Bone remodeling. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:30-38.
11. Baron R. Anatomy and ultrastructure of bone. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:3-10.
12. Shane E. Hypercalcemia: pathogenesis, clinical manifestations, differential diagnosis, and management. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:183-187.
13. Bilezikian JP. Primary hyperparathyroidism. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:187-192.
14. Heath H III, Hobbs MR. Familial hyperparathyroid syndromes. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:192-195.
15. Marx SJ. Familial hypocalciuric hypercalcemia. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:195-198.
16. Adams JS. Hypercalcemia due to granuloma-forming disorders. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:212-214.
17. Mundy GR, Yoneda T, Guise TA. Hypercalcemia in hematologic malignancies and solid tumors associated with extensive localized bone destruction. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:208-212.
18. Strewler GJ, Nissenson RA. Parathyroid hormone-related protein. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:88-91.
19. Roberts MM, Stewart AF. Humoral hypercalcemia of malignancy. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:203-207.
20. Knecht TP, Behling CA, Burton DW, Glass CK, Deftos LJ. The humoral hypercalcemia of benignancy: a newly appreciated syndrome. *Am J Clin Pathol* 1996;105:487-492.
21. Stewart AF. Miscellaneous causes of hypercalcemia. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:215-219.
22. Goodman WG, Coburn JW, Slatopolsky E, Salusky IB. Renal osteodystrophy in adults and children. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:347-363.
23. Shane E. Hypocalcemia: pathogenesis, differential diagnosis, and management. In: Favus, MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:215-219.

- Diseases and Disorders of Mineral Metabolism, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:223–226.
24. Goltzman D, Cole DEC. Hypoparathyroidism. In: Favus MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:226–230.
 25. Klein GL. Nutritional rickets and osteomalacia. In: Favus MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:315–319.
 26. Liberman UA, Marx SJ. Vitamin D-dependent rickets. In: Favus MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:323–328.
 27. Indridason OS, Quarles LD. Tertiary hyperparathyroidism and refractory secondary hyperparathyroidism. In: Favus MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:198–202.
 28. Watts NB. Pharmacology of agents to treat osteoporosis. In: Favus MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:278–283.
 29. Lukert BP. Glucocorticoid-induced osteoporosis. In: Favus MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:292–296.
 30. Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2001;344:1434–1441.
 31. Goodman WG. Calcimimetic agents and secondary hyperparathyroidism: treatment and prevention. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:204–207.
 32. Wasnich RD. Epidemiology of osteoporosis. In: Favus MJ, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:257–259.

Función hepática

Edward P. Fody

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- **ANATOMÍA**
 - Unidad estructural
- **FISIOLOGÍA**
 - Función excretora y secretora
 - Actividad principal de síntesis
 - Desintoxicación y metabolismo de fármacos
- **TRASTORNOS DEL HÍGADO**
 - Ictericia
 - Cirrosis
 - Tumores
 - Síndrome de Reye
 - Trastornos relacionados con fármacos y alcohol
- **EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN HEPÁTICA**
 - Análisis de la bilirrubina
 - Urobilinógeno en orina y heces
 - Medición de los ácidos biliares en el suero
 - Pruebas enzimáticas en la enfermedad hepática
 - Pruebas de medición de la capacidad sintética del hígado
 - Pruebas de medición del metabolismo del nitrógeno
- **RESUMEN**
- **PREGUNTAS DE REPASO**
- **REFERENCIAS**

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Hacer el diagrama de la anatomía del hígado.
- Explicar las funciones fisiológicas del hígado para incluir secreción de la bilis, actividad sintética y desintoxicación.
- Analizar los trastornos básicos del hígado y las pruebas de laboratorio que pueden realizarse para diagnosticarlos.
- Evaluar la información para determinar cualquier trastorno, considerando los datos clínicos del paciente.
- Clasificar los tres tipos de ictericia y analizar las causas.
- Explicar los principios de las pruebas para la bilirrubina.
- Identificar las enzimas más comunes usadas en la evaluación de la enfermedad hepatobiliar.
- Diferenciar los diversos tipos de hepatitis para incluir causa (es decir, bacteria o virus), transmisión, ocurrencia, nombre alterno, fisiología, diagnóstico y tratamiento.

TÉRMINOS CLAVE

Bilirrubina
Bilirrubina conjugada
Bilis
Células de Kupffer

Cirrosis
Hepatitis
Hepatoma

Ictericia
Lóbulo
Poshepática

Prehepática
Sinusoides
Urobilinógeno

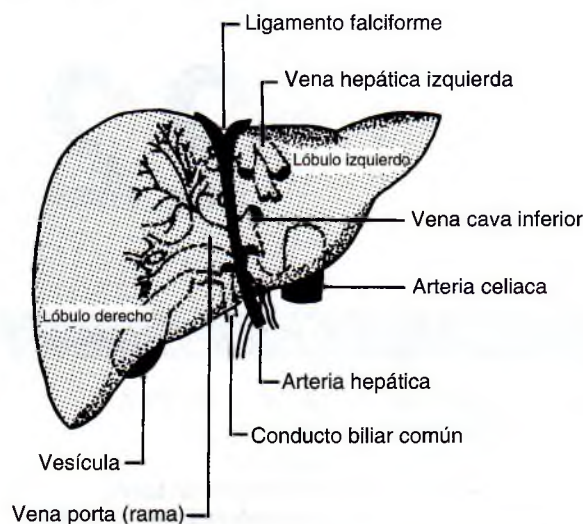


FIGURA 22-1. Anatomía general del hígado, mostrando los principales vasos sanguíneos y los canales biliares. (Adaptado de Tietz NW. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. Philadelphia; WB Saunders, 1976.)

En el pasado, se ha mencionado que el hígado es el centro del valor, la pasión, el temple, el amor y hasta del alma. Alguna vez se creyó que producía la “bilis amarilla” necesaria para la buena salud. Hoy en día, se reconoce al hígado como un órgano complejo, responsable de muchas funciones metabólicas importantes en el cuerpo. En cier-

to momento hubo más de cien pruebas que medían esas diversas funciones en el laboratorio clínico. Sin embargo, muchas fueron abandonadas a favor de las que han demostrado ser clínicamente más útiles. En este capítulo se analizan las pruebas de la función hepática más usadas, con particular énfasis en la metodología actual.

ANATOMÍA

El hígado es el órgano más grande y versátil del cuerpo (fig. 22-1). Está conformado por dos lóbulos principales que, juntos, pesan de 1 400 a 1 600 g en un adulto normal. Este órgano rojizo-castaño se localiza bajo el diafragma, en el cuadrante superior derecho del abdomen. Tiene un suministro de sangre abundante; recibe alrededor de 15 ml/min desde dos vasos principales: arteria hepática y porta. La primera, una rama de la aorta, contribuye con 20% del suministro sanguíneo y proporciona casi todas las necesidades de oxígeno. La vena porta, que drena al tracto gastrointestinal, transporta del intestino al hígado casi todo el material absorbido recientemente. Dentro del tejido conectivo del hígado, estos vasos se dividen en numerosas ramas pequeñas que forman una red vascular alrededor de los llamados *lóbulos*.¹

Unidad estructural

El *lóbullo* (de 1 a 2 mm de ancho) forma la unidad estructural del hígado (fig. 22-2). Está conformado por células

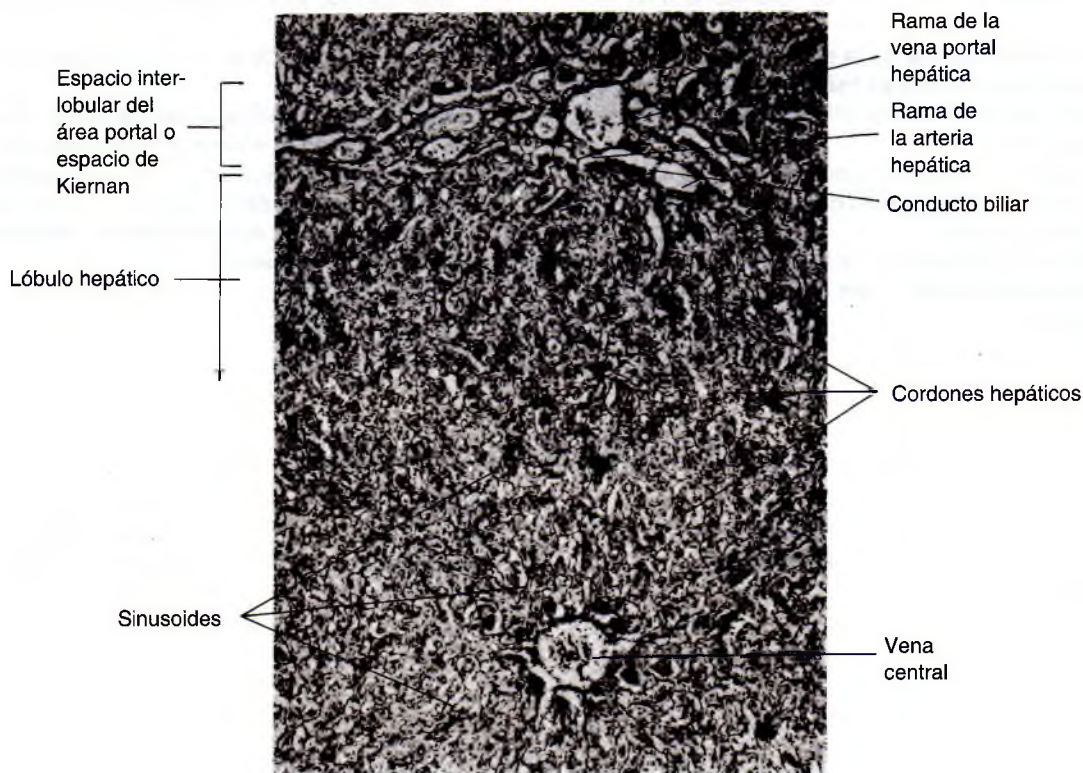


FIGURA 22-2. Lóbulo hepático (vista panorámica) (Fotografía cortesía de James Furlong, MD.)

hepáticas (hepatocitos) irradiados desde una vena central. El límite de cada lóbulo está formado por un tracto portal compuesto de tejido conectivo que contiene una rama de la arteria hepática, de la vena portal y un conducto biliar. Entre los cordones de las células hepáticas se encuentran espacios vasculares, llamados *sinusoides*, que están alineados por células endoteliales y de Kupffer. Estos espacios reciben sangre de las ramas pequeñas de la arteria hepática y la vena portal, que están localizadas en los tractos portales. Las células de Kupffer son macrófagos fagocíticos capaces de ingerir bacterias u otro material extraño desde la sangre que fluye a través de los sinusoides. La sangre desde los sinusoides drena dentro de las venas centrales (vénula hepática) y luego hacia las venas hepáticas y la vena cava inferior. Los canalillos biliares primarios son canalizaciones, de 1 a 2 mm de ancho, localizados entre los hepatocitos. Los canalillos biliares se interconectan extensamente e incrementan su tamaño hasta que se conectan con los conductos biliares más grandes en los tractos portales.^{2,3}

FISIOLOGÍA

El hígado realiza varios centenares de funciones conocidas cada día, incluyendo numerosas funciones metabólicas, secretoras y excretoras. La pérdida total del hígado suele ocasionar la muerte por hipoglucemia en 24 h. Aunque existen muchas funciones hepáticas, en este capítulo se analizan las más importantes en la patología del hígado.

Función excretora y secretora

Una de las funciones hepáticas más importantes, que se ve alterada en un gran número de trastornos hepáticos, es la excreción de bilis. La *bilis* incluye ácidos biliares o sales,⁴ los pigmentos biliares (principalmente ésteres de bilirrubina), colesterol y otras sustancias extraídas de la sangre. La producción total de bilis promedia alrededor de 3 L por día, aunque sólo se excreta 1 L. Los principales ácidos biliares, el ácido cólico y el quenodesoxicólico, se forman en el hígado a partir del colesterol. Los ácidos biliares están conjugados con los aminoácidos glicina o taurina, formando sales biliares. Estas sales (ácidos biliares conjugados) se excretan dentro de los canalillos biliares por medio de un sistema de transporte activo mediado por un mensajero. Durante el ayuno y entre las comidas, una porción mayor de acumulación de ácidos biliares se concentra más de 10 veces en la vesícula. Los ácidos biliares alcanzan el intestino cuando la vesícula se contrae después de cada comida. De 500 a 600 ml de bilis entran al duodeno cada día. Aquí, la bilis participa de manera íntima en la digestión y absorción de lípidos. Cuando los ácidos biliares conjugados (sales) entran en contacto con bacterias en el íleo terminal y el colon, ocurre la deshidratación de ácidos biliares secundarios (desoxicólico y litocólico); después, estos ácidos biliares secundarios son absorbidos, entran a la circulación portal y regresan al hígado, donde se conjugan y se vuelven a excretar. La circulación enterohepática de la bilis ocurre diario de dos a cinco a 5 veces.⁵⁻⁷

La *bilirrubina*, el pigmento principal de la bilis, se deriva del rompimiento de la hemoglobina cuando los glóbulos

rojos antiguos son fagocitados por el sistema reticuloendotelial, sobre todo en el bazo, el hígado y la médula ósea. Cerca de 80% de la bilirrubina formada diariamente proviene de la degradación de la hemoglobina. El resto proviene de la destrucción de las proteínas que contienen hemo (mioglobina, citocromos, catalasa) y del catabolismo del hemo (fig. 22-3).

Cuando se destruye la hemoglobina, el cuerpo recicla parte de la proteína (globina). El hierro entra a los almacenes de hierro del cuerpo y también se recicla. La porfirina

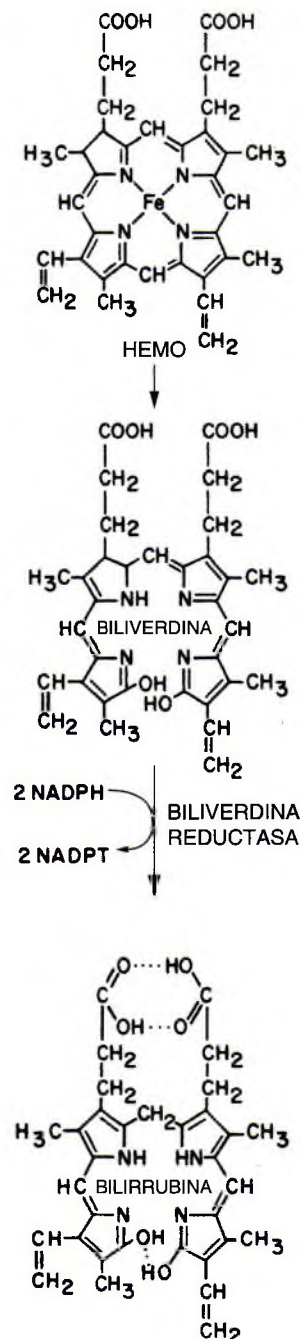


FIGURA 22-3. Catabolismo del hemo, que lleva a la formación de bilirrubina.

se rompe como un producto de desecho y se excreta. Esta acción de división del anillo de porfirina y la liberación de hierro y globulina forma biliverdina, que se reduce fácilmente a bilirrubina.

La bilirrubina es transportada al hígado en el torrente sanguíneo ligada a proteínas, principalmente la albúmina. Luego es separada de la albúmina y capturada por las células hepáticas. Dos proteínas no albúminas, aisladas del citoplasma celular hepático y designadas Y y Z, cuentan para la unión intracelular y el transporte de la bilirrubina. La conjugación (esterificación) de la bilirrubina ocurre en el retículo endoplásmico del hepatocito. Una enzima, la uridildifosfato glucuronil transferasa (UDPGT), transfiere una molécula de ácido glucurónico a cada una de las dos cadenas del lado del ácido propiónico en bilirrubina, convirtiendo la bilirrubina en un éster diglucuronido. Este producto, diglucuronido de bilirrubina, es mencionado como *bilirrubina conjugada*. La bilirrubina conjugada, que es soluble en agua, es secretada a partir de la célula hepática en los canalillos biliares y luego pasa con el resto de la bilis a los conductos biliares más grandes y eventualmente en el intestino. En la porción mas baja del tracto intestinal, sobre todo en el colon, las enzimas presentes en las bacterias intestinales actúan sobre los pigmentos biliares. El primer producto de esta reacción es la mesobilirrubina, que es reducida a la forma mesobilirrubinógeno y en seguida en urobilinógeno, un producto incoloro. La oxidación del urobilinógeno produce la urobilina, un pigmento de color rojo castaño, que es excretado en las heces fecales. Una pequeña porción de urobilinógeno es reabsorbida en la circulación portal y regresado al hígado, donde se excreta de nuevo en la bilis. Sin embargo, una pequeña cantidad permanece en la sangre. Este urobilinógeno es finalmente filtrado por el riñón y excretado en la orina (fig. 22-4).

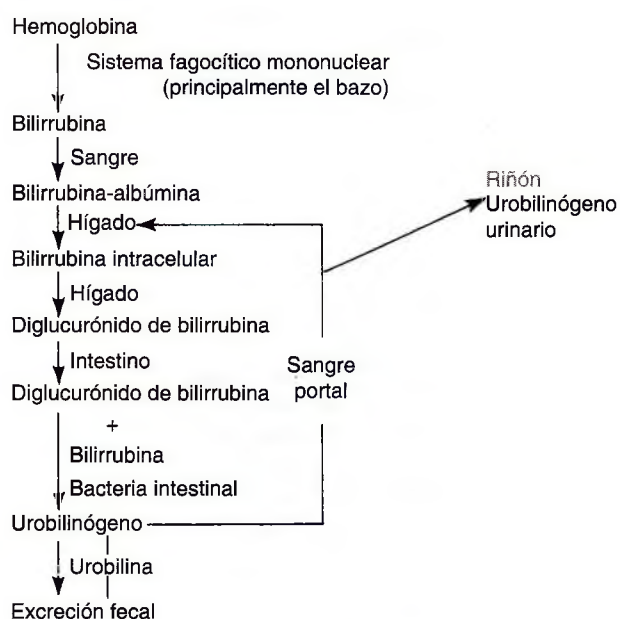


FIGURA 22-4. Metabolismo de la bilirrubina.

Un adulto sano produce un total de 200 a 300 mg de bilirrubina al día. Para eliminar esta cantidad de bilirrubina del cuerpo se requiere un hígado con funcionamiento normal. Esta función excretora requiere que la bilirrubina esté en la forma conjugada; es decir, el diglucuronido soluble en agua. Casi toda la bilirrubina formada se elimina en las heces, y una pequeña cantidad del producto incoloro urobilinógeno se excreta por la orina. Bajo circunstancias normales, en el suero se encuentra una concentración baja de bilirrubina (de 0.2 a 1.0 mg/dl), casi toda en forma no conjugada. Un porcentaje pequeño (0.2 mg/dl) de esta bilirrubina total existe en el suero normal en forma conjugada.⁸

Cuando aumenta la concentración de bilirrubina en la sangre, el pigmento empieza a ser depositado en la esclerótica y en la piel. Esta pigmentación amarillenta en estas partes es conocida como *ictericia*.^{9,10}

La ictericia puede deberse a varios mecanismos fisiopatológicos. Por ejemplo, puede haber un incremento en la carga de bilirrubina en la célula hepática o una perturbación en la captación y transporte de la bilirrubina dentro de esta célula. Además, puede haber defectos en la conjugación o excreción de la bilirrubina dentro de la bilis. Pueden surgir dificultades adicionales debido a la obstrucción de los grandes conductos de la bilis antes de que la bilirrubina alcance el intestino. Varias clasificaciones de ictericia se encuentran en la literatura. Una de las que se usan con más frecuencia está basada en el sitio en que tal vez se encuentre la anomalía fisiológica o anatómica. En esta clasificación, existen tres tipos predominantes de ictericia: prehepática, hepática y poshepática.⁹

La ictericia *prehepática* se produce cuando una cantidad excesiva de bilirrubina se presenta en el hígado para su metabolismo, como en la anemia hemolítica. Este tipo de ictericia se caracteriza por hiperbilirrubinemia no conjugada. Sin embargo, los niveles de bilirrubina séricos rara vez exceden los 5 mg/dl, porque el hígado normal es capaz de manejar casi todo el exceso de carga. La bilirrubina no conjugada es insoluble en agua y se liga a la albúmina para que el riñón no la filtre fuera de la sangre. Por lo tanto, la bilirrubina no aparecerá en la orina en este tipo de ictericia.

El porcentaje más grande de pacientes tiene ictericia hepática. Ésta puede surgir a partir de problemas en la captación celular, conjugación defectuosa o secreción anormal de la bilirrubina por parte de la célula hepática.¹⁰

El síndrome de Gilbert es un trastorno relativamente común caracterizado por la captura celular de bilirrubina. Los individuos afectados no tienen síntomas, pero pueden presentar ictericia leve. El nivel elevado de bilirrubina es menos de 3 mg/100 ml y no es conjugada. El síndrome de Crigler-Najjar es un trastorno más serio causado por la deficiencia de la enzima UDPGT. Se han descrito dos tipos. El I, en que existe una completa ausencia de la enzima, es raro. Se forma bilirrubina no conjugada, y la bilis es incolora. Este tipo es uniformemente fatal. En el tipo II, el síndrome de Crigler-Najjar, hay una deficiencia menos grave de la enzima y se forma una parte de bilirrubina conjugada. El síndrome de Dubin-Johnson y el de Rotor son dos trastornos hereditarios caracterizados por hiperbili-

rrubinemia conjugada a partir de una excreción defectuosa por parte de la célula hepática. Cualquier causa de daño grave hepatocelular también interfiere con la captación, conjugación o secreción de la bilirrubina. Esto conducirá tanto a la hiperbilirrubinemia no conjugada como a la conjugada.¹¹⁻¹⁶

La ictericia *poshepática* se debe a una excreción de bilirrubina defectuosa causada por la obstrucción mecánica del flujo biliar dentro del intestino. Puede deberse a cálculos biliares o a un tumor. Cuando la bilis deja de fluir en el intestino, hay un incremento en el nivel sérico de la bilirrubina conjugada, y las heces pierden su fuente de pigmentación normal y adquieren el color de la arcilla. La bilirrubina conjugada aparece en la orina, y los niveles de urobilinógeno urinario disminuyen.¹⁷ Las diversas pruebas de laboratorio que ayudan a realizar la distinción entre las diferentes causas de la ictericia se analizan en páginas posteriores de este capítulo.

Actividad principal de síntesis

Entre las muchas y diversas funciones metabólicas llevadas a cabo por el hígado está la síntesis de varios compuestos biológicos importantes, incluidos proteínas, carbohidratos y lípidos. El hígado desempeña un papel importante en la producción de proteína plasmática, sintetizando albúmina y casi todas las α - y β -globulinas. Todos los factores de la coagulación sanguínea (excepto el VIII) se sintetizan en el hígado. Además, la desaminación del glutamato en el hígado es la fuente principal de amoníaco, que entonces se convierte en urea.

La síntesis y el metabolismo de los carbohidratos también está centrada en el hígado. La glucosa se convierte en glucógeno, del que se almacena una parte en el hígado y más tarde se reconvierte a glucosa, si es necesario. Una función hepática importante adicional es la gluconeogénesis de los aminoácidos.^{18,19}

La grasa se forma a partir de carbohidratos en el hígado cuando la nutrición es adecuada y la demanda de glucosa se satisface con las fuentes dietéticas. El hígado también desempeña un papel clave en el metabolismo de las grasas. Es el principal sitio para la eliminación de los remanentes del quilomicrón y para la conversión de acetil CoA en ácidos grasos, triglicéridos y colesterol. En el hígado también ocurre un metabolismo adicional del colesterol en ácidos biliares. Las lipoproteínas de muy baja densidad, que son las responsables de transportar triglicéridos dentro de los tejidos, son sintetizadas principalmente en el hígado, en el que también se producen las lipoproteínas de alta densidad, como los fosfolípidos.²⁰

La formación de cuerpos cetónicos ocurre casi en exclusiva en el hígado. Cuando la demanda de la gluconeogénesis agota el oxaloacetato y la acetil-CoA no puede convertirse lo suficientemente rápido en citrato, esta última se acumula y una deciclase en el hígado libera los cuerpos cetónicos en la sangre.²¹

El hígado es el sitio de almacenamiento de todas las vitaminas solubles en grasa (A, D, E y K) y de varias vitaminas solubles en agua, como la B₁₂. Otra función relacionada con vitaminas es la conversión del caroteno en vitamina A.

El hígado es la fuente de somatomedina (un factor parecido a la insulina que media la actividad de la hormona del crecimiento) y angiotensinógeno, y es un sitio importante de limpieza metabólica de muchas otras hormonas. Como fuente de transferrina, ceruplasmina, y metalotioneína, el hígado desempeña un papel importante en el transporte, almacenamiento y metabolismo del hierro, el cobre y otros metales.²²

Las células hepáticas sintetizan muchas enzimas, pero no todas resultan útiles en el diagnóstico de los trastornos hepatobiliares. Entre las enzimas que se han usado con frecuencia están la aspartato aminotransferasa (AST, o glutámico-oxaloacético transferasa sérica [SGOT]) y

ESTUDIO DE CASO 22-1

Se obtuvieron los siguientes resultados de la prueba de laboratorio de una paciente con ictericia grave, dolor abdominal del cuadrante superior derecho, fiebre y escalofríos (cuadro 22-1.1 del Estudio de caso).

Preguntas

1. ¿Cuál es la causa más probable de ictericia en este paciente?

CUADRO 22-1.1 DEL ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

Fosfatasa alcalina sérica	4 veces más que lo normal
Colesterol sérico	Incrementado
AST (SGOT)	Normal o ligeramente incrementado
5'-Nucleotidasa	Incrementado
Bilirrubina total sérica	25 mg/dl
Bilirrubina conjugada	19 mg/dl
Tiempo de protrombina	Prolongado pero mejora con una inyección de vitamina K

la alanina aminotransferasa (ALT, o glutámico-pirúvico transaminasa sérica [SGPT]), que escapa de las células hepáticas dañadas al plasma; la fosfatasa alcalina (ALP) y la 5'-nucleotidasa (5NT), que son inducidas o liberadas cuando la membrana canicular está dañada y ocurre obstrucción biliar; y γ -glutamyltransferasa (GGT), que aumenta en trastornos hepatocelulares y obstructivos.²³

Desintoxicación y metabolismo de fármacos

Debido a que el hígado se interpone entre la circulación esplénica y la sangre sistémica, sirve para proteger al cuerpo de sustancias potencialmente dañinas absorbidas desde el tracto intestinal y derivados tóxicos del metabolismo. El mecanismo más importante en esta actividad de desintoxicación es el sistema metabolizador de fármacos del hígado. Este sistema es inducido por muchos fármacos (como el fenobarbital) y otros compuestos extraños, y es responsable de muchos mecanismos de desintoxicación, incluidas la oxidación, reducción, hidrólisis, hidroxilación, carboxilación y desmetilación. Estos mecanismos convierten muchos compuestos comparativamente insolubles o nocivos en otras formas menos tóxicas o más solubles en agua, de modo que las puede extraer el riñón. Por ejemplo, el amoníaco, una sustancia tóxica que se origina en el intestino mediante la acción bactericida en aminoácidos, es transportada al hígado por la vena portal y los hepatocitos la convierten en urea, un compuesto inocuo.

La conjugación con fragmentos de glicina, ácido glucurónico, ácido sulfúrico, glutamina, acetato, cisteína y glutatión, ocurre más en el citosol o en el retículo endoplásmico liso. Este mecanismo es el modo de la excreción de bilirrubina y ácidos biliares.

TRASTORNOS DEL HÍGADO

Ictericia

La *ictericia* es la decoloración amarillenta de la piel y la esclerótica debida a hiperbilirrubinemia. Aunque el límite superior del total de la bilirrubina sérica es 1 mg/dl, la ictericia sólo es clínicamente evidente hasta que el nivel de bilirrubina excede los 2 o 3 mg/dl. En pacientes afroestadounidenses y asiáticos, lo amarillento de la esclerótica puede ser la única evidencia clínica de ictericia;⁹ es uno de los trastornos médicos más antiguos que se conoce, y se ha descrito en textos griegos, romanos, chinos y hebreos antiguos. Hipócrates relacionó la ictericia con disfunción hepática.

Excepto en infantes, la hiperbilirrubinemia suele tolerarse bien y no produce efectos adversos clínicos serios. Sin embargo, en infantes la hiperbilirrubinemia (niveles que exceden 15 a 20 mg/dl), puede relacionarse con *kernícterus*, trastorno serio del sistema nervioso central inmaduro que se debe a niveles aumentados de bilirrubina. Esto sólo ocurre en infantes porque el sistema nervioso central inmaduro no tiene una barrera cerebral sanguínea bien desarrollada.²⁴⁻²⁷

Aunque todos los casos de ictericia se deben a la hiperbilirrubinemia, no todos son causados por disfunción hepática. Aunque casi todos los casos de ictericia están relacionados con trastornos hepáticos, la hiperbilirrubinemia también puede tener su origen en la destrucción del eritrocito, o hemólisis, en pacientes con función hepática normal. La distinción entre enfermedad hepática y hemolítica en el paciente que se presenta con ictericia es una tarea importante para la cual el médico que asiste dependerá en gran medida de los resultados del laboratorio. Esta distinción se analiza de manera detallada más adelante en este capítulo.^{28,29}

La *hipercarotenemia*, un desorden causado por la ingestión excesiva de vitamina A, puede producir una decoloración en la piel indistinguible de la debida a la hiperbilirrubinemia. Sin embargo, en la hipercarotenemia la esclerótica no suele presentar decoloración.

Cirrosis

La *cirrosis* se deriva de la palabra griega que significa "amarillo". Sin embargo, en el uso actual, *cirrosis* se refiere al proceso de cicatrización irreversible mediante el cual la arquitectura hepática normal se transforma en una arquitectura nodular anormal. Una manera para clasificar la cirrosis es por la apariencia del hígado (es decir, por el tamaño de los nódulos). A estas condiciones se les denomina *cirrosis macronodular* y *micronodular*, aunque se presentan formas combinadas.³⁰

Otra forma de clasificar la cirrosis es por etiología. En Estados Unidos, Canadá y Europa Occidental, la causa principal de cirrosis es el abuso del alcohol, que conduce a un tipo micronodular de cirrosis.^{31,32} Otras causas son hemocromatosis, cirrosis posnecrótica (que ocurre como una consecuencia tardía de la hepatitis) y cirrosis biliar primaria (que es un desorden autoinmunitario). Existen otras etiologías poco comunes de cirrosis. Entre 10 y 20% de los casos no pueden clasificarse por etiología. La cirrosis es un trastorno serio y una de las diez principales causas de muerte en Estados Unidos; provoca muchas complicaciones.

La hipertensión portal se produce cuando el hígado cirrótico obstruye el flujo sanguíneo en la vena portal. Esto puede ocasionar esplenomegalia, que no siempre es clínicamente significativa, y varices esofágicas, que pueden romperse y llevar a una hemorragia fatal. La habilidad de síntesis del hígado se reduce, causando hipoalbuminemia y deficiencia de los factores de coagulación, que pueden producir hemorragia. El fluido ascítico puede acumularse en el abdomen. Aunque algunos pacientes con cirrosis pueden tener una sobrevivencia prolongada, por lo general este diagnóstico es amenazante.^{33,34}

Tumores

En una base mundial, los tumores malignos primarios del hígado, conocidos como *carcinoma hepatocelular*, *hepatocarcinoma* o *hepatoma*, son una causa importante de mortalidad cancerígena. En Estados Unidos, estos tumores

son poco comunes. Casi todos los casos de carcinoma hepatocelular se relacionan con infecciones previas con un virus de la hepatitis. Estos tumores son especialmente comunes en partes de África y Asia, y poco frecuentes en Estados Unidos y Europa Occidental. Sin embargo, a menudo el hígado se ve invadido de manera secundaria por tumores que surgen en otros órganos. Son comunes los tumores metastásicos al hígado provenientes de sitios primarios como pulmón, páncreas, tracto gastrointestinal u ovarios. Los tumores benignos del hígado son poco comunes.^{35,36}

Sea primario o secundario, cualquier tumor maligno en el hígado es un hallazgo serio con un pronóstico muy malo. Por lo general, la única esperanza de cura depende de una extirpación quirúrgica, que suele ser imposible. Los pacientes con tumores malignos en el hígado suelen tener una supervivencia medida en meses.^{37,38}

Síndrome de Reye

El síndrome de Reye es un trastorno de causa desconocida, que afecta al hígado y surge más en niños, aunque se han reportado casos en adultos. Se trata de una forma de destrucción hepática que suele ocurrir después de la recuperación de una infección viral, como la varicela o influenza. Se ha relacionado con la terapia de la aspirina. Poco después de la infección, el paciente desarrolla anomalías neurológicas, que incluyen ataques o coma. Las funciones hepáticas son siempre anormales, pero el nivel de bilirrubina no suele estar elevado. Sin tratamiento, puede presentarse deterioro clínico rápido, que conduce a la muerte.³⁹⁻⁴²

Trastornos relacionados con fármacos y alcohol

Muchas sustancias químicas y fármacos son tóxicos para el hígado. Esta toxicidad puede tomar la forma de necrosis hepática agobiante, que conduce a coma y muerte, o puede ser subclínica y pasar completamente inadvertida. De todas las toxinas hepáticas, tal vez la más importante sea

el etanol. En cantidades pequeñas, el alcohol puede causar lesiones leves, poco evidentes. El consumo más exagerado lleva a daño más serio, y el abuso prolongado puede ocasionar cirrosis. Se desconoce la cantidad exacta de alcohol necesaria para causar cirrosis, y sólo una minoría de los alcohólicos desarrolla esta condición. Sin embargo, es una causa importante de morbilidad y mortalidad.³²

Ciertos fármacos pueden causar lesión hepática, incluidos tranquilizantes como fenotiazinas, ciertos antibióticos, agentes antineoplásicos y fármacos antiinflamatorios. Por lo general, la lesión es leve y sólo se manifiesta por la elevación de las pruebas de la función hepática, que regresan a lo normal cuando se discontinúa el agente dañino. Sin embargo, en ocasiones puede producir insuficiencia hepática masiva o cirrosis.⁴³⁻⁴⁷

Uno de los fármacos más comunes que se relaciona con daño hepático serio es el acetaminofeno. Cuando se toma en sobredosis masiva, es casi seguro que producirá necrosis hepática fatal, a menos que se reciba un tratamiento rápido.^{48,49}

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN HEPÁTICA

Análisis de la bilirrubina

Revisión breve de la metodología clásica

Debido a que el ojo humano puede detectar su color amarillo, las concentraciones de bilirrubina sérica se han estimado durante siglos. En 1883, Ehrlich describió por primera vez una reacción en muestras de orina de la formación de un pigmento rojo o azul cuando la bilirrubina se acopló con una solución de ácido sulfanílico diazotizado. En 1913, Van den Bergh aplicó la reacción de Ehrlich a las bilirrubinas séricas. También usó alcohol como acelerador para el acoplamiento de la bilirrubina al ácido sulfanílico diazotizado. Malloy y Evelyn desarrollaron la primera técnica cuantitativa útil para la bilirrubina en 1937, mediante la aceleración de la reacción con una solución a 50% de metanol, técnica que evitó la precipitación de proteínas que era una fuente de error en el método de Van den Bergh. En 1938, Jendrassik y Grof usaron un

ESTUDIO DE CASO 22-2

Los siguientes resultados de una prueba de laboratorio provienen de un paciente con pérdida leve de peso y náuseas y vómito, quien más tarde desarrolló ictericia e hígado agrandado (cuadro 22-2.1 del Estudio de caso)

Preguntas

1. ¿Qué proceso patológico es más probable en este paciente?

CUADRO 22-2.1 DEL ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

Bilirrubina sérica total	20 mg/dl
Bilirrubina conjugada	10 mg/dl
Fosfatasa alcalina	Ligeramente elevada
AST (SGOT)	Significativamente elevada
ALT (SGPT)	Moderadamente elevada
Albúmina	Disminuida
γ-Globulina	Incrementada

procedimiento que contenía cafeína-benzoato-acetato como acelerador para la reacción azoacopladora.

La bilirrubina también se ha cuantificado con métodos diferentes al acoplamiento al ácido sulfanílico. Entre estos métodos se incluye una medición directa de su color natural. Este principio se usó con éxito en el desarrollo del índice de la ictericia, que fue introducido en 1919. La prueba incluye suero diluido con salina hasta que iguale visualmente el color de una solución de dicromato de potasio a 0.01%. Al número de veces que debe diluirse el suero se le denomina *índice de ictericia*. Sin embargo, otras sustancias en el suero, además de la bilirrubina, como el caroteno, la xantofila y la hemoglobina, también contribuyen al índice de ictericia, limitando su utilidad clínica. En la actualidad esta prueba es obsoleta. En años recientes, la bilirrubina se ha cuantificado por dilución en una disolución amortiguadora, seguida por la medición directa de la absorción, usando un espectrofotómetro bien calibrado. Este método se usa en el laboratorio pediátrico en recién nacidos en quienes el suero no contiene todavía lipocromos amarillos que interfieran. La hemólisis, que suele ser un problema en muestras pediátricas, se “elimina” al medir una segunda longitud de onda. La bilirrubinometría no invasiva es ahora posible.^{50,51}

Con varios métodos, se determinó la existencia de dos tipos de bilirrubina.¹⁷ La fracción que produjo un color en solución acuosa en el método de Van den Bergh fue descrita como *bilirrubina directa*, en tanto que la fracción que produjo un color sólo después de que se agregó el alcohol fue denominada *bilirrubina indirecta*. Durante muchos años, los resultados de las determinaciones de la bilirrubina se reportaron como directas e indirectas. Esta terminología es ahora anticuada. Desde 1956 se conoce que la reacción directa se da por el diglucurónido de bilirrubina o bilirrubina conjugada, que es soluble en agua. La reacción indirecta, por lo tanto, está considerada por la bilirrubina no conjugada, que es insoluble en agua pero se disuelve en alcohol para acoplarse con el reactivo diazo. Las bilirrubinas directa e indirecta deben reportarse como conjugada y no conjugada, respectivamente. Con mayor frecuencia, se reportan bilirrubina total y conjugada.³² La bilirrubina no conjugada puede determinarse al restar la bilirrubina conjugada de la bilirrubina total.

Selección del método

Por desgracia, ningún método único para la determinación de bilirrubina reunirá todos los requisitos del laboratorio clínico. Para la evaluación de ictericia en recién nacidos el método de la espectrofotometría directa es satisfactorio. Las fuentes de error en esta técnica son la turbiedad, la hemólisis y los pigmentos lipocromos amarillos. La hemólisis y la turbiedad pueden eliminarse al medir una segunda longitud de onda, pero los lipocromos amarillos no se pueden eliminar. Por lo tanto, este método sólo es válido para recién nacidos, cuyo suero no contiene lipocromos. En pacientes con más de un mes, es necesario un procedimiento colorimétrico-diazo. La mayoría de los investigadores que han comparado los diferentes métodos para la medición de bilirrubina están de acuerdo en que casi todas

las técnicas disponibles darán resultados exactos para la bilirrubina total, siempre que se disponga de estándares buenos. Así, la elección del método debe considerar si se prefiere una técnica manual sobre una automatizada, y si se determinará la bilirrubina directa. La elección de un método para la bilirrubina directa plantea los problemas más grandes porque no hay método de referencia o estandarización adecuada disponible.

Si se desea un procedimiento manual, entonces se aconseja el método de Evelyn-Malloy o el de Jendrassik-Grof. El segundo es ligeramente más complejo pero tiene ventajas sobre el método de Evelyn-Malloy porque:

- Es insensible a cambios del pH en la muestra.
- Es insensible a una variación de 50 veces la concentración proteica de la muestra.
- Tiene sensibilidad adecuada, aun en concentraciones bajas de bilirrubina.
- Tiene una turbiedad mínima y un blanco del suero relativamente constante.
- No se ve afectado por la hemoglobina superior a 750 mg/dl.

Desde que Jendrassik-Grof desarrollaron el procedimiento original, se han realizado varias modificaciones para acelerar la reacción, reducir la interferencia, etc. Varios procedimientos de bilirrubina comercial ahora usan un método modificado de Jendrassik-Grof. Actualmente es una técnica popular para los analizadores de muestreo discreto que hay en el mercado.

Los métodos recomendados para la determinación de la bilirrubina total que usan todas las máquinas automatizadas suelen dar resultados equivalentes. Por desgracia, las técnicas para la bilirrubina directa no son tan confiables. El mejor método para la medición de pequeñas cantidades de la bilirrubina sérica conjugada es uno de investigación que usa cromatografía líquida de alta resolución, pero es demasiado difícil para uso rutinario en el laboratorio. Casi todos los laboratorios clínicos usan el método de Evelyn-Malloy o el de Jendrassik-Grof. Debido a que este capítulo no permite una descripción detallada de todas las metodologías de las pruebas de bilirrubina mencionadas antes, se destacan sólo los principios más ampliamente usados para la medición de la bilirrubina en adultos y pediátrica.⁵²⁻⁵⁵

Método de Jendrassik-Grof para la determinación de la bilirrubina conjugada^{56,57}

Principio. Se agrega suero o plasma a una solución de acetato de sodio y benzoato de sodio-cafeína, a la que luego se le agrega ácido sulfanílico diazotizado para formar azobilirrubina púrpura. El acetato de sodio amortigua el pH de la reacción de diazotización, mientras el benzoato de sodio-cafeína acelera el acoplamiento de la bilirrubina con el ácido sulfanílico diazotizado. Esta reacción es terminada con la adición de ácido ascórbico, que destruye el exceso del reactivo diazo. Se agrega una solución tetrato fuertemente alcalina para convertir la azobilirrubina púrpura en azobilirrubina azul, y la intensidad del color se lee a 600 nm.

Recolección de la muestra y almacenamiento. Es preferible una muestra sérica en ayunas, que no sea de naturaleza hemolizada ni lipémica. Antes de la prueba, el suero debe guardarse en la oscuridad y medirse en cuanto sea posible (antes de 2 o 3 h) después de la recolección. El suero puede almacenarse en la oscuridad en un refrigerador por más de una semana, y en el congelador por un mes sin un apreciable cambio en la concentración de bilirrubina.

Comentarios y fuentes de error. La sangre normal contiene bilirrubina no conjugada. Alguna bilirrubina conjugada se reporta como normal porque la metodología disponible actual recupera parte de la bilirrubina total como un falso positivo. Sin embargo, los mejores métodos de rutina mantienen este error técnico a un mínimo y reportan límites superiores de lo normal de menos de 0.2 mg/dl para la bilirrubina sérica conjugada. En este método se compensan los pigmentos lipocromos, que están presentes en el suero de adultos y niños de varios meses o mayores. Sin embargo, una muestra hemolizada causará una disminución en la bilirrubina sérica en este método. Además, debido a que la lipemia causa interferencia, son preferibles las pruebas sanguíneas en ayunas. Ocurre una pérdida seria de bilirrubina después de la exposición a la luz fluorescente y a la del sol indirecta y directa. Por tanto, es imperativo que se mantenga al mínimo la exposición de muestras y estándares a la luz, y que las pruebas y estándares se refrigieren en la oscuridad hasta que se realicen las pruebas.

Rango de referencia. Los rangos de referencia para infantes mayores de un mes y adultos se muestran en el cuadro 22-1.

Método espectrofotométrico directo para la determinación de la bilirrubina total en suero.^{52,57}

Principio. La absorbancia de la bilirrubina en suero a 455 nm es proporcional a su concentración. El suero de los recién nacidos no contiene lipocromos, como carotenos, que pueden incrementar la absorbancia a 455 nm. La absorbancia de la hemoglobina a 455 nm se corrige sustrayendo la absorbancia a 575 nm.

Muestra. El suero se recolecta y almacena con la misma precaución con que se mencionó anteriormente para las muestras de adultos.

Comentarios y fuentes de error. Se introducirá un error si la disolución amortiguadora es turbia. Debido a que el método depende del coeficiente de extinción de la bilirrubina, todos los volúmenes deben ser exactos y las curvetas deben tener superficie plana con una longitud exacta de 1

cm. Debe usarse un control con un nivel cercano a los 20 mg/dl, que es un punto de decisión crítico para el clínico porque será necesario el intercambio de transfusión si este nivel se excede.

También deben tomarse precauciones como las mencionadas en el método anterior para la recolección y el almacenamiento de las muestras. Este método es relativamente insensible a la hemólisis, que suele presentarse en las muestras obtenidas de infantes, debido a la dificultad en la técnica de perforación de la piel. Sin embargo, se ve de forma significativa afectada por la presencia de lipocromos y, por lo tanto, sólo puede ser usada en infantes de unos cuantos meses de edad.⁵²

Rango de referencia. Véase el cuadro 22-2.

Urobilinógeno en orina y heces

El *urobilinógeno* es un producto final incoloro del metabolismo de la bilirrubina; las bacterias intestinales lo oxidan para convertirlo en urobilina, un pigmento café. En el individuo normal, parte del urobilinógeno es excretado en las heces, y el resto es absorbido en la sangre portal y regresado al hígado. El riñón excreta una pequeña parte que no es captada por los hepatocitos, como urobilinógeno. En la patología hemolítica y en la función celular defectuosa del hígado, como la vista en la hepatitis, se encuentran niveles incrementados de urobilinógeno urinario. La ausencia de urobilinógeno en la orina y en las heces suele verse más a menudo con obstrucción biliar completa. El urobilinógeno fecal también disminuye en la obstrucción biliar, como en la enfermedad hepatocelular.⁶

Casi todos los métodos cuantitativos para el urobilinógeno se basan en la reacción de esta sustancia con *p*-dimetil-aminobenzaldehído para formar un color rojo. Ehrlich describió esta reacción por primera vez en 1901. A través de los años, se han hecho muchas modificaciones a este procedimiento para mejorar la especificidad. Terwen realizó las principales mejoras en 1925; usó hidróxido ferroso alcalino para reducir la urobilina a urobilinógeno y agregó acetato de sodio para eliminar la interferencia proveniente de compuestos como el indol. Watson, en 1936, introdujo el uso de éter de petróleo en lugar de éter de dietilo para la extracción del urobilinógeno para ayudar a la eliminación de otras sustancias que interferían. Sin embargo, debido a los estudios que indican que los métodos cuantitativos descritos no recuperan por completo el urobilinógeno a partir de la orina, casi todo los laboratorios usan el método semicuantitativo, menos laborioso y más rápido, que se describe a continuación.⁵⁸⁻⁶²

CUADRO 22-2. RANGOS DE REFERENCIA PARA LA BILIRRUBINA TOTAL EN INFANTES

CUADRO 22-1. RANGOS DE REFERENCIA PARA BILIRRUBINA

Conjugada	0–0.2 mg/dl (0–3 μ mol/L)
No conjugada	0.2–0.8 mg/dl (3–14 μ mol/L)
Total	0.2–1.0 mg/dl (3–17 μ mol/L)

INFANTES	PREMATURO, TOTAL	TÉRMINO COMPLETO, TOTAL
24 horas	1 a 6 mg/dl	2 a 6 mg/dl
48 horas	6 a 8 mg/dl	6 a 7 mg/dl
3 a 5 días	10 a 12 mg/dl	4 a 6 mg/dl

Determinación del urobilinógeno urinario (semicuantitativo)

Principio. El urobilinógeno reacciona con *p*-dimetil-aminobenzaldehído (reactivo de Ehrlich) para formar un color rojo, que se mide entonces espectrofotométricamente. Se agrega ácido ascórbico como agente reductor para mantener al urobilinógeno en el estado reducido. El uso de acetato de sodio saturado detiene la reacción y minimiza la combinación de otros cromógenos con el reactivo de Ehrlich.

Muestra. Se recolecta orina fresca de 2 h. Esta muestra debe mantenerse fría y protegida de la luz.

Comentarios y fuentes de error.

1. Los resultados de esta prueba se reportan en unidades Ehrlich en lugar de miligramos de urobilinógeno, porque algunas sustancias, además del urobilinógeno, son responsables de parte del desarrollo del color final.
2. Entre otros compuestos, además del urobilinógeno, que pueden presentarse en la orina y reaccionar con el reactivo de Ehrlich, se incluyen porfobilinógeno, sulfonamidas, procaína y ácido 5-hidroxiindolacético. La bilirrubina formará un color verde y, por lo tanto, debe eliminarse, como se ha descrito previamente.
3. Se necesita orina reciente, y la prueba debe realizarse sin retraso para evitar la oxidación del urobilinógeno a urobilina. De manera similar, deben hacerse las lecturas espectrofotométricas dentro de los 5 min posteriores a la producción del color, porque disminuye la intensidad del color de urobilinógeno-aldehído.

Rango de referencia. Urobilinógeno urinario, 0.1 a 1.0 unidades Ehrlich/2 h o 0.54 unidades Ehrlich/día (0.86 mmol/día); 1 unidad Ehrlich es un equivalente aproximado a 1 mg de urobilinógeno.

Urobilinógeno fecal

La inspección visual del excremento suele bastar para descubrir urobilinógeno disminuido. Sin embargo, es posible la determinación cuantitativa del urobilinógeno fecal e involucra el mismo principio antes descrito para la orina.¹¹ Se lleva a cabo en un extracto acuoso de excremento reciente, y cualquier urobilina presente se reduce a urobilinógeno por tratamiento con hidróxido ferroso alcalino antes de que se agregue el reactivo de Ehrlich. Un rango de 75 a 275 unidades Ehrlich/100 g de heces recientes o de 75 a 400 unidades Ehrlich para una muestra a las 24 h se considera como un rango de referencia normal.⁶²

Medición de los ácidos biliares en el suero

Por desgracia, se requieren métodos complejos para el análisis de ácidos biliares en el suero. Esto incluye extracción con solventes orgánicos, cromatografía de partición, cromatografía de gases-espectroscopia de masa, espectrofotometría, absorción de luz ultravioleta, fluorescencia, radioinmunoensayo y métodos de inmunoensayos enzimáticos.⁶³⁻⁶⁵ Aunque los niveles del ácido biliar sean elevados en la enfermedad hepática, la concentración total es demasiado variable y no da un valor de diagnóstico para otras pruebas de la función hepática. La variabilidad de los tipos de ácidos biliares presentes en suero, junto con su existen-

cia en diferentes formas conjugadas, sugiere que es posible obtener más información relevante de la disfunción hepática examinando modelos de ácidos biliares individuales y su estado de conjugación. Por ejemplo, se ha sugerido que la proporción de los ácidos biliares trihidroxi a dihidroxi en suero diferenciará a los pacientes con ictericia obstructiva de los que padecen lesión hepatocelular, y que el diagnóstico de cirrosis biliar primaria y colestasis extrahepática puede hacerse sobre la base de la proporción entre los ácidos cólicos a los quenodesoxicólicos. Sin embargo, el alto costo de estas pruebas, el tiempo requerido para realizarlas y la controversia actual sobre su utilidad clínica lo convierte en un método poco satisfactorio para el uso rutinario.

Pruebas enzimáticas en la enfermedad hepática

Cualquier lesión del hígado que produzca histólisis y necrosis causa la liberación de varias enzimas. La medición de estas enzimas hepáticas en el suero se usa para evaluar la extensión del daño hepático y para diferenciar la patología hepatocelular (funcional) de la obstructiva (mecánica). Los métodos usados para medir estas enzimas, los rangos de referencia normales y otros aspectos generales de enzimología se consideraron en el capítulo 10, *Enzimas*. En este capítulo, el análisis se concentra en los cambios característicos en los niveles enzimáticos del suero vistos en varios trastornos hepáticos.

Entre las enzimas más comunes ensayadas en la enfermedad hepatobiliar están la ALP y la aminotransferasa. Las menos usadas son γ -glutamyltransferasa, lactato deshidrogenasa (LD) y sus isoenzimas, 5'-nucleotidasa, ornitina carbamoiltransferasa y leucina aminopeptidasa.⁶⁶⁻⁷⁰

Fosfatasa alcalina

La ALP se encuentra en diversos tejidos, pero se usa con más frecuencia en el diagnóstico clínico de las enfermedades óseas y hepáticas. Incrementos de leves a moderados en la actividad de la ALP ocurren en muchos pacientes con trastornos hepatocelulares, como la hepatitis y cirrosis, y aumentos pasajeros llegan a ocurrir en todos los tipos de patología hepática. Las elevaciones más notables ocurren en la obstrucción biliar extrahepática, como cálculos en el conducto biliar común o en la colestasis intrahepática, como colestasis de fármacos o cirrosis biliar primaria. Esta enzima casi siempre se incrementa en la patología hepática metastásica y puede ser la única anormalidad en las pruebas rutinarias de la función hepática. Debido a que el hueso es una fuente de enzimas, la enfermedad de Paget, la metástasis ósea y otras enfermedades relacionadas con el incremento de la actividad osteoblástica pueden producir niveles altos de ALP en ausencia de la enfermedad hepática. La enzima se encuentra en la placenta, y las mujeres embarazadas también tienen niveles elevados.⁷¹⁻⁷⁴

Aminotransferasas (transaminasas)

La AST (SGOT) y la ALT (SGPT) son las enzimas más usadas para evaluar el daño hepatocelular. La AST (SGOT) se encuentra en todos los tejidos, sobre todo en el cardíaco, hepático y musculoesquelético. La ALT (SGPT) se presenta por lo general en el hígado y, en menor grado, en el

riñón y en el tejido musculoesquelético, haciéndola más “específica para el hígado”.

En ausencia de necrosis aguda o isquemia de otros órganos, los niveles elevados de aminotransferasa sugieren daño hepatocelular. En hepatitis viral grave, que causa necrosis aguda extensa, se pueden encontrar niveles de aminotransferasa del suero significativamente elevados, mientras que sólo se encuentran incrementos moderados en casos menos graves. Es posible que enfermedades hepáticas levemente crónicas o focales, como hepatitis viral subclínica o anictérica, cirrosis alcohólica, infiltración granulomatosa e invasión tumoral, estén relacionadas con anormalidades sólo leves. Elevaciones mínimas ocurren en la obstrucción biliar.

Por lo general, es útil realizar determinaciones en serie de aminotransferasa cuando se sigue el curso de un paciente con hepatitis aguda o crónica. Sin embargo, debe tomarse precaución al interpretar estos niveles anormales, porque las transaminasas séricas pueden disminuir en algunos pacientes con hepatitis grave a aguda, debido a la liberación exhaustiva de enzimas hepatocelulares.⁷⁵⁻⁷⁸

5'-Nucleotidasa. La 5'-nucleotidasa es otra fosfatasa; se origina en el hígado y se usa en clínica para determinar si una elevación de ALP es causada por enfermedad hepática u ósea. Los niveles de la 5'-nucleotidasa y la ALP son elevados en la patología hepática, mientras que en la enfermedad ósea primaria, el nivel de la ALP es elevado, pero el de la 5'-nucleotidasa suele ser normal o sólo estar de manera ligera. Esta enzima es mucho más sensible a la enfermedad hepática metastásica que la ALP porque, a diferencia de ésta, su nivel no es significativamente elevado en otras condiciones, como embarazo o infancia. Además, puede notarse algún incremento en la actividad enzimática después de la cirugía abdominal.⁷⁹⁻⁸¹

γ -Glutamyltransferasa. La γ -glutamyltransferasa (GGT) se encuentra en altas concentraciones en el riñón y el hígado, y está elevada en el suero de la mayoría de los pacientes con trastornos hepatobiliares. No es específica de algún tipo de enfermedad hepática pero suele ser la primera prueba de función hepática anormal mostrada en el suero de personas que consumen grandes cantidades de alcohol. Niveles más altos se han visto en la obstrucción biliar. Por lo tanto, es una prueba sensible de enfermedad hepática alcohólica. La medición de esta enzima también es útil si hay ausencia de ictericia para la confirmación de neoplasmas hepáticos, y es una prueba útil para confirmar la patología hepática en pacientes con fosfatos alcalinos elevados.⁸²⁻⁸⁶

Leucina aminopeptidasa. La leucina aminopeptidasa, distribuida ampliamente en los tejidos humanos, se encuentra en el páncreas, la mucosa gástrica, el hígado, el bazo, el cerebro, los intestinos grueso y delgado y el riñón. La mayoría de los investigadores creen que no es posible utilizar la actividad sérica de la leucina aminopeptidasa para diferenciar la ictericia hepatocelular de la obstructiva. Más aún, la medición de esta enzima no proporciona información útil que no pueda obtenerse con otras pruebas, como la determinación de la 5'-nucleotidasa o γ -glutamyltransferasa.⁸⁷

Lactato deshidrogenasa. Por lo general, la medición de la LD sérica total no es útil para el diagnóstico, porque la LD está presente en todos los órganos y se libera en el suero

debido a varias lesiones tisulares. Sin embargo, la división de la LD en sus cinco isoenzimas específicas de tejido proporciona información útil acerca del sitio de origen de la elevación de la LD. La LD-5 se presenta más en el hígado y el tejido musculoesquelético. Una interpretación de los patrones de la isoenzima puede ser simple; una LD-5 elevada se encuentra en un paciente con ictericia. Sin embargo, la similitud de los patrones de la isoenzima entre diferentes estados de daño tisular puede necesitar el uso de pruebas de laboratorio adicionales para la interpretación.

Las elevaciones moderadas de los niveles de LD séricos totales son comunes en la hepatitis viral aguda y en la cirrosis, mientras la patología del tracto biliar puede producir sólo elevaciones leves. Niveles séricos elevados pueden encontrarse en el carcinoma metastásico del hígado.⁸⁸

Pruebas de medición de la capacidad sintética del hígado

La medición de los productos finales de la actividad sintética hepática puede usarse para evaluar la patología hepática. Aunque estas pruebas no son sensibles a un daño hepático mínimo, resultan útiles para cuantificar la gravedad de la disfunción hepática.

Casi todas las proteínas séricas se producen en el hígado. Una disminución en la albúmina sérica puede ser resultado de la disminución de la síntesis proteica hepática. El nivel de albúmina se relaciona bien con la gravedad del deterioro funcional y se encuentra con más frecuencia en la enfermedad hepática crónica que en la aguda. Las α -globulinas séricas también tienden a disminuir con la enfermedad hepática crónica. Sin embargo, una α -globulina baja o ausente sugiere que la deficiencia en α -antitripsina es la causa de la enfermedad hepática crónica. Los niveles de γ -globulina sérica aumentan de forma temporal en la enfermedad hepática aguda y permanecen elevados en la enfermedad hepática crónica. Los mayores incrementos se encuentran en la hepatitis activa crónica y en la cirrosis posnecrótica. En particular, los niveles de IgG e IgM están elevados más consistentemente en la hepatitis activa crónica, de IgM en la cirrosis biliar primaria y de IgA en la cirrosis alcohólica.

El tiempo de protrombina suele incrementarse en la enfermedad hepática porque el hígado no puede producir cantidades adecuadas del factor de coagulación o porque la interrupción del flujo biliar ocasiona una inadecuada absorción de la vitamina K del intestino. La respuesta del tiempo de protrombina a la administración de vitamina K tiene, por lo tanto, algún valor en diferenciar a la enfermedad intrahepática con disminución en la capacidad de síntesis de la obstrucción extrahepática con disminución en la absorción de las vitaminas solubles en grasa. Una marcada prolongación del tiempo de protrombina indica una enfermedad hepática difusa grave y un diagnóstico malo.⁸⁹

Pruebas de medición del metabolismo del nitrógeno

El hígado desempeña un papel importante en la eliminación del amoníaco del torrente sanguíneo y en la

conversión de éste a urea para que lo puedan eliminar los riñones. En la insuficiencia hepática, aumenta la cantidad de amoniaco y otras toxinas en el torrente sanguíneo, lo que puede llevar a coma hepático. En esta condición, el paciente se desorienta cada vez más y gradualmente cae en inconsciencia. La causa del coma hepático no está por completo definida, aunque se supone que el amoniaco desempeña un papel importante. Sin embargo, la relación entre los niveles de amoniaco sanguíneo y la gravedad del coma hepático es mala. Por lo tanto, el nivel de amoniaco es más útil cuando los pacientes sirven como su propio control, y se toman mediciones múltiples con el tiempo.⁸⁹⁻⁹¹

La producción de glutamina en una reacción intracelular enzimática entre el amoniaco y el ácido glutámico proporciona un mecanismo para eliminar el amoniaco desde el sistema nervioso central. La elevación de la CSF glutamina ha sido descrita en la encefalopatía hepática y en algunos casos del síndrome de Reye. Los niveles de glutamina se miden por varios métodos, incluidas la hidrólisis ácida y la fluorescencia inducida por láser.⁹²

Hepatitis

Hepatitis significa “inflamación del hígado”; puede ser causada por virus, bacterias, parásitos, radiación, fármacos, químicos, enfermedad autoinmunitaria o toxinas. Entre los virus causantes de hepatitis están los tipos A, B, C, D (o delta) y E; los citomegalovirus; los virus de Epstein-Barr; y tal vez otros más (cuadro 22-3).

Hepatitis A

La hepatitis A, también conocida como *hepatitis infecciosa* y *hepatitis de incubación corta*, se transmite por lo común por alimentos o agua contaminados. Los datos epidemiológicos han sugerido que un estado portador de hepatitis A es improbable o es de corta duración. La hepatitis del virus A (HAV) se ha identificado con microscopio electrónico como una partícula esférica (27 nm de ancho) que contiene RNA. Se ha cultivado recientemente *in vitro*. Sin embargo, este sistema tejido-cultivo es más una herramienta de investigación que una ayuda en el diagnóstico. La pérdida fecal del antígeno de la hepatitis A es pasajera, y el antígeno desaparece del excremento después de las elevaciones al punto máximo de las enzimas hepáticas. El diagnóstico

de la hepatitis A se realiza por la detección serológica de sus anticuerpos. La producción de los anticuerpos de la hepatitis A (anti-HAV) representa una respuesta específica del huésped a la HAV, y se cree que confiere inmunidad contra la reinfección. El uso del microscopio electrónico inmunitario en el excremento y los radioinmunoensayos para la detección de este anticuerpo sugieren que diferentes tipos de anticuerpo (tanto IgM como IgG) pueden aparecer en diversos momentos de la enfermedad. Los anticuerpos específicos del IgM llegan al punto máximo en una semana y desaparecen antes de las ocho, mientras los anticuerpos de IgG llegan al punto máximo en un periodo de uno a dos meses y persisten por años.

La documentación de la positividad del anti-HAV indica exposición a HAV, ausencia de capacidad de infección y presencia de inmunidad a una infección recurrente. La positividad del anti-HAV no implica hepatitis previa en clínica evidente ni establece una relación etiológica entre HAV y una enfermedad hepática aguda crónica. La demostración de la seroconversión o pérdida fecal del antígeno durante la fase aguda de la enfermedad es el único método confiable para el establecimiento de una etiología de HAV. Mucha gente tiene anticuerpos anti-HAV sin haber tenido una infección clínicamente evidente.⁹³⁻⁹⁸

Hepatitis B

A la hepatitis B también se le conoce como *hepatitis sérica* o *hepatitis de incubación larga*. Hay tres rutas principales de transmisión: parental, perinatal y sexual. También existe una ruta de transmisión fecal-oral extra, aunque no es importante en cuanto a su base epidemiológica. Los pacientes infectados manifiestan la hepatitis B en casi todos los fluidos corporales, incluidos sangre, heces, orina, saliva, semen, lágrimas y leche materna.

El virus de la hepatitis B (HBV) es una partícula esférica de 42 nm, de doble concha, con un núcleo central de ácido desoxirribonucleico (DNA) rodeado por una capa proteica. Originalmente, a esta partícula, presente en baja concentración en el suero de los pacientes con hepatitis viral activa, se le llamó *partícula de Dane*. Después de la infección con HBV, el núcleo del antígeno se sintetiza en el núcleo de los hepatocitos y luego pasa al citoplasma de la célula hepática, donde es rodeado por la capa proteica. En estudios serológicos se ha identificado un antígeno presente en el centro del virus (HBcAg) y uno superficial

CUADRO 22-3. LOS VIRUS DE LA HEPATITIS

	NUCLEÓTIPO	PERIODO DE INCUBACIÓN	MODO PRIMARIO DE TRANSMISIÓN	VACUNA	INFECCIÓN CRÓNICA	DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DISPONIBLE
Hepatitis A	RNA	2 a 6 semanas	Fecal-oral	Sí	No	Sí
Hepatitis B	DNA	8 a 26 semanas	Parental, sexual	Sí	Sí	Sí
Hepatitis C	RNA	2 a 15 semanas	Parental, ¿sexual?	No	Sí	Sí
Hepatitis D	RNA	—	Parental, sexual	Sí	Sí	Sí
Hepatitis E	RNA	3 a 6 semanas	Fecal-oral	No	?	Sí

presente en la proteína de la superficie (HbsAg), además de otro denominado *antígeno e* (HbeAg).²⁹

El curso clínico de la hepatitis B es demasiado variable. Casi dos terceras partes de los casos pueden ser asintomáticos o producir sólo una ligera enfermedad, como gripe. En la tercera parte restante, un paciente puede desarrollar un síndrome como hepatitis con malestar, fiebres irregulares, sensibilidad en el cuadrante superior derecho, ictericia y orina oscura.⁹⁸⁻¹⁰¹

En casi 1% de los pacientes infectados, puede desarrollarse el síndrome de la hepatitis fulminante. Se trata de una enfermedad clínica grave con alta mortalidad.

Alrededor de 90% de los pacientes infectados con HBV se recupera en un periodo de 6 meses. Esta recuperación se manifiesta por el desarrollo de anticuerpos para el antígeno superficial de la hepatitis B. Casi 10% de los pacientes infectados desarrollarán hepatitis crónica, que se analiza más adelante en la sección *Hepatitis B crónica*.

En todo el mundo, la infección con HBV es muy común y suele darse al momento de nacer. En algunas áreas, como partes de África, Asia y las islas del Pacífico, más de 80% de la población en general muestra evidencia serológica de una infección de hepatitis pasada. La proporción de portador crónico es alta. Tales personas están en alto riesgo de desarrollar cirrosis o carcinoma hepatocelular (hepatoma).¹⁰²

En Estados Unidos, menos de 10% de la población muestra evidencia serológica de una infección pasada con HBV. La proporción del portador crónico es menos de 1% de la población general. Entre las personas con alto riesgo de infección en ese país se incluye a homosexuales, personas que abusan de drogas intravenosas, recién nacidos de madres que son positivas al antígeno superficial al momento del parto, inmigrantes de áreas endémicas, y

parejas sexuales y contactos familiares de pacientes que tienen hepatitis B. Aunque todavía ocurre la transmisión de ésta por productos sanguíneos, las pruebas de monitoreo efectivas hacen que ahora resulte raro. Los trabajadores del cuidado de la salud, incluido personal de laboratorio, pueden estar en mayor riesgo de desarrollar hepatitis B, dependiendo de su grado de exposición a sangre y fluidos corporales.¹⁰⁰

Hay una vacuna efectiva para la hepatitis B y también un tratamiento con inmunoglobulina. La vacuna es muy efectiva para estimular la producción del anticuerpo superficial de la hepatitis B y, por tanto, deja al destinatario inmune. Después de una exposición aguda, como una lesión con arma punzocortante, el paciente debe recibir la vacuna de la hepatitis y la inmunoglobulina. Un tratamiento similar es muy efectivo para la prevención del desarrollo de la hepatitis en infantes con madres infectadas.

En especial, resulta importante que todos los trabajadores del cuidado de la salud que están expuestos a sangre y fluidos corporales se apliquen la vacuna de la hepatitis. Cada año, miles de casos de hepatitis B ocurren entre los trabajadores al cuidado de la salud, y varios cientos mueren debido a sus complicaciones. Se trata de un mal que se puede prevenir. Todos los que trabajan en el laboratorio clínico deben aplicarse la vacuna de la hepatitis.

Hepatitis BsAg

La hepatitis BsAg (HBsAg), antes conocida como *antígeno Australia* y *antígeno asociado a hepatitis* (HAA), es el antígeno para el que se realiza la prueba de rutina en todas las unidades de sangre donadas. El HBsAg es el primer marcador serológico que aparece durante el desarrollo de la hepatitis B aguda, e identifica a los pacientes infectados

ESTUDIO DE CASO 22-3

Los siguientes resultados de laboratorio se obtuvieron de una estudiante universitaria de 19 años que consultó el servicio de salud de la escuela debido a fatiga y falta de apetito. Ella agrega que notó recientemente que su esclerótica parece algo amarillenta y que su orina se ha puesto oscura (cuadro 22-3.1 del estudio del caso).

Preguntas

1. ¿Cuál es el diagnóstico más probable?
2. ¿Qué factores adicionales deben buscarse en el historial del paciente?
3. ¿Cuál es el diagnóstico?

CUADRO 22-3.1 DEL ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DEL LABORATORIO

ALT (SGPT)	Elevado
AST (SGOT)	Elevado
Fosfatasa alcalina	Mínimamente elevada
LD	Elevado
Bilirrubina sérica	5 mg/dl
Bilirrubina urinaria	Incrementada
Anticuerpo de la hepatitis A (IgG)	Negativo
Anticuerpo de la hepatitis A (IgM)	Positivo
Antígeno superficial de la hepatitis B	Negativo
Anticuerpo superficial de la hepatitis B	Negativo
Anticuerpo de la hepatitis C	Negativo

antes del comienzo de la enfermedad clínica más confiablemente que cualquier otro. Aunque se ha demostrado que la capa proteica viral aislada no es infecciosa, debe considerarse que las personas que llevan crónicamente el BsAg en el suero tienen la capacidad de infectar porque no puede excluirse la presencia del virus intacto. Los pacientes que se recuperan de la hepatitis B desarrollan el anti-HBs que sigue a la desaparición del HBsAg en un tiempo cercano al de la recuperación clínica (fig. 22-5). Este anticuerpo es común en la población en general y se cree que confiere inmunidad para una futura reinfección con HBV.¹⁰⁰

Hepatitis BcAg

El antígeno central, HBcAg, no se ha manifestado en el plasma de las víctimas de la hepatitis o donadores de sangre. Este antígeno sólo se ha visto en el núcleo de los hepatocitos durante una infección aguda con hepatitis B. El anticuerpo del antígeno central, anti-HBc, suele desarrollarse antes que el anticuerpo del antígeno superficial (fig. 22-5). Un ensayo reciente del marcador serológico desarrollado para el uso general es una prueba del anticuerpo IgM para el antígeno central de la hepatitis B. En la situación clínica apropiada, este ensayo IgM ha demostrado ser específico para la hepatitis B aguda. Estrechamente relacionada con el antígeno central se encuentra una polimerasa DNA viral dependiente de DN. Esta enzima viral es necesaria para la replicación viral y se detecta en el suero en los inicios de la hepatitis viral, durante la fase de la replicación viral activa.⁹⁸

Hepatitis BeAg

Otro marcador de la infección con HBV es el antígeno e. Al parecer, éste se relaciona de forma más estrecha con el centro que con la superficie de la partícula viral. La presencia del antígeno e parece relacionarse bien con el número de partículas virales infecciosas y con el grado de capacidad de infección de los sueros positivos a HBsAg. La

presencia del HbeAg en los portadores HBsAg es un signo de pronóstico desfavorable y predice un desarrollo grave y una enfermedad hepática crónica. De manera recíproca, la presencia de anticuerpos anti-HBe en portadores indica una baja capacidad de infección del suero (fig. 22-6). El antígeno e sólo se detecta en suero cuando está presente el antígeno superficial (fig. 22-7).

Ensayo del DNA de la hepatitis B viral

Es posible detectar el DNA de la HBV real en la sangre usando hibridación ácida nucleica o reacciones en cadena de la polimerasa. Éstas proporcionan una medición más sensible que la serología de la capacidad de infección y el progreso de la enfermedad. Éstas pueden usarse para vigilar la efectividad de la terapia antiviral en pacientes con infección de HBV crónica, pero complementa los actuales ensayos serológicos de HBV, en lugar de reemplazarlos.¹⁰³⁻¹⁰⁵

Hepatitis C

Hasta hace muy poco, casos de hepatitis viral que no podían identificarse como marcadores serológicos tipo A o B se registraban en la categoría general de hepatitis no A o no B. Recientemente, se identificó que el agente responsable de casi 80% de estos casos es el ácido ribonucleico (RNA) que contiene el virus de la hepatitis C (HCV).

Ahora se dispone de pruebas para detectar a quienes tienen riesgo de transmitir la HCV. Dichas pruebas detectan anticuerpos para la HCV e identifican a la mayoría de los portadores infecciosos.¹⁰⁶ Aunque aún queda mucho por aprender sobre la hepatitis C, aparentemente se transmite de manera parental con mayor frecuencia. También existen las rutas sexual y fecal-oral, y puede ser transmitida por transfusión sanguínea.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹

Casi 3% de los donadores en Estados Unidos son positivos para HCV. Se cree que la mayoría de estos pacientes son contagiosos. La prueba del anticuerpo de la HCV detectará a casi todos los pacientes infecciosos, aunque ocurren resultados que son falsos positivos.¹⁰⁸

Secuencia de los marcadores HBV

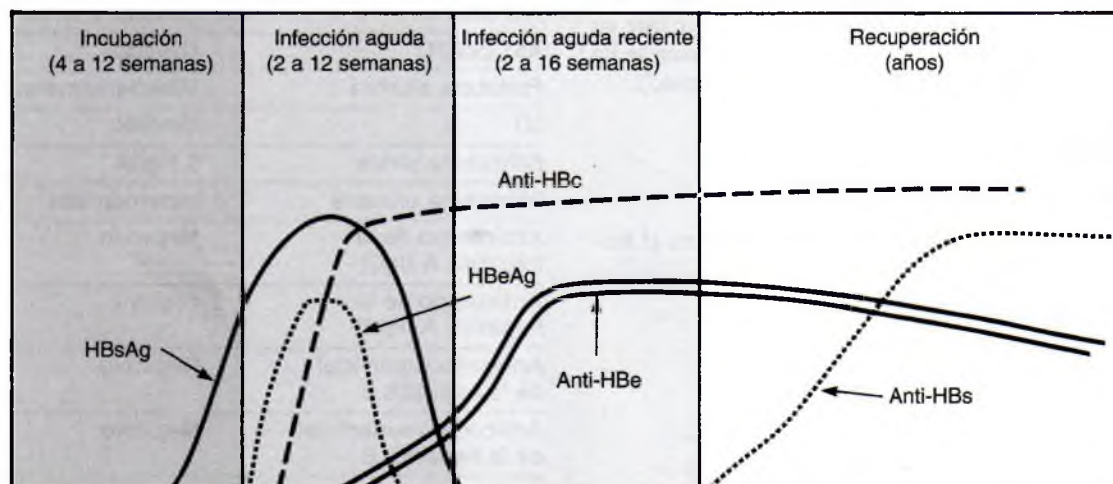


FIGURA 22-5. Serología de la infección de la hepatitis B con recuperación.

Secuencia de los marcadores superficiales de HBV Hepatitis crónica

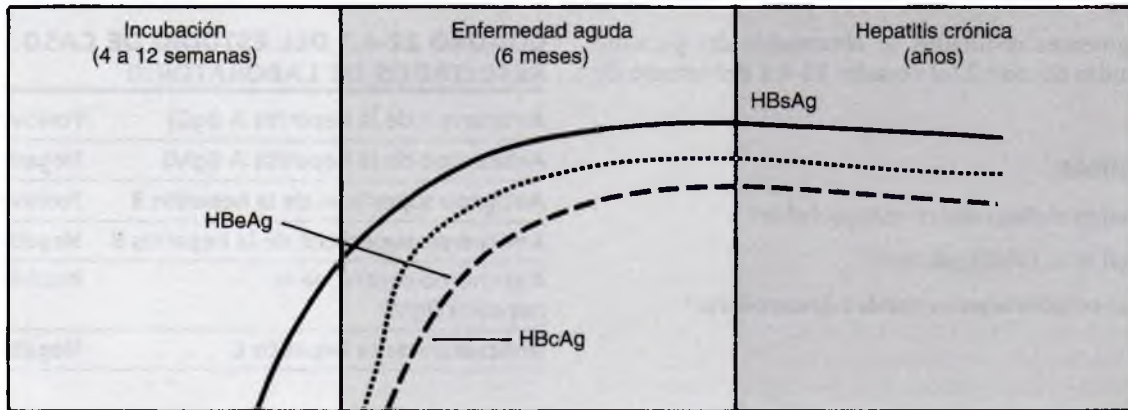


FIGURA 22-6. Ningún anticuerpo se forma contra el HBsAg. La persistencia del HBeAg implica una alta capacidad de infección y, por lo general, un diagnóstico desafortunado. Tal vez este paciente desarrolle cirrosis, a menos que ocurra la seroconversión o que se le administre un tratamiento.

Desde el aspecto clínico, la hepatitis C aguda suele ser leve y puede pasar por completo desapercibida. Sin embargo, la infección tiene una tasa alta de progresión a hepatitis crónica, cirrosis y carcinoma. Por tanto, la hepatitis C parece ser una causa mayor de la hepatitis crónica en Estados Unidos.^{109,110}

Por lo general, los anticuerpos de la hepatitis C no son detectados en los primeros meses después de la infección, pero casi siempre están presentes en fases más tardías. Esto no protege y a veces desaparecen varios años después de la resolución de la infección.

El ensayo serológico para los anticuerpos de la HCV es una prueba de evaluación, y pueden ocurrir falsos positivos. Por lo tanto, es necesario confirmar los resultados positivos con un método más específico, como el ensayo inmunoblasto recombinante de la HCV.¹¹¹

Hepatitis delta

La hepatitis delta, o hepatitis D (HDV), constituye un ejemplo único de la infección por virus satélite en la enfermedad humana. La HDV sólo causa enfermedad en pacientes infectados con HBV. Es incapaz de causar cualquier enfermedad en pacientes que no tienen hepatitis B.

La HDV es un virus de RNA con alto grado de homología base-par con HBV. Cuando la infección con virus delta ocurre en un paciente que aún tiene infección por HBV, el virus delta usa éste para la replicación. Entonces, se producen tanto HBV como HDV. A diferencia de la HBV, la HDV parece directamente tóxica para los hepatocitos humanos.

Existen dos tipos básicos de infección por HDV, pero los dos tienen el efecto de agravar el pronóstico de la HBV. En coinfección, el paciente adquiere HBV y HDV de manera

Secuencia de los marcadores superficiales de HBV Hepatitis crónica

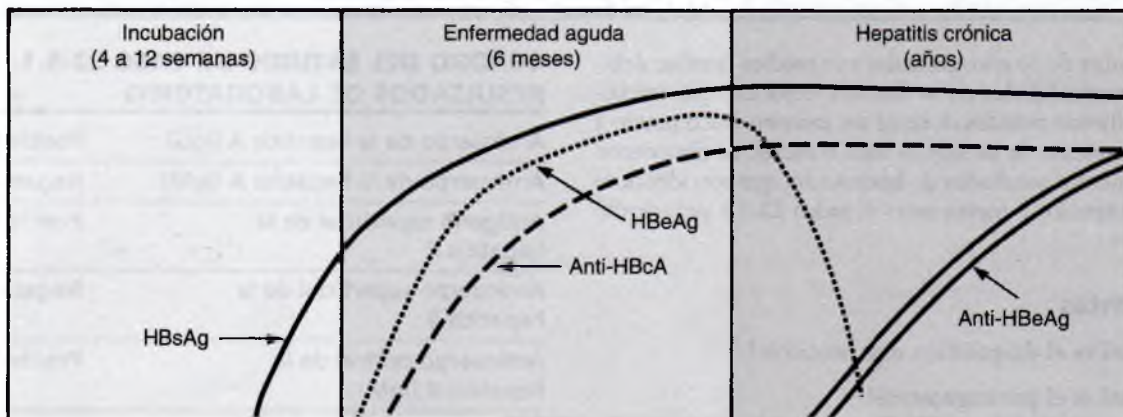


FIGURA 22-7. Serología de la hepatitis crónica con formación de anticuerpos para HbeAg. Se trata de un signo favorable y sugiere que la hepatitis crónica pueda resolverse. La recuperación completa sería marcada por la desaparición del HBsAg y la formación de sus correspondientes anticuerpos.

ESTUDIO DE CASO 22-4

Los siguientes resultados se obtuvieron del paciente del estudio de caso 22-2 (cuadro 22-4.1 del estudio de caso).

Preguntas

1. ¿Cuál es el diagnóstico más probable?
2. ¿Cuál es el prediagnóstico?
3. ¿Qué complicaciones pueden desarrollarse?

CUADRO 22-4.1 DEL ESTUDIO DE CASO.
RESULTADOS DE LABORATORIO

Anticuerpo de la hepatitis A (IgG)	Positivo
Anticuerpo de la hepatitis A (IgM)	Negativo
Antígeno superficial de la hepatitis B	Positivo
Anticuerpo superficial de la hepatitis B	Negativo
Anticuerpo central de la hepatitis (IgM)	Positivo
Anticuerpo de la hepatitis C	Negativo

simultánea. Es probable que un paciente con esta coinfección desarrolle complicaciones serias y tenga una tasa más alta de progresión a hepatitis crónica. Sin embargo, la mayoría de los pacientes todavía se recuperan.

La otra posibilidad es la superinfección, en que un paciente que es portador de HBV crónico es superinfectado con la HDV. Puede desarrollarse hepatitis fulminante o puede acelerarse la progresión hacia cirrosis.

Por epidemiología, la infección HDV parece concentrarse en los países que se encuentran alrededor de los mares Mediterráneo, Negro, y Rojo. En Estados Unidos, entre 10 y 20% que son portadores HBV crónicos serán serológicamente positivos a HDV. Los factores de riesgo para la infección HDV suelen ser los mismos que para la infección HBV.¹¹¹⁻¹¹⁶

Hepatitis E

El virus de la hepatitis E que contiene RNA se transmite por lo común por la ruta fecal-oral. Esta enfermedad se encuentra sobre todo en países subdesarrollados, aunque se han reportado casos esporádicos en Estados Unidos y Europa Occidental, en especial entre viajeros. El período

de incubación es corto, por lo general entre 21 y 42 días. El virus puede ser detectado en las heces y la bilis alrededor de siete días después de la infección.

La infección con hepatitis E suele ser leve, excepto en mujeres embarazadas, en quienes llega a ser una enfermedad devastadora. Las pruebas serológicas están disponibles para el diagnóstico.^{113,117-124}

En el mundo, la hepatitis E es un virus tipo RNA relacionado con hepatitis crónica y aguda.

Hepatitis crónica^{102,104,125-129}

Cuando hay evidencia de hepatitis, como niveles de transaminasa sérica elevados, durante más de seis meses, se dice que existe *hepatitis crónica*. Varios agentes diferentes, incluidos virus, drogas y alcohol, pueden causar hepatitis crónica. Sin embargo, esta discusión se centra sobre las causas virales.

Alrededor de 10% de los casos de HBV progresan a hepatitis crónica. La gravedad de la enfermedad inicial no tiene nada que ver con el riesgo del desarrollo de cronicidad. Por lo tanto, muchos pacientes pueden desarrollar hepatitis crónica sin haber estado conscientes de que tenían una infec-

ESTUDIO DE CASO 22-5

Un hombre de 36 años consultó a su médico familiar debido a anomalías en la función hepática, que inicialmente fueron notadas durante un examen físico previo a la contratación de un seguro hace 6 meses. Se obtuvieron los siguientes resultados de laboratorio, que son idénticos a los obtenidos 6 meses antes (cuadro 22-5.1 del estudio de caso).

Preguntas

1. ¿Cuál es el diagnóstico más probable?
2. ¿Cuál es el prediagnóstico?
3. ¿Qué complicaciones pueden desarrollarse?
4. ¿Qué pruebas adicionales deben realizarse?

CUADRO DEL ESTUDIO DE CASO 22-5.1.
RESULTADOS DE LABORATORIO

Anticuerpo de la hepatitis A (IgG)	Positivo
Anticuerpo de la hepatitis A (IgM)	Negativo
Antígeno superficial de la hepatitis B	Positivo
Anticuerpo superficial de la hepatitis B	Negativo
Anticuerpo central de la hepatitis B (IgM)	Positivo
Anticuerpo de la hepatitis C	Negativo

ción por hepatitis B. Los hallazgos serológicos en pacientes con hepatitis B crónica se muestran en la figura 22-7. Es probable que estos pacientes estén clínicamente enfermos o que parezcan por completo saludables. Sin embargo, siempre y cuando la HBsAg esté presente, son contagiosos y presentan riesgos de desarrollar complicaciones al eludir la cirrosis y el carcinoma hepatocelular. Los pacientes que manifiestan el antígeno e son altamente infecciosos y se dice que tienen el peor pronóstico. El aspecto del anticuerpo para el antígeno e puede anunciar la recuperación. La recuperación completa ocurre cuando desaparece el antígeno superficial de la hepatitis B y se detecta el anticuerpo correspondiente. Estos pacientes son inmunes a posteriores infecciones. Aunque muchos pacientes con hepatitis crónica se recuperan de manera espontánea, otros llegan a necesitar un tratamiento agresivo.

En el mundo, la infección por hepatitis B constituye una causa importante de morbilidad y mortalidad. En países subdesarrollados, la infección a menudo ocurre al nacer, y estos niños tienen un alto riesgo de desarrollar cirrosis o carcinoma hepatocelular.

La hepatitis C también tiene un alto grado de cronicidad. Aunque los pacientes con infección por hepatitis crónica parecen correr un alto riesgo de adquirir cirrosis, el papel de la hepatitis C en el desarrollo del carcinoma hepatocelular es mucho menos claro. En la actualidad se utiliza interferón para tratar la hepatitis crónica. La hepatitis A se relaciona muy rara vez con la patología crónica. Casi ningún paciente con hepatitis C crónica presenta signos o síntomas; en cambio, sólo manifiestan elevaciones leves en las pruebas de la función hepática, sobre todo en las transaminasas. El grado de elevación tiene un pequeño valor predictivo en pacientes individuales. Cerca de 80% de los pacientes infectados desarrollan hepatitis crónica, aunque en la mayor parte de los casos, la enfermedad no progresa. El porcentaje de pacientes que desarrolla cirrosis varía de forma amplia en los diferentes estudios, pero se ha estimado que llega a ser hasta de 40% después de los 40 años. El consumo de alcohol aumenta el riesgo de cirrosis. En estos pacientes se realizan por períodos biopsias hepáticas, correlacionando el grado de inflamación y fibrosis con el riesgo de cirrosis.

Los pacientes con hepatitis C crónica suelen tratarse con interferón y ribavirina. La terapia se vigila al estimar las partículas virales en el plasma, usando la reacción en cadena con la polimerasa (PCR).¹²¹

Otras formas de hepatitis

Hay cinco formas de hepatitis viral (A, B, C, D, E) bien reconocidas. El papel del virus G es incierto. La hepatitis F es un agente entérico que puede transmitirse a primates. De nuevo, se necesita aprender más sobre este agente y su papel, si lo tiene, en la patología humana. Es posible que existan otras formas de hepatitis viral como los virus TT y SEN. El grupo GB de virus parecidos a flavo (GBV-A, GBV-B y GBV-C) también está relacionado con la hepatitis aguda y crónica. Poco se conoce acerca de estas enfermedades. En este momento no se dispone de ninguna prueba comercial para diagnosticarlas.¹³⁰⁻¹³³

RESUMEN

El hígado es el órgano más grande, versátil y complejo del cuerpo. Está conformado por dos lóbulos principales. La unidad estructural del hígado está formada por el lobulillo, cordones de células hepáticas o hepatocitos que se irradian desde una vena central. El hígado realiza varios cientos de funciones conocidas cada día, incluidas las funciones metabólica, secretora y excretora. Una de las más importantes es la excreción de bilis. La bilirrubina es el principal pigmento de la bilis y se deriva del rompimiento de la hemoglobina cuando el sistema reticuloendotelial fagocita las células rojas envejecidas. Existen dos formas de bilirrubina: conjugada y no conjugada. A un incremento en la concentración de la bilirrubina se le conoce como ictericia; ésta puede ser causada por diversos mecanismos fisiopatológicos. Hay tres tipos de ictericia: prehepática, hepática y poshepática.

Entre las muchas funciones metabólicas del hígado se encuentra la síntesis de proteínas, carbohidratos y lípidos. El hígado sintetiza muchas enzimas, pero no todas son útiles en el diagnóstico de los trastornos hepatobiliares. Entre los trastornos del hígado se incluyen ictericia, cirrosis, tumores, síndrome de Reye y trastornos relacionados con fármacos y alcohol. Durante siglos se ha utilizado el análisis de las concentraciones de bilirrubina para evaluar la función hepática. Suelen usarse dos metodologías para evaluar la bilirrubina: la de Evelyn-Malloy y la de Jendrasik-Grof. El urobilinógeno, un producto final incoloro del metabolismo de la bilirrubina, también se mide para evaluar la función hepática. La medición de las enzimas hepáticas en suero se usa para evaluar la extensión del daño hepático y para diferenciar la patología hepatocelular (funcional) de la obstructiva (mecánica). Entre las enzimas más ensayadas en la patología hepatobiliar se incluyen la ALP y la aminotransferasa (AST y ALT). La hepatitis, o inflamación del hígado, puede ser causada por virus, bacterias, parásitos, radiación, fármacos, químicos o toxinas. Entre los virus que causan hepatitis están los de los tipos de hepatitis A, B, C, D (o delta) y E, citomegalovirus, virus Epstein-Barr y probablemente otros más. La hepatitis A suele transmitirse por vía fecal-oral y causa una infección leve o poco evidente, sin tendencia a la enfermedad crónica. Las hepatitis B y C se transmiten por lo común por vía parenteral. La hepatitis B causa enfermedad grave en una minoría de pacientes; sin embargo, en muchos pacientes, la infección es leve o incluso poco evidente. La infección aguda con hepatitis C suele ser de leve a poco evidente. La hepatitis B tiene una tendencia ligera a la enfermedad crónica, mientras que la mayoría de los pacientes con infección por hepatitis C desarrollan una infección crónica.

La hepatitis delta es un virus satélite único que causa una superinfección en pacientes ya infectados con hepatitis B. La hepatitis E se transmite sobre todo por vía fecal-oral y sólo causa una patología grave en mujeres embarazadas.

La hepatitis crónica es una causa importante de morbilidad y mortalidad en el mundo. La hepatitis crónica es un factor de riesgo importante para el desarrollo del carcinoma hepatocelular.

PREGUNTAS DE REPASO

- La hiperbilirrubina en recién nacidos por lo general:
 - Ocasiona un daño cerebral permanente.
 - Es causada por hemólisis.
 - Es causada por atresia biliar.
 - Debe tratarse si los niveles de bilirrubina exceden los 5 mg/dl.
- La cirrosis se deriva de la palabra griega que significa:
 - Amarillo.
 - Duro.
 - Largo.
 - Tumor.
 - Hígado.
- Todas las afirmaciones siguientes relacionadas con el urobilinógeno son correctas EXCEPTO:
 - Incolora.
 - Es producido por acciones oxidativas de bacterias intestinales.
 - Experimenta circulación enterohepática significativa.
 - Los niveles urinarios se incrementan en la obstrucción biliar.
 - Los niveles fecales disminuyen en la obstrucción fecal.
- Niveles elevados de la glutamina CSF se encuentran en pacientes con:
 - Encefalopatía hepática.
 - Tumores cerebrales.
 - Ataques cerebrales.
 - Esquizofrenia.
 - Insuficiencia renal.
- ¿Qué forma de hepatitis es causada por un virus de DNA?
 - Hepatitis A.
 - Hepatitis B.
 - Hepatitis C.
 - Hepatitis D.
 - Hepatitis E.
- En pacientes con hepatitis B, el antígeno e de la hepatitis se encuentra en el suero sólo cuando cuál de los siguientes también está presente:
 - Antígeno superficial.
 - Anticuerpo para el antígeno superficial.
 - Anticuerpo para la hepatitis E.
 - Anticuerpo de la hepatitis C (IgG).
 - Anticuerpo de la hepatitis C (IgM).
- ¿Cuál de las siguientes enzimas se usa con más frecuencia para establecer el origen hepático de una elevada fosfatasa alcalina sérica?
 - Alanina aminotransferasa.
 - Aspartato aminotransferasa.
 - Ornitina carbamoiltransferasa.
 - γ -Glutamiltanspeptidasa.
 - Lactato deshidrogenasa.
- Es probable que la infección por hepatitis E tenga serias consecuencias en:
 - Niños.
 - Mujeres embarazadas.
 - Viajeros en países del tercer mundo.
 - Gente mayor.
 - Pacientes que toman aspirina.
- En el mundo, casi todos los tumores malignos primarios del hígado se relacionan con:
 - Alcoholismo.
 - Cálculos biliares.
 - Infección previa con un virus de la hepatitis.
 - Síndrome de Reye.
 - Paludismo.
- El reactivo de Ehrlich se usa en la medición de:
 - Bilirrubina.
 - Urobilinógeno.
 - Amoniaco.
 - Ácidos biliares.

REFERENCIAS

- Barnard SE, Becker YT, Blair KT, et al. The effect of low dose epinephrine infusion on hepatic hemodynamics. *Transplant Proc* 1998;30(5):2306–2308.
- Emond JC, Renz JF. Surgical anatomy of the liver and its application to hepatobiliary surgery transplantation. *Semin Liver Dis* 1994;14(2):158–168.
- Barwick K, Rosai J. *Ackerman's Surgical Pathology*, 8th ed. St Louis: CV Mosby, 1996:857–942.
- De Wit LT, Douma DJ, Groen AK, et al. Hepatic bile versus gallbladder bile: a comparison of protein and lipid concentration and composition in cholesterol gallstone patients. *Hepatology* 1998;28(1):11–16.
- Balistreri WF. Fetal and neonatal bile acid synthesis and clinical implications. *J Inherited Metab Dis* 1991;14:459–477.
- Hofmann AF. Bile acid secretion, bile flow and biliary lipid secretion in humans. *Hepatology* 1990;12(3, Pt 2):17S–22S, discussion, 22S–25S.
- Fuchs M. Bile acid regulation of hepatic physiology: III. Regulation of bile acid synthesis: past progress and future challenges. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;284(4):G551–G557.
- Ahlfors CF. Measurement of plasma unbound unconjugated bilirubin. *Anal Biochem* 2000;15;279(2):130–135.
- Lyche KD, Brenner DA. A logical approach to the patient with jaundice. *Contemp Intern Med* 1992;4(5):43–58.

10. Beekingham IJ, Ryder SD. ABC of diseases of liver, pancreas, and biliary system. Investigation of liver and biliary diseases. *BMJ* 2001;322(7277):33–36.
11. Doumas BT, Wu TW. The measurement of bilirubin fractions in serum. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1991;28:415–446.
12. Mathew P. The genetic basis of Gilbert's syndrome. *N Engl J Med* 1996;334(12):802–803.
13. Adachi Y, Koiwai O, Sato H. The genetic basis of Gilbert's syndrome. *Lancet* 1996;347(9001):557–558.
14. Emi Y, Ikushiro S, Iyanagi T. Biochemical and molecular aspects of genetic disorders of bilirubin metabolism. *Biochim Biophys Acta* 1998;1407(3):173–184.
15. Gollan JL, Green RM. Crigler-Najjar disease type I: therapeutic approaches to genetic liver diseases into the next century. *Gastroenterology* 1997;112(2):649–651.
16. Berg CL. The physiology of jaundice: molecular and functional characterization of the Crigler-Najjar syndromes. *Hepatology* 1995;22(4, Pt 1):1338–1340.
17. Westwood A. The analysis of bilirubin in serum. *Ann Clin Biochem* 1991;28(Pt 2):119–130.
18. Cherrington AD, Connolly CC, Moore MC. Autoregulation of hepatic glucose production. *Eur J Endocrinol* 1998;138(3):240–248.
19. Kjaer M. Hepatic glucose production during exercise. *Adv Exp Med Biol* 1998;441:117–127.
20. Ascher N, Carithers RL Jr, Hoofnagle JH, et al. Fulminant hepatic failure: summary of a workshop. *Hepatology* 1995;21(1):240–252.
21. Gorski J, Oscai LB, Palmer WK. Hepatic lipid metabolism in exercise and training. *Med Sci Sports Exerc* 1990;22(2):213–221.
22. Bonkovsky HL. Iron and the liver. *Am J Med Sci* 1991;301(1):32–43.
23. Rochling FA. Evaluation of abnormal liver tests. *Clin Cornerstone* 2001;3(6):1–12.
24. Arai N, Hayashi M, Kumada S, et al. Neuropathology of the dentate nucleus in developmental disorders. *Acta Neuropathol (Berl)* 1997;94(1):36–41.
25. Burns D, Perlman JM, Rogers BB. Kernicteric findings at autopsy in two sick near term infants. *Pediatrics* 1997;99(4):612–615.
26. Gourley, GR. Bilirubin metabolism and kernicterus. *Adv Pediatr* 1997;44:173–229.
27. Ostrow JD, Tiribelli C. New concepts in bilirubin and jaundice: report of the Third International Bilirubin Workshop, April 6–8, 1995, Trieste, Italy. *Hepatology* 1996;24(5):1296–1311.
28. Black ER. Diagnostic strategies and test algorithms in liver disease. *Clin Chem* 1997;43(8, Pt 2):1555–1560.
29. Neuschwander-Tetri BA. Common blood tests for liver disease. Which ones are most useful? *Postgrad Med* 1995;98(1):49–56, 59, 63.
30. Popper H. General pathology of the liver. Light microscopic aspects serving diagnosis and interpretation. *Semin Liver Dis* 1986;6:175–184.
31. Menon KV, Gores GJ, Shah VH. Pathogenesis, diagnosis, and treatment of alcoholic liver disease. *Mayo Clin Proc* 2001;76(10):1021–1029.
32. Lieber CS. Alcohol and the liver: 1994 update. *Gastroenterology* 1994;106(4):1085–1105.
33. Bosch J. Medical treatment of portal hypertension. *Digestion* 1998;59(5):547–555.
34. Barnes DS, Geisinger MA, Henderson JM. Portal hypertension. *Curr Probl Surg* 1998;35(5):379–452.
35. Del Olmo JA, Escudero A, Gilibert S, et al. Incidence and risk factors for hepatocellular carcinoma in 967 patients with cirrhosis. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998;124(10):560–564.
36. Carriaga MT, Henson DE. Liver, gallbladder, extrahepatic bile ducts, and pancreas. *Cancer* 1995;75:171–190.
37. Blair T, Blanke C, Chappam WC, et al. Hepatocellular carcinoma outcomes based on indicated treatment strategy. *Am Surg* 1998;64(12):1128–1134; discussion 1134–1135.
38. Fan ST, Lau H, Ng IO, et al. Long term prognosis after hepatectomy for hepatocellular carcinoma: a survival analysis of 204 consecutive patients. *Cancer* 1998;83(11):2302–2311.
39. Bruce JC, Glasgow JF, Hall SM, et al. The changing clinical pattern of Reye's syndrome 1982–1990. *Arch Dis Child* 1996;74(5):400–405.
40. Salmons M, Tacconi MT, Visentin M. Reye's and Reye-like syndromes, drug-related diseases? (Causative agents, etiology, pathogenesis, and therapeutic approaches). *Drug Metab Rev* 1995;27(3):517–539.
41. Smith TC. Reye syndrome and the use of aspirin. *Scott Med J* 1996;41(1):4–9.
42. Stumpf DA. Reye syndrome: an international perspective. *Brain Dev* 1995;17(Suppl):77–78.
43. Amacher DE. Serum transaminase elevations as indicators of hepatic injury following the administration of drugs. *Regul Toxicol Pharmacol* 1998;27(2):119–130.
44. Garcia Rodriguez LA, Jick H, Ruigomez A. A review of epidemiologic research on drug-induced acute liver injury using the general practice research database in the United Kingdom. *Pharmacotherapy* 1997;17(4):721–728.
45. Arner P, Large V. Regulation of lipolysis in humans. Pathophysiological modulation in obesity, diabetes, and hyperlipidaemia. *Diabetes Metab* 1998;24(5):409–418.
46. Dossing M, Sonne J. Drug-induced hepatic disorders. Incidence, management and avoidance. *Drug Saf* 1993;9(6):441–449.
47. Goodman ZD. Drug hepatotoxicity. *Clin Liver Dis* 2002;6(2):381–397.
48. Anker AL, Smilkstein MJ. Acetaminophen. Concepts and controversies. *Emerg Med Clin North Am* 1994;12(2):335–349.
49. Lee WM. Review article: drug-induced hepatotoxicity. *Aliment Pharmacol Ther* 1993;7(5):477–485.
50. Hansen TW. Mechanisms of bilirubin toxicity: clinical implications. *Clin Perinatol* 2002;29(4):765–778, viii.
51. Bertini G, Rubaltelli FF. Non-invasive bilirubinometry in neonatal jaundice. *Semin Neonatol* 2002;7(2):129–33.
52. Doumas BT, Lott JA. Direct and total bilirubin tests: contemporary problems. *Clin Chem* 1993;39(4):641–647.
53. Slaughter, MR. Sensitivity of conventional methods for bilirubin measurements. *J Lab Clin Med* 1996;127(2):233.
54. Ryder KW, et al. Erroneous laboratory results from hemolyzed, icteric, and lipemic specimens. *Clin Chem* 1993;39(1):175–176.
55. Ross JW, et al. The accuracy of laboratory measurements in clinical chemistry: a study of 11 routine chemistry analytes in the College of American Pathologists chemistry survey with fresh frozen serum, definitive methods, and reference methods. *Arch Pathol Lab Med* 1998;122(7):587–608.
56. Schlebusch H, et al. Comparison of five routine methods with the candidate reference method for the determination of bilirubin in neonatal serum. *J Clin Chem Clin Biochem* 1990;28(4):203–210.
57. Harrison SP, et al. Three direct spectrophotometric methods for determination of total bilirubin in neonatal and adult serum, adapted to the Technicon RA-1000 Analyzer. *Clin Chem* 1989;35(9):1980–1986.
58. Misdraji J, Nguyen PL. Urinalysis. When-and when not-to order. *Postgrad Med* 1996;100(1):173–6, 181–2, 185–8.
59. Rumley A. Urine dipstick testing: comparison of results obtained by visual reading and with the Bayer CLINITEK 50. *Ann Clin Biochem* 2000;37(Pt 2):220–221.
60. Binder L, Glass B, Haynes J, et al. Failure of prediction of liver function test abnormalities with the urine urobilinogen and urine bilirubin assays. *Arch Pathol Lab Med* 1989;113(1):73–76.

61. Fevery J, Kotal P. Quantitation of urobilinogen in feces, urine, bile and serum by direct spectrophotometry of zinc complex. *Clin Chim Acta* 1991;14:202(1-2):1-9.
62. Binder L, Glas B, Haynes J, et al. Abnormalities of urine urobilinogen and urine bilirubin assays and their relation to abnormal results of serum liver function tests. *South Med J* 1988; 81(10):1229-1232.
63. Lee BL, New AL, Ong CN. Comparative analysis of conjugated bile acids in human serum using high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *J Chromatogr B Biomet Sci Appl* 1997;704(1-1):35-42.
64. Polkowska G, Polkowska W, Kudlicka A, Wallner G, Chrzastek-Spurch H. Range of serum bile acid concentrations in neonates, infants, older children, and in adults. *Med Sci Monit* 2001;7 Suppl 1:268-270.
65. Azer SA, Klaassen CD, Stacey NH. Biochemical assay of serum bile acids: methods and applications. *Br J Biomed Sci* 1997; 54(2):118-132.
66. Burke MD. Liver function: test selection and interpretation of results. *Clin Lab Med* 2002;22 (2):377-390.
67. Aliberti G, Corvisieri P, de Michele LV, et al. Lactate dehydrogenase and its isoenzymes in the marrow and peripheral blood from haematologically normal subjects. *Physiol Res* 1997;46(6):435-438.
68. Aranda-Michel J, et al. Tests of the liver: use and misuse. *Gastroenterologist* 1998;6(1):34-43.
69. Collier J, Bassendine M. How to response to abnormal liver function tests. *Clin Med* 2002;2(5):406-409.
70. Pratt DS, Kaplan MM. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *N Engl J Med* 2000;342(17): 1266-1271.
71. Moss DW. Diagnostic aspects of alkaline phosphatase and its isoenzymes. *Clin Biochem* 1987;20(4):225-230.
72. Mercer DW. Serum isoenzymes in cancer diagnosis and management. *Immunol Ser* 1990;53:613-629.
73. Artiss JD, Epstein E, Kiechle FL, et al. The clinical use of alkaline phosphatase enzymes. *Clin Lab Med* 1986;6(3):491-505.
74. Raymond FD, Moss DW, Fisher D. Separation of alkaline phosphatase isoforms with and without intact glycan-phosphatidylinositol anchors in aqueous polymer phase systems. *Clin Chim Acta* 1994;227(1-2):111-120.
75. Sherman KE. Alanine aminotransferase in clinical practice. A review. *Arch Intern Med* 1991;151(2):260-265.
76. Mandell BF. Alanine aminotransferase: a nonspecific marker of liver disease. *Arch Intern Med* 1992;152(1):209-213.
77. Rej R. Aminotransferases in disease. *Clin Lab Med* 1989;9(4): 667-687.
78. Panteghini M, et al. Clinical and diagnostic significance of aspartate aminotransferase isoenzymes in sera of patients with liver diseases. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984;22(2):153-158.
79. Bacq Y, et al. Liver function tests in normal pregnancy: a prospective study of 103 pregnant women and 103 matched controls. *Hepatology* 1996;23(5):1030-1034.
80. Panteghini M. Electrophoretic fractionation of 5'-nucleotidase. *Clin Chem* 1994;40(2):190-196.
81. Sunderman FW Jr. The clinical biochemistry of 5'-nucleotidase. *Ann Clin Lab Sci* 1990;20(2):123-139.
82. Stewart SH. Racial and ethnic differences in alcohol-associated aspartate aminotransferase and gamma-glutamyltransferase evaluation. *Arch Intern Med* 2002;162(19):2236-2239.
83. Harasymiw J. The early detection of heavy alcohol consumption using routine clinical laboratory test results. *Am Clin Lab* 2002; 21(6):22-24.
84. Whitfield JB. Gamma glutamyltransferase. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2001;38(4):263-355.
85. Cabrera-Abreu JC, Green A. Gamma-glutamyltransferase: value of its measurement in paediatrics. *Ann Clin Biochem* 2002;39(Pt 1):22-25.
86. Conigrave KM, Degenhardt LJ, Whitfield JB, et al. WHO/ISBRA study group. CDT, GGT, and AST as markers of alcohol use: the WHO/ISBRA collaborative project. *Alcohol Clin Exp Res* 2002; 25(3):332-339.
87. Alhava E, Partanen K, Pasanen P, et al. Value of serum alkaline phosphatase, aminotransferases, gamma-glutamyltransferase, leucine aminopeptidase, and bilirubin in the distinction between benign and malignant diseases causing jaundice and cholestasis: results from a prospective study. *Scand J Clin Lab Invest* 1993; 53(1):35-39.
88. Schwartz MK. Lactic dehydrogenase. an old enzyme reborn as a cancer marker? *Am J Clin Pathol* 1991;96(4):441-443.
89. Anand AC, Neuberger JM, Nightingale P. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure: an assessment of the King's criteria. *J Hepatol* 1997;26(1):62-68.
90. Green A. When and how should we measure plasma ammonia? *Ann Clin Biochem* 1988;25:(Pt 3):199-209.
91. da Fonseca-Wollheim F. The influence of pH and various anions on the distribution of NH₄⁺ in human blood. *Eur J Clin Chem Biochem* 1995;33(5):289-294.
92. Tucci S, et al. Measurement of glutamine and glutamate by capillary electrophoresis and laser induced fluorescence detection in cerebrospinal fluid of meningitis sick children. *Clin Biochem* 1998;31(3):143-150.
93. Koff RS. Hepatitis A. *Lancet* 1998;351(9116):1643-1649.
94. Alter MJ, Bell BP, Fleenor M, et al. The diverse patterns of hepatitis A epidemiology in the United States—implications for vaccination strategies. *J Infect Dis* 1998;178(6):1579-1584.
95. Lemon SM. Type A viral hepatitis: epidemiology, diagnosis, and prevention. *Clin Chem* 1997;43(8, Pt 2):1494-1499.
96. Macedo G, Ribeiro T. Hepatitis A: insights into new trends in epidemiology. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998;10(2):175.
97. Dolan SA. Vaccines for hepatitis A and B. The latest recommendations on safe and extended protection. *Postgrad Med* 1997; 102(6):74-80.
98. Kurstak C, Kurstak E, Hossain A. Progress in diagnosis of viral hepatitis A, B, C, D and E. *Acta Virol* 1996;40(2):107-115.
99. Gregorio GV, Mieli-Vergani G, Mowat AP. Viral hepatitis. *Arch Dis Child* 1994;70(4):343-348.
100. Davis GL. Hepatitis B: diagnosis and treatment. *South Med J* 1997;90(9):866-870; quiz 871.
101. Gitlin N. Hepatitis B: diagnosis, prevention, and treatment. *Clin Chem* 1997;43(8, Pt 2):1500-1506.
102. Colantoni A, De Maria N, Idilman R, et al. Pathogenesis of hepatitis B and C-induced hepatocellular carcinoma. *J Viral Hepat* 1998;5(5):285-299.
103. Bengtstrom M, Jalava T, Kallio A, et al. A rapid and quantitative solution hybridization method for detection of HBV DNA in serum. *J Virol Methods* 1992;36(2):171-180.
104. Campelo C, Cisterna R, Gorrino MT, et al. Detection of hepatitis B virus DNA in chronic carriers by the polymerase chain reaction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;11(8):740-744.
105. Aspinall S, Mphahlele MJ, Peenze I, et al. Detection and quantitation of hepatitis B virus DNA: comparison of two commercial hybridization assays with polymerase chain reaction. *J Viral Hepat* 1995;2(2):107-111.
106. McHutchison JG, Person JL, et al. Improved detection of hepatitis C virus antibodies in high risk populations. *Hepatology* 1992;15:19-25.
107. Alter MJ, Krzyzstof K, Margolis HS, et al. The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. *N Engl J Med* 1992;327:1899-1905.

108. Yen T, Keeffe EB, Ahmed A. The epidemiology of hepatitis C virus infections. *J Clin Gastroenterol* 2003;36(1):47–53.
109. Cardoso M, Dengler T, Kerowgan M, et al. Estimated risk of transmission of hepatitis C virus by blood transfusion. *Vox Sang* 1998;74(4):213–216.
110. Holland PV. Post-transfusion hepatitis: current risks and causes. *Vox Sang* 1998;74(Suppl 2):135–141.
111. Vyas GN, Yang G. Immunodiagnosis of viral hepatitides A to E and non-A to -E. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996;3(3):247–256.
112. Bernardez-Hermida I, Perez-Gracia MT. Serological markers for diagnosis of acute delta hepatitis infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993;12(8):650–651.
113. Herrera JL. Serologic diagnosis of viral hepatitis. *South Med J* 1994;87(7):677–684.
114. Casey JL. Hepatitis delta virus. Genetics and pathogenesis. *Clin Lab Med* 1996;16(2):451–464.
115. Negro F, Rizzetto M. Diagnosis of hepatitis delta virus infection. *J Hepatol* 1995;22(1 Suppl):136–139.
116. Linares A, Navascues CA, Rodrigo L, et al. Epidemiology of hepatitis D virus infection: changes in the last 14 years. *Am J Gastroenterol* 1995;90(11):1981–1984.
117. Emerson SU, Ghabrah TM, Purcell RH, et al. Comparison of tests for antibody to hepatitis E virus. *J Med Virol* 1998;55(2):134–137.
118. Alter MJ, Holland PV, Mast EE, et al. Evaluation of assays for antibody to hepatitis E virus by a serum panel. Hepatitis E Virus Antibody Serum Panel Evaluation Group. *Hepatology* 1998;27(3):857–861.
119. McPherson RA. Laboratory diagnosis of human hepatitis viruses. *J Clin Lab Anal* 1994;8(6):369–377.
120. Renz M, Seelig HP, Seelir R. PCR in the diagnosis of viral hepatitis. *Ann Med* 1992;24(3):225–230.
121. Burkholder BT, Favorov MO, Holland PV, et al. Prevalence of and risk factors for antibody to hepatitis E virus seroreactivity among blood donors in Northern California. *J Infect Dis* 1997;176(1):34–40.
122. Balayan MS. Epidemiology of hepatitis E virus infection. *J Viral Hepat* 1997;4(3):155–165.
123. Bradley DW. Hepatitis E virus: a brief review of the biology, molecular virology, and immunology of a novel virus. *J Hepatol* 1995;22(1 Suppl):140–145.
124. Dawson GJ, De Guzman IJ, Holzer TJ, et al. Diagnosis of acute hepatitis E infection utilizing enzyme immunoassay. *Dig Dis Sci* 1994;39(8):1691–1693.
125. Maddrey WC. Safety of combination interferon alfa-2b/ribavirin therapy in chronic hepatitis C: relapsed and treatment-naïve patients. *Semin Liver Dis* 1999;19:67–75.
126. Corrao G, Arico S. Independent and combined action of hepatitis C virus infection and alcohol consumption on the risk of symptomatic liver cirrhosis. *Hepatology* 1994;20:1115–1120.
127. Seeff LB. The natural history of chronic hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis* 1997;1:587–602.
128. Poynard R, Ratziu V, Charlotte R, et al. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2001;34:730–739.
129. Forns X, Ampurdanes S, Sanchez-Tapias JM, et al. Long-term follow-up of chronic hepatitis C in patients diagnosed at a tertiary-care center. *J Hepatol* 2001;35:265–271.
130. Castano G, Dawson GJ, Flichman D, et al. Detection of hepatitis G virus RNA in patients with acute non-A-E hepatitis. *J Viral Hepat* 1998;5(3):161–164.
131. Loya F. Does the hepatitis G virus cause hepatitis? *Tex Med* 1996;92(12):68–73.
132. Doo EC, Lian TJ, Shiffs ER, Sorrell MF, Maddrey WC. The hepatitis viruses. In: Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC, eds. *Schiff's Diseases of the Liver*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003:917–940.
133. Alter HJ, Umemura T, Tanaka Y. Putative new hepatitis virus. In: Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC, eds. *Schiff's Diseases of the Liver*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003:891–905.

Función cardíaca

Lynn R. Ingram

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- **CARDIOPATÍA**
 - Síntomas de cardiopatía
- **CARDIOPATÍA CONGÉNITA**
- **INSUFICIENCIA CARDÍACA CONGESTIVA**
- **SÍNDROME CORONARIO AGUDO**
- **CARDIOPATÍA HIPERTENSIVA**
- **CARDIOPATÍA INFECCIOSA**
- **DIAGNÓSTICO DE LA CARDIOPATÍA**
 - Diagnóstico de laboratorio para el infarto agudo del miocardio
 - Marcadores de trastornos inflamatorios y de coagulación
- Marcadores de insuficiencia cardíaca congestiva
- Otros marcadores
- Pruebas cardíacas centradas en el paciente
- El papel del laboratorio en la vigilancia de la cardiopatía
- **TRATAMIENTO**
 - Tratamiento con fármacos
 - Tratamiento quirúrgico
- **RESUMEN**
- **PREGUNTAS DE REPASO**
- **REFERENCIAS**

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Explicar el origen de los seis síntomas generales de la cardiopatía.
- Discutir la etiología y los efectos fisiológicos de las siguientes condiciones cardíacas:
 - Cardiopatía congénita
 - Cardiopatía hipertensiva
 - Enfermedades cardíacas infecciosas
 - Cardiopatía coronaria
 - Insuficiencia cardíaca congestiva
- Identificar los nueve factores de riesgo para la cardiopatía coronaria.
- Enumerar las seis características de un marcador cardíaco ideal.
- Comparar y contrastar la especificidad y sensibilidad de los marcadores cardíacos séricos de uso más común.
- Evaluar la utilidad clínica de varios marcadores cardíacos para evaluar el infarto del miocardio.
- Analizar el papel del laboratorio clínico en la evaluación de un paciente con cardiopatía.
- Evaluar la utilidad de los marcadores cardíacos en el punto de atención, y el papel del laboratorio clínico en el uso de estos métodos.
- Nombrar y definir el propósito de los tipos más comunes de fármacos usados para tratar la cardiopatía.

TÉRMINOS CLAVE

Agentes trombolíticos	Coartación de la aorta	Hipertensión esencial	Miocarditis
Albúmina modificada por isquemia	Conductos persistentes	Hipertensión secundaria	Mioglobina
Angina de pecho	D-Dímero	Homocisteína	Péptido B-natriurético
Arritmias	Defecto septal ventricular (DSV)	Hs-CRP	Pericarditis
Aterosclerosis	Defectos septales auriculares (DSA)	Infarto del miocardio	Proteína cardíaca de enlace a ácidos grasos
Cadenas ligeras de miosina (CLM)	Diuréticos	Insuficiencia cardíaca congestiva	Síndrome coronario agudo
Cardiomiopatía	Endocarditis infecciosa	Isoenzima glucógeno fosforilasa BB	Terapia antiplaquetaria
Cardiopatía reumática	Fármacos de bloqueo β -adrenérgico	Isoenzima III anhidrasa carbónica	Tetralogía de Fallot
Cateterización cardíaca	Fibrinógeno	Isoformas CK	Troponina I (TnI)
Cinasa de creatina (CK)	Glucósidos cardíacos	Marcadores cardíacos	Troponina T (TnT)
CK-MB			Vasodiladores

CARDIOPATÍA

La cardiopatía es una condición común y debilitante que afecta a millones de pacientes cada año; sin embargo, es difícil obtener un diagnóstico exacto y oportuno. A menudo, la historia médica del paciente y los resultados radiológicos y de las pruebas de laboratorio no proporcionan información suficiente para asegurar el cuidado médico más benéfico, sobre todo en el caso de los pacientes que se presentan con dolor pectoral. Un diagnóstico oportuno y exacto de estos pacientes podría mejorar el pronóstico y la calidad de vida, además de reducir los riesgos de desarrollar problemas cardíacos y constitucionales adicionales.

Los problemas relacionados con los costos de seguros y administración del cuidado de la salud han estimulado el interés en el desarrollo de nuevos marcadores para el diagnóstico de la cardiopatía que diferencien a los pacientes que necesitan procedimientos adicionales (como injerto de derivación de arteria coronaria, angioplastia, terapia trombolítica) de los que pueden tratarse médicamente de manera segura. Por tanto, es crítica la selección de los *marcadores cardíacos* apropiados que proporcionen los indicadores más rentables y clínicamente útiles para la función del miocardio.

En este capítulo se revisan las enfermedades cardíacas más comunes, las pruebas de diagnóstico por el laboratorio clínico y los tratamientos de rutina para cardiopatías.

Síntomas de cardiopatía

Los pacientes con cardiopatía suelen ser asintomáticos hasta una fase relativamente tardía en su condición. Los síntomas más frecuentes que se manifiestan en la cardiopatía son disnea, dolor pectoral, palpitaciones, síncope, fatiga y edema (cuadro 23-1).

La disnea es la conciencia de la respiración, o la dificultad de ésta. Puede ser resultado de cardiopatía o de enfermedad respiratoria, y es una respuesta normal durante el ejercicio en individuos sanos. La disnea como resultado de la cardiopatía puede ocurrir sólo en el ejercicio o estar presente en el reposo, en enfermedad avanzada. La insuficiencia cardíaca ventricular izquierda causa edema pulmonar, reduciendo la elasticidad pulmonar, incrementando la can-

tidad del esfuerzo necesario para respirar y aumentando la tasa respiratoria debido a la estimulación de los receptores pulmonares. La ortopnea, ahogo cuando un paciente está acostado, ocurre cuando la sangre se distribuye en la posición supina, incrementando la presión de los contenidos abdominales contra el diafragma. La disnea nocturna paroxística es una acumulación nocturna de fluido en los pulmones, que suele despertar al paciente porque lucha por respirar. También son comunes el jadeo como resultado de edema bronquial y una tos productiva, teñida de sangre.¹

La cianosis, un decoloramiento azulado de la piel, es el resultado obvio de la disnea, y es causada por un aumento en la cantidad de hemoglobina no oxigenada en la sangre. La cianosis central es resultado de la derivación de derecha a izquierda de la sangre o de trastornos de la función pulmonar; la cianosis periférica es causada por derivación o vasoconstricción local. La cianosis aparece cuando están presentes 5 g/dl, o más, de hemoglobina reducida.²

La *angina de pecho* es el síntoma más común relacionado con la cardiopatía isquémica. Es un dolor asfixiante o aplastante en la parte central del pecho que puede sentirse cerca del pecho o dentro de éste. El dolor puede extenderse al cuello o la mandíbula o, con menos frecuencia, a la espalda o el abdomen, y está relacionado con pesadez,

CUADRO 23-1. SÍNTOMAS DE CARDIOPATÍA

SÍNTOMAS COMUNES	SÍNTOMAS INUSUALES
Disnea	Tos
Síncope	Dolor abdominal
Cianosis	Hemoptisis
Dolor	Dolor de cabeza
Palpitaciones	Sudoración
Fatiga	Disturbios en la visión y el habla
Edema	Debilidad de las extremidades
	Pérdida de peso
	Náusea/vómito
	Fiebre

parestesia o dolor en uno (usualmente el izquierdo) o ambos brazos. Suele agravarse con el ejercicio y se alivia con el reposo. Con mayor frecuencia, el dolor es causado por falta de oxígeno en el miocardio, como resultado de un inadecuado flujo sanguíneo coronario.¹

Una palpitación puede ser el aumento en la percepción de un latido normal o la sensación de un ritmo cardíaco lento, rápido o irregular. La arritmia más común sentida como palpitaciones son los latidos ectópicos prematuros.¹ Por lo general, éstos se perciben como latidos fallidos, porque el latido inicial es seguido por una pausa antes del próximo latido normal, que es más bien enérgico debido al periodo de llenado diastólico más largo.

Los síncope más comunes son de naturaleza vasovagal (desmayos simples) y no resultado de una enfermedad seria. Pueden deberse a una acumulación venosa o provocados por miedo o choque, y son acompañados a menudo por vértigo, náusea, sudoración, zumbidos, sensación de hundimiento y aburrición. El síncope cardiovascular suele ser súbito y breve, y la variedad clásica es resultado de una perturbación del ritmo cardíaco, además de un ritmo cardíaco retardado. Sin darse cuenta, el paciente cae al suelo con pulso lento o ausente y, después de pocos segundos, recupera la conciencia. A menudo, no hay secuelas.¹

La fatiga es un síntoma cardíaco común, pero no específico. El letargo está relacionado con insuficiencia cardíaca, arritmia cardíaca persistente y cardiopatía cianótica. Puede deberse a una mala perfusión cerebral y periférica, y a una oxigenación insuficiente de la sangre.¹

El fluido retenido se acumula en pies y tobillos de pacientes ambulatorios, y en el sacro de pacientes en cama. El edema relacionado con cardiopatía a menudo está ausente por la mañana debido a que el fluido es reabsorbido al acostarse, pero empeora progresivamente durante el día. Cuando es grave, la pantorrilla y el muslo pueden volverse edematosos, y es posible que se desarrolle edema abdominal o efusión pleural.¹

Una tos puede ser la primera queja en algunos pacientes con congestión pulmonar. Una tos seca es la diferencia entre estos pacientes y los que tienen condiciones pulmonares infecciosas. La hemoptisis ocurre en la insuficiencia cardíaca congestiva, y es especialmente común en pacientes con estenosis mitral.¹

La nicturia también es común en pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva. En pacientes con insuficiencia cardíaca avanzada se observan anorexia, pesadez abdominal, sensibilidad en el cuadrante superior derecho y pérdida de peso, pero son raros en una cardiopatía ligera o inicial.

CARDIOPATÍA CONGÉNITA

Los defectos cardíacos congénitos son la causa de casi 2% de todas las patologías del corazón,⁴ y ocurren en cerca de 8% de los nacimientos vivos.⁵ Es predominante en varones, aunque algunas lesiones específicas ocurren con más frecuencia en las mujeres, y es una causa común de muerte en el primer año de vida.

La cardiopatía congénita incluye defectos valvulares que interfieren con el flujo normal de la sangre, defectos sépticos que permiten la mezcla de la sangre oxigenada de

la circulación pulmonar con la sangre no oxigenada de la circulación sistémica, desviaciones, anormalidades en la posición o forma de las arterias aorta o pulmonar, o una combinación de estas condiciones.⁶ Existen muchas variaciones y grados de gravedad.

Con frecuencia, se desconoce la etiología de la cardiopatía congénita; sin embargo, al parecer en casi todos los defectos intervienen varios factores y reflejan una combinación de influencias genéticas y del entorno. Debido a que el corazón se desarrolla en una etapa temprana de la vida embrionaria y a que está completamente formado y funcionando a las 10 semanas de gestación, todos los defectos cardíacos congénitos se desarrollan antes de las 10 semanas del embarazo. Entre los factores relacionados íntimamente con el desarrollo de la cardiopatía congénita se incluyen las infecciones de rubeola materna, abuso de alcohol por parte de la madre, tratamiento con fármacos y radiación, y ciertas anormalidades genéticas y de los cromosomas.

Desde hace mucho tiempo se conoce que el virus de la rubeola, el agente causante del sarampión alemán, es una causa de los defectos cardíacos congénitos. La infección de la madre durante los tres primeros meses del embarazo está relacionada con una incidencia alta de cardiopatía congénita en el bebé. Al parecer, el virus atraviesa la placenta, entra a la circulación fetal y daña al corazón en desarrollo.⁴

El síndrome del alcoholismo fetal también suele relacionarse a defectos del corazón. El alcohol afecta el corazón del feto porque interfiere directamente con su desarrollo. Aunque el mecanismo teratogénico exacto del síndrome del alcoholismo fetal sigue siendo desconocido,⁴ se ha propuesto que el alcohol es tóxico para las células cardíacas fetales y las destruye. Muchos fármacos terapéuticos e ilegales ingeridos por la madre pueden atravesar la placenta para dañar el corazón del feto.

Las anormalidades cromosómicas están relacionadas con varios síndromes de desarrollo, muchos de los cuales incluyen la cardiopatía. El ejemplo mejor conocido es el síndrome de Down (o síndrome de la trisomía 21), que suele relacionarse con defectos septales de la aurícula.⁴

Los síntomas de la cardiopatía congénita pueden ser evidentes al nacer o en los primeros años, o sólo pueden evidenciarse hasta más adelante en la vida. Entre los signos y síntomas comunes de muchas enfermedades cardíacas congénitas se incluyen cianosis, hipertensión pulmonar, dedos morados, embolia o formación de trombos, disminución del crecimiento, o síncope.¹ Las lesiones cardíacas congénitas más comunes son los defectos septales ventriculares y auriculares, ductos arteriosos persistente, coartación de la aorta, defectos valvulares y tetralogía de Fallot.¹

El *defecto septal ventricular (DSV)*, comúnmente conocido como *agujero en el corazón*, es la malformación cardíaca congénita más común. En esta condición, la sangre fluye por el defecto septal del ventrículo izquierdo al derecho, causando que se bombee menos sangre desde el ventrículo izquierdo, y reduciendo la salida hacia la circulación sistémica. Más sangre entra a la circulación pulmonar, la que sobrecarga y daña irreversiblemente a los vasos pulmonares, causando hipertensión pulmonar. Algunos

DSV pequeños se cerrarán espontáneamente, pero los DSV moderados o largos deben repararse con cirugía antes del desarrollo de una hipertensión pulmonar grave.¹

Los *defectos septales auriculares (DSA)* suelen diagnosticarse por primera vez en la madurez. Esta anomalía causa la derivación de izquierda a derecha de la sangre entre la aurícula. La hipertensión pulmonar y la arritmia auricular son comunes cuando el paciente pasa de los 30 años de edad, pero la mayoría de los niños con esta condición son asintomáticos. Un DSA significativo debe repararse quirúrgicamente en cuanto sea posible después del diagnóstico.¹

Los ductus arteriosus conectan la arteria pulmonar con la aorta descendente. En la vida fetal, los ductus alejan la sangre de la circulación pulmonar y la llevan a la circulación sistémica, donde la sangre se vuelve a oxigenar cuando atraviesa la placenta. Al nacer, el alto contenido de oxígeno en la sangre activa el cierre del ductus. Si está malformado o no contiene suficiente tejido elástico, no cerrará. Un ductus persistente produce una desviación continua de la aorta a la arteria pulmonar, ocasionando una insuficiencia cardíaca izquierda grave (*ductus persistentes*). Muchas veces, sólo hay síntomas hasta más adelante en la vida, cuando se desarrollan insuficiencia cardíaca o endocarditis. Los bebés prematuros suelen nacer con ductus arteriosus persistentes

que son anatómicamente normales pero inmaduros porque les falta el mecanismo para cerrar. Estos bebés pueden ser tratados con indometacina, que estimula la producción de prostaglandina y el cierre del conducto; también es posible corregir éste quirúrgicamente con un pequeño riesgo.¹

La *coartación de la aorta* es un estrechamiento de la aorta en la inserción del ductus arteriosus. En casi todos los casos, esta condición se relaciona con una válvula aórtica bicúspide, en lugar de la tricúspide. Esta condición puede permanecer asintomática por muchos años, y el tratamiento es la escisión quirúrgica de la coartación.

Los problemas de la válvula congénita se clasifican como estenosis (estrechamiento de una válvula que restringe el flujo hacia adelante de la sangre) o incompetencia valvular (una válvula que no cierra por completo, permitiendo que la sangre se filtre hacia atrás). Son comunes el prolapso de la válvula mitral, anormalmente agrandada, y hojas sueltas de la válvula que se inflan hacia atrás con presión.⁶ La *tetralogía de Fallot* es la anomalía cardíaca congénita cianótica más común en niños que sobreviven el período neonatal. Es una combinación de cuatro defectos: DSV, obstrucción de la salida ventricular derecha, posicionamiento anormal de la aorta anterior a la DSV e hipertrofia ventricular derecha (fig. 23-1).¹ Esta combinación de lesiones

Tetralogía de Fallot

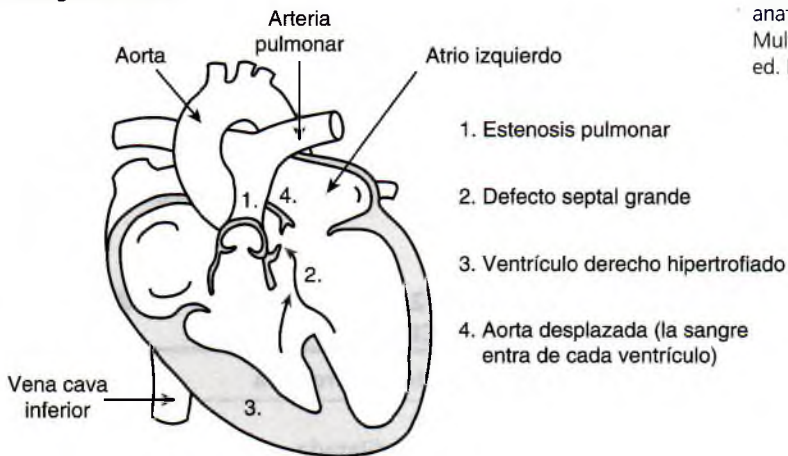
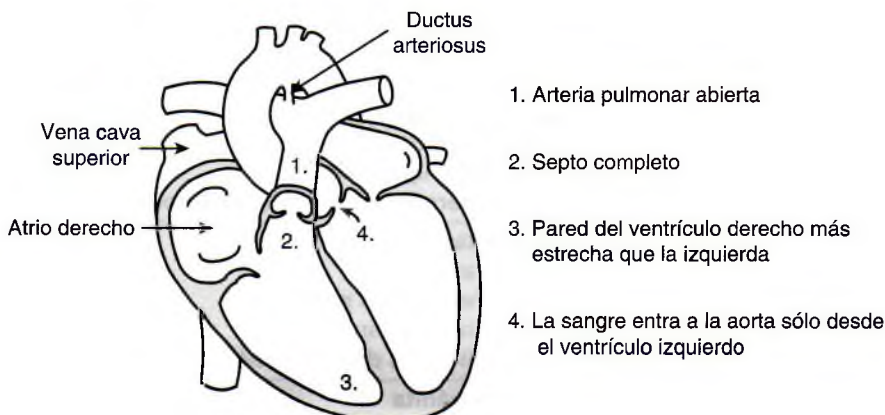


FIGURA 23-1. Tetralogía de Fallot comparada con la anatomía cardíaca normal. (Reimpreso con permiso de Mulvihill ML. *Human Diseases: A Systemic Approach*, 3rd ed. Norwalk, CT: Appleton & Lange, 1991.)

Anatomía normal del corazón



ESTUDIO DE CASO 23-1

Se evaluó a una niña de 15 meses con un murmullo del corazón desde el nacimiento por infecciones pulmonares repetidas, deficiencia en el desarrollo, cianosis y dedos ligeramente amoratados de pies y manos. Ha estado en terapia con digitalis por recomendación médica. Los rayos X mostraron un corazón moderadamente agrandado y una arteria pulmonar agrandada. Se obtuvieron los datos de laboratorio pertinentes.

Proteína total (6.0 a 8.3 g/dl)	5.4
Albúmina (3.5 a 5.2 g/dl)	3.0
Hemoglobina (14 a 18 g/dl)	19.2
Hematócrito (40 a 54%)	59
Cuenta de eritrocito (4.3 a $5.7 \times 10^6/\text{mm}^3$)	6.4

Se realizó cateterización cardíaca y se encontró un defecto septal ventricular grande.

Preguntas

1. ¿Cómo afecta este defecto congénito a la circulación del cuerpo?
2. ¿Por qué aumentaron las mediciones de glóbulos rojos en esta paciente?
3. ¿Qué tratamiento será sugerido para esta paciente?
4. ¿Cuál es el pronóstico para este paciente?

lleva al incremento de la presión ventricular derecha y a la derivación de derecha a izquierda de la sangre a través del DSV. La circulación pulmonar recibe una cantidad pequeña de sangre no oxigenada del ventrículo derecho, y la circulación sistémica recibe una cantidad más grande de sangre mezclada, oxigenada y no oxigenada.⁶ Los niños con esta condición pueden presentarse con disnea, fatiga y episodios hipóxicos cuando hacen ejercicio. Es posible la corrección quirúrgica completa, aun en la infancia.¹

INSUFICIENCIA CARDÍACA CONGESTIVA

La insuficiencia cardíaca congestiva se origina cuando el corazón es incapaz de bombear efectivamente la sangre. Se caracteriza por la acumulación de fluido, inicialmente en los pulmones, y luego en el cuerpo. Se estima que 4.6 millones de personas están siendo tratadas por insuficiencia cardíaca y más de 350 000 son diagnosticadas al año con insuficiencia cardíaca congestiva.⁸

Cuando el corazón es incapaz de bombear eficientemente, el rendimiento cardíaco disminuye. Cuando falla el lado derecho del corazón, un exceso de fluido se acumula en los pulmones, ocasionando edema pulmonar y reducción en la salida de sangre hacia la circulación sistémica. Los riñones responden a esta disminución del flujo sanguíneo con una retención excesiva de fluido, empeorando la insuficiencia cardíaca. Cuando falla el lado derecho del corazón, un exceso de fluido se acumula en la circulación venosa sistémica y ocasiona un edema generalizado. Existe también una disminución en el flujo de la sangre hacia los pulmones y hacia el lado izquierdo del corazón, produciendo una disminución en la salida cardíaca hacia la circulación arterial sistémica.

La insuficiencia cardíaca congestiva puede ocurrir si el músculo cardíaco es débil o si el corazón se esfuerza más allá de su habilidad para reaccionar. Las causas más comunes de insuficiencia cardíaca congestiva son la enferme-

dad arterial coronaria, las cardiomiopatías, la miocarditis, la enfermedad valvular y las arritmias cardíacas (cuadro 23-2).

La enfermedad arterial coronaria es la causa más común de insuficiencia cardíaca en Estados Unidos. El manejo y el pronóstico de la insuficiencia cardíaca congestiva causada por enfermedad arterial coronaria son desfavorables, con mortalidad a 5 años de casi 50%.⁹ La aterosclerosis de las arterias coronarias conduce a isquemia, proceso que reemplaza el músculo cardíaco activo con tejido fibroso que no funciona como músculo cardíaco. La oclusión de

CUADRO 23-2. CAUSAS DE LA INSUFICIENCIA CARDÍACA CONGESTIVA

Enfermedad arterial coronaria

Cardiomiopatías

- Cardiomiopatía dilatada
 - Respuesta autoinmunitaria
 - Enfermedad de vaso sanguíneo pequeño
 - Inducida por alcohol
- Cardiomiopatía restrictiva
 - Anormalidad del miocardio
 - Infiltración del miocardio con proteína anormal
 - Enfermedad endomiocárdica
 - Trombos o tumor
- Cardiomiopatía hipertrófica
 - Condición hereditaria dominante autosómica

Cardiopatía inflamatoria

- Infecciones cardíacas
- Lesión inmunológica al miocardio
- Incompetencia valvular

Disfunciones cardíacas de conducción/arritmias

Cardiopatía congénita

los vasos cardíacos reduce el flujo sanguíneo y fuerza al músculo cardíaco en el metabolismo anaeróbico, produciendo productos de desecho que pueden también dañar las células tisulares. La disminución de la masa muscular cardíaca incrementa la carga llevada por el tejido restante, ocasionando aumento en la tensión y el daño cardíaco. La combinación de estos factores resalta la gravedad de la insuficiencia cardíaca congestiva en isquemia.

Las *cardiomiopatías* son producto de una anormalidad del músculo cardíaco. Si el corazón no logra contraerse de manera eficiente, se dilata desproporcionadamente y lo hace alargado y con paredes cardíacas relativamente delgadas. Se clasifican como cardiomiopatías dilatadas, restrictivas o hipertróficas.

Las cardiomiopatías dilatadas pueden ser el resultado de una respuesta autoinmunitaria; enfermedad de vasos sanguíneos pequeños; o toxicidad miocárdica directa, como la vista en la cardiomiopatía inducida por el alcohol y cardiotoxicidad por antraciclina. Los síntomas que se presentan en la cardiomiopatía dilatada son disnea y malestar en el pecho similar a la angina.

Los pacientes con cardiomiopatía restrictiva tienen presión diastólica aumentada, lo que ocasiona llenado ineficiente de los ventrículos y menos distribución de sangre al cuerpo. Esta condición puede causarse por amiloidosis, fibrosis endometrial, almacenamiento de glucógeno, fibroelastosis, infiltración neoplásica y enfermedad colágeno-vascular.⁹ La hemocromatosis, una infiltración de hierro en el tejido, también puede afectar el músculo cardíaco y conducir a la pérdida de contractilidad y de la función muscular.

La cardiomiopatía hipertrófica se caracteriza por el agrandamiento del septo ventricular, que está fuera de proporción con las otras paredes ventriculares y a menudo es llamada *hipertrofia septal asimétrica*. Al parecer, esta condición se hereda en casi todos los casos como un rasgo dominante autosómico. Puede ser resultado de la miocarditis causada por infecciones, lesión inmunológica al tejido, o puede ser idiopática. También puede desarrollarse en pacientes con cardiopatía valvular. Las malas funciones valvulares alteran el volumen sanguíneo que el corazón debe regular. Tales pacientes progresarán a insuficiencia cardíaca a medida que los cambios del volumen sanguíneo alteran la carga de la sangre a los ventrículos y atrios.

La *arritmia*, o disfunción del sistema cardíaco de conducción, también puede ocasionar insuficiencia cardíaca congestiva. La arritmia puede deberse a isquemia, infarto, infiltraciones, desequilibrios electrolíticos o toxinas químicas.

Las indicaciones clínicas de la insuficiencia cardíaca congestiva van de síntomas leves, que sólo aparecen con el ejercicio, a condiciones más avanzadas en que el corazón no funciona sin apoyo externo. La insuficiencia cardíaca congestiva se detecta rápidamente si involucra a un paciente con infarto del miocardio, angina, problemas pulmonares o arritmia, pero se investiga con más frecuencia debido a disnea, edema, tos o angina. Otros síntomas, como intolerancia al ejercicio, fatiga, y debilidad, son comunes (cuadro 23-3).

CUADRO 23-3. CONDICIONES QUE CONTRIBUYEN A LA INSUFICIENCIA CARDÍACA CONGESTIVA

Hipertensión

Enfermedades del tejido conectivo

Anemia/policitemia

Trastornos endocrinos

Mala nutrición

Drogas/alcohol

Obesidad

Enfermedad pulmonar

SÍNDROME CORONARIO AGUDO

La cardiopatía isquémica incluye una progresión de condiciones patológicas entre las que se encuentran erosión y rotura de las placas arteriales coronarias, activación de plaquetas y trombos. A esta progresión se le denomina *síndrome coronario agudo*, y va de la angina inestable a la necrosis extensa del tejido en el infarto del miocardio. El laboratorio clínico es crítico en el diagnóstico de estas condiciones, la valoración de la reperusión después de la terapia trombolítica, la clasificación del infarto de acuerdo con su dimensión, la identificación de nuevos infartos y la estratificación del riesgo.¹⁰

La enfermedad cardíaca coronaria es causada por falta de nutrientes y oxígeno que llega al músculo cardíaco y ocasiona isquemia del miocardio. La isquemia es la reducción del suministro sanguíneo a un área del corazón, y suele ser resultado de aterosclerosis, trombosis, espasmos o embolismos, pero también puede deberse a anemia, carboxihemoglobinemia o hipotensión, que causa la reducción del flujo sanguíneo hacia el corazón. El incremento en la demanda de oxígeno y nutrientes como resultado del ejercicio extremo o de tirotoxicosis también puede causar isquemia.

Lo más frecuente es que la isquemia sea resultado de arterias coronarias anormales, por lo general causadas por una obstrucción en una o más de estas arterias. La *aterosclerosis* es un engrosamiento y endurecimiento de las paredes de la arteria causados por depósitos de placas de colesterol-lípidos-calcio en el revestimiento de las arterias.¹¹ Los siguientes nueve factores de riesgo predisponen a los individuos a desarrollar estas placas arteriales:

1. **Edad.** La aterosclerosis puede desarrollarse al principio de la vida pero se vuelve un riesgo más significativo con el aumento de la edad. Es más común hallarla después de los 40 años y se encuentra casi universalmente en las personas de edad avanzada en el mundo occidental.¹¹
2. **Sexo.** Los hombres tienden a verse más afectados por la aterosclerosis que las mujeres premenopáusicas de una edad comparable. Después de la menopausia, las diferencias tienden a desaparecer. Se considera que las mujeres están protegidas por niveles elevados de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL) hasta que los niveles de estrógeno descienden en la menopausia.⁴

3. **Antecedentes familiares.** La aterosclerosis suele encontrarse en miembros de la misma familia, pero aún falta por mostrarse un modelo de herencia directo. Los estilos de vida familiar tienen un papel en este proceso, y es difícil distinguir entre factores genéticos y de estilo de vida en la predicción de la enfermedad arterial coronaria. Algunas condiciones se heredan directamente, como la hipercolesterolemia familiar y la hiperlipidemia combinada familiar.¹
4. **Hiperlipidemia.** Se ha demostrado una fuerte relación entre el incremento en la concentración de colesterol sérico y la aterosclerosis. Al bajar el colesterol sérico, sobre todo la fracción del colesterol de lipoproteína de baja densidad (LDL), se ha demostrado que disminuye la incidencia de la enfermedad arterial coronaria y el progreso de la aterosclerosis coronaria.⁹ La relación entre la formación de placas y los niveles de triglicéridos no está bien definida.
5. **Tabaquismo.** Existe una relación directa entre el número de cigarrillos fumados y el riesgo de enfermedad arterial coronaria en hombres que se vincula con la disminución de los niveles de colesterol HDL, con el incremento en los niveles de colesterol LDL y con el aumento en la adhesión de plaquetas, vasoconstricción y aumento del *fibrinógeno* y formación de coágulos causados por el tabaquismo.⁹ Esta relación no está bien definida en las mujeres o en personas que fuman pipa o puros.
6. **Hipertensión.** Tanto la hipertensión sistólica como la diastólica se relacionan con un aumento en el riesgo de aterosclerosis tanto en hombres como en mujeres.
7. **Estilo de vida sedentario.** Se ha demostrado que el ejercicio regular ofrece alguna protección contra el desarrollo de cardiopatías; por el contrario, un estilo de vida sedentario es un factor de peso en el desarrollo de la cardiopatía coronaria.
8. **Diabetes mellitus.** Debido a la fuerte relación entre la diabetes y la enfermedad vascular, existe también un mayor riesgo de enfermedad arterial coronaria en pacientes con diabetes, sobre todo en aquellos en que la diabetes está mal controlada.

9. **Respuesta al estrés.** Las personas agresivas, ambiciosas y compulsivas tienen casi el doble de riesgo de enfermedad coronaria que las personas que no muestran estas características.

Sin importar la etiología de la isquemia, existen tres consecuencias generales de la isquemia cardíaca: insuficiencia cardíaca congestiva, angina de pecho e infarto del miocardio (fig. 23-2). La insuficiencia cardíaca congestiva se origina cuando hay una reducción en el suministro de oxígeno al músculo cardíaco, que causa que éste deje de bombear la sangre eficientemente.

La angina de pecho es un síntoma de inadecuada perfusión del músculo cardíaco, ocasionando dolor en el pecho. La típica angina de pecho ocurre con un incremento en el ejercicio físico o estrés, y se resuelve normalmente con descanso. En pacientes con enfermedad arterial coronaria, los vasos cardíacos estrechados no permiten el aumento del flujo sanguíneo en el músculo cardíaco en momentos adicionales de tensión física o emocional, causando el dolor. Otros tipos de angina son la variante, la nocturna y la inestable. La angina variante no está relacionada con el ejercicio o aumento de estrés sino que es causada por espasmos de una arteria coronaria. Suele tener una duración mayor que la angina normal, y el dolor es más grave. La angina nocturna por lo general ocurre en pacientes con enfermedad coronaria grave y despierta a los pacientes del sueño con un fuerte dolor de pecho. La angina inestable es la forma más grave y el dolor suele presentarse al descansar. A menudo, el dolor es provocado por un aumento leve en el ejercicio o estrés, y puede incluso ser iniciado por la ingestión de una comida sustanciosa. El dolor es de larga duración y fuerte, y no responde bien o tan rápidamente a los tratamientos estándares. Muchos pacientes con angina de pecho inestable progresarán rápidamente a infarto al miocardio. Aunque en algunos casos no es fácil diferenciar la angina de un infarto del miocardio, no existen cambios en el electrocardiograma clásico (ECG) ni elevaciones enzimáticas en la angina, y el daño cardíaco normalmente no ocurre a menos que sea prolongado o grave.

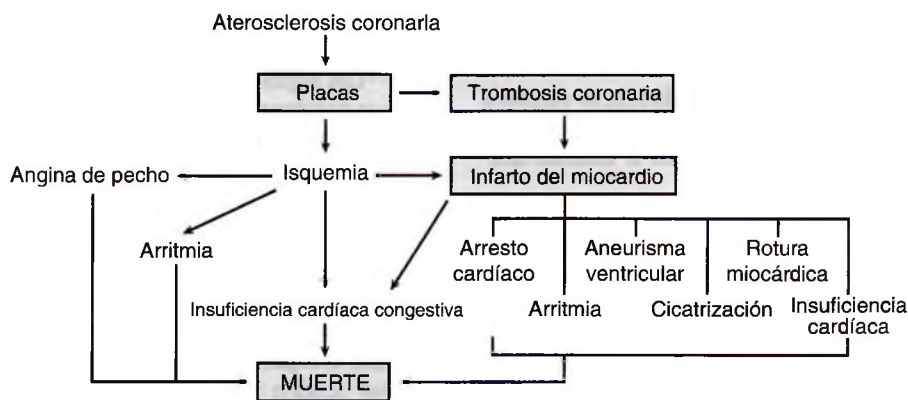


FIGURA 23-2. Presentación de la cardiopatía coronaria. Puede presentarse como angina de pecho, insuficiencia cardíaca congestiva, o infarto del miocardio. (Reimpreso con permiso de Damjanov I. Pathology for the Health Related Professions. Philadelphia WB Saunders, 1996.)

El *infarto del miocardio*, o ataque al corazón, ocurre cuando el flujo sanguíneo hacia un área del músculo cardíaco es bloqueado de repente, provocando isquemia y muerte del tejido del miocardio. El tejido cardíaco se inflama y se necrotiza en el punto de obstrucción y en seguida se liberan las enzimas celulares y las proteínas dentro de la sangre. El área dañada del corazón rápidamente pierde su habilidad para contraerse y conducir los impulsos eléctricos, y los suministros de oxígeno se agotan. Este tipo de daño es irreversible y el área de necrosis se reemplaza en un momento u otro con una cicatriz fibrosa tisular.

La gravedad del daño de un infarto del miocardio es muy variable y se relaciona sobre todo con su tamaño y localización. Si la arteria coronaria descendiente anterior izquierda está bloqueada, las paredes anterior y lateral del corazón, el septo ventricular y el músculo papilar anterolateral se ven afectados. Si la arteria coronaria derecha dominante es la afectada, se ocasionará un daño a la pared inferior posterior, al músculo papilar posteromedial y al septo inferior. Si se ha desarrollado cualquier circulación colateral debido al flujo sanguíneo reducido crónico en esa área particular del corazón, el daño resultante será menos significativo que si no hubiera ocurrido la colateralización.

Los infartos más comunes involucran a las tres capas del corazón. Los pacientes suelen presentarse con grados variables de dolor en el pecho durante varias horas y otros síntomas como dolor en el brazo izquierdo, respiración breve, hipotensión, sudoración, náusea y vómito. Ciertos pacientes, sobre todo los que padecen diabetes o hipertensión, o de edad avanzada, no tendrán dolor en el pecho y presentarán pocos síntomas. Aunque muchos pacientes podrían indicar que no había signos de adver-

tencia de un evento cardíaco inminente, la mayoría admitirá una reciente historia de disnea, angina inestable y una vaga sensación de mala salud. Las complicaciones de un infarto del miocardio son comunes e incluyen muerte repentina debido a arritmias y fibrilación ventricular, corazón bloqueado si las fibras de la conducción se localizan en el área del infarto, y otras irregularidades, lo que ocasiona arritmia, insuficiencia cardíaca congestiva y tromboembolismo.⁶

CARDIOPATÍA HIPERTENSIVA

La *World Health Organization* define la *hipertensión* como la presión sistólica mayor de 160 mmHg, y la presión diastólica mayor de 95 mmHg. Es una de las enfermedades cardiovasculares más comunes, y se estima que alrededor de 50% de las personas de mediana edad tiene hipertensión. La prevalencia de la hipertensión se incrementa con la edad, de 4% en personas de 20 a 29 años a 65% en personas mayores de 80 años.¹² Es más común en la población negra que en la blanca o en los grupos hispanos. La hipertensión puede afectar a todos los órganos, pero sobre todo a riñones, cerebro y corazón.

El factor más importante que determina la presión sanguínea es la resistencia periférica; cuando ésta se encuentra aumentada lleva a la cardiopatía. Aumenta la carga de trabajo del ventrículo izquierdo, lo que ocasiona, con el tiempo, hipertrofia y dilatación. El aumento en tamaño del ventrículo izquierdo causa que la válvula mitral permita la regurgitación de la sangre en el atrio izquierdo que, con el tiempo, produce dilatación y también aumenta la presión en el atrio izquierdo. Esta presión aumentada se transfiere

ESTUDIO DE CASO 23-2

Una mujer de 59 años llegó al área de urgencias de un hospital local quejándose de dolor y sensación de pesadez en su abdomen durante varios días. No reportó debilidad, dolor en el pecho ni en el brazo izquierdo. No tenía problemas de salud crónica excepto alergias temporales y un colesterol total ligeramente elevado. Su ECG mostró cambios característicos indicativos de IMA.

	8:30 P.M.; ABRIL 11	6:30 A.M.; ABRIL 12
ENZIMAS CARDÍACAS		
CK total (54 a 186 U/L)	170	106
CK-MB (0.5 ng/ml)	6.3	3.8
% CK-MB (<6%)	3.7%	3.6%
Mioglobina (<70 µg/L)	52	41
Troponina T (0 a 0.1 µg/L)	0.8	2.3

Preguntas

1. ¿Sugieren IMA los síntomas y el expediente de esta paciente?
2. Basado en los datos de laboratorio precedentes, ¿podría ser este diagnóstico IMA?
3. ¿Por qué sí o por qué no?

a la circulación pulmonar y, entonces, afecta el lado derecho del corazón. Otro factor que complica este proceso es que la hipertensión también está relacionada con una prevalencia aumentada de aterosclerosis, aumentando además el riesgo de cardiopatía.

No suele haber síntomas relacionados con el incremento de la presión sanguínea, pero puede existir vértigo, dolor de cabeza, palpitaciones, inquietud, nerviosismo y tinnitus. Existe una relación fuerte entre la hipertensión y obesidad, abuso de alcohol, tabaquismo y estilo de vida sedentario.

De 90 a 95% de los pacientes con hipertensión no tiene una causa conocida para la condición conocida como hipertensión primaria, o esencial.¹³ La hipertensión primaria es de naturaleza multifactorial; los factores vasculares cardíacos y periféricos influyen en la presión sanguínea. La interacción entre estos factores está mal definida, y los factores genéticos, raciales, de género, y ambientales también complican el cuadro. Cuando las personas tienen identificada la fuente de su hipertensión se le clasifica a ésta como *hipertensión secundaria*. La enfermedad renal, la causa más común de la hipertensión secundaria, está relacionada con la retención de sodio. La hipertensión maligna es una condición grave que se observa cuando una fuerte enfermedad renal causa inflamación y destrucción de las células renales y se relaciona con mortalidad alta, a menos que se trate de manera drástica. El aldosteronismo primario ocasionará retención de sodio y, por tanto, hipertensión, como resultado del control anormal en la excreción renal de los principales electrolitos. El feocromocitoma es una causa poco común de incrementos notables en la presión sanguínea que se debe al aumento de la excreción de catecolaminas a partir de un tumor cromafín.

CARDIOPATÍA INFECCIOSA

Siguen relacionándose agentes infecciosos con diversas enfermedades cardíacas (cuadro 23-4). Las enfermedades infecciosas más comunes relacionadas con el corazón son la cardiopatía reumática, la endocarditis infecciosa y la pericarditis; sin embargo, existe un interés creciente en determinar si un factor infeccioso puede relacionarse con condiciones cardíacas como la cardiopatía coronaria.¹⁴

La fiebre reumática es una enfermedad inflamatoria que se presenta en niños y adultos jóvenes, y que ocurre como resultado de complicaciones de una infección con estreptococos del grupo A. Una declinación en la incidencia de la fiebre reumática desde los inicios del siglo XX se debe a una reducción en el número de todas las infecciones con estreptococos y el uso efectivo de antibióticos contra estas infecciones. Aunque en la mayoría se restringe a complicaciones faríngeas, en ciertos individuos, este microorganismo avanza y afecta el corazón, las articulaciones, la piel y el sistema nervioso central. La fiebre reumática no es causada por una infección directa del corazón con el organismo del estreptococo ni es el resultado de una toxina cardíaca producida por el microorganismo, sino que está relacionada con una reacción autoinmunitaria estimulada por los estreptococos del grupo A.¹ Se piensa que los

CUADRO 23-4. AGENTES INFECCIOSOS RELACIONADOS CON CARDIOPATÍA

Pericarditis/miocarditis	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Enterobacterias
Coxsackievirus A y B	Ecovirus
Adenovirus	Influenza
<i>Coccidioides immitis</i>	Especies de <i>Aspergillus</i>
Especies de <i>Candida</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Histoplasma capsulatum</i>	<i>Tripanosoma cruzi</i>
Endocarditis infecciosa	
<i>Tococcus viridans</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Especies de <i>histoplasma</i>	Especies de <i>Brucella</i>
Especies de <i>Candida</i>	Especies de <i>Aspergillus</i>
<i>Coxiella burnetii</i>	
Cardiopatía reumática	
Grupo A β -hemolítico estreptococo	
Cardiopatía coronaria	
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
Citomegalovirus	Virus del herpes simple tipo 2

anticuerpos contra el antígeno del estreptococo reaccionan con antígenos similares encontrados en el corazón e inician una respuesta inmunitaria mediada por la célula que se relaciona con macrófagos y linfocitos.⁴

La *cardiopatía reumática* afecta a todas las capas del corazón. La inflamación de la superficie interna del corazón (endocarditis), sobre todo las válvulas del corazón izquierdo, conduce a la ulceración y el crecimiento de vegetaciones sobre la cubierta del corazón, y con el tiempo a daño irreversible de la válvula. La *miocarditis* causada por la cardiopatía reumática puede ocasionar problemas de conducción cardíaca o arritmia debido a los agregados necróticos de linfocitos y macrófagos encontrados en el miocardio.

El diagnóstico de la cardiopatía reumática se basa en el hallazgo de por lo menos dos de los síntomas principales siguientes: poliartritis, carditis, corea (movimientos involuntarios causados por lesiones cerebrales), nódulos reumatoides subcutáneos o eritema marginado (una enfermedad del tejido conectivo y de la piel).⁴ Otros síntomas que se pueden incluir son dolor de articulaciones, fiebre, tasa de sedimentación de eritrocitos elevada, evidencia inmunológica de una reciente infección con estreptococos y cambios característicos en el electrocardiograma (ECG). Las opciones de tratamiento son pocas y suele requerirse reparación quirúrgica del daño valvular.

La *endocarditis infecciosa* es una inflamación de la cubierta interna de las cámaras y válvulas del corazón, y puede ser causada por varios microorganismos. Los estreptococos y

los estafilococos son causas comunes, al igual que las bacterias gramnegativas y algunos hongos.⁴ Estos microorganismos atacan al endocardio, invaden las válvulas, y forman vegetaciones de fibrina, plaquetas, células sanguíneas y otros microorganismos. Estas vegetaciones interfieren con la función de las válvulas y pueden desalojarla, formando embolias que pueden causar una infección extendida o el infarto de otros órganos. Dos tipos de endocarditis infecciosa son la subcutánea y la aguda. Los síntomas de la endocarditis subcutánea son vagos e insidiosos en muchos casos. Fiebres de bajo grado, anorexia y esplenomegalia son comunes al inicio en esta condición, y pueden desarrollarse murmullos cardíacos y la insuficiencia cardíaca congestiva en infecciones avanzadas. La endocarditis aguda tiene un comienzo súbito de picos de fiebres, fríos y adormecimientos. Ambos tipos de endocarditis infecciosas responden a la terapia antibiótica apropiada si se tratan en su inicio.

La *pericarditis* suele ser secundaria a otra condición, a menudo a otras condiciones cardíacas. Puede ser causada por bacterias, virus u hongos y está relacionada con varios trastornos autoinmunitarios, como lupus eritematoso sistémico. La acumulación de fluido en el saco pericardíaco es el aspecto definitivo de esta condición, y los diversos tipos de fluido dentro del saco diferenciarán el tipo de pericarditis. Exudados purulentos indican infecciones bacterianas, los fluidos séricos claros son causados por infecciones virales, y un exudado serofibrinoso está relacionado con daño grave como en la cardiopatía reumática.

Los síntomas de la pericarditis varían con la causa subyacente pero son comunes la taquicardia, el dolor de pecho, la respiración breve y la tos. Cantidades grandes de fluido pueden llevar a venas distendidas del cuello, sonidos débiles del corazón y cambios en el ECG.⁶

Los agentes infecciosos se han vuelto recientemente los objetos de interés en la búsqueda continua de causas adicionales de enfermedad arterial coronaria, además de ser tratamientos efectivos y estrategias preventivas para ésta. Los virus, como los virus del herpes y el virus coxsackie B, y las bacterias *Chlamydia pneumoniae* y *Helicobacter pylori* han sido ampliamente estudiadas. Se ha encontrado que la infección crónica está significativamente relacionada con el desarrollo de la aterosclerosis y con complicaciones clínicas de la angina inestable, el infarto del miocardio y el derrame cerebral. En su mayor parte, éstas son sólo vínculos y no se han establecido relaciones causales específicas.¹⁵

DIAGNÓSTICO DE LA CARDIOPATÍA

Debido a sus terribles consecuencias, se han realizado grandes esfuerzos para determinar las mejores herramientas para el diagnóstico temprano y exacto del infarto de miocardio agudo (IMA). La Organización Mundial de la Salud ha establecido tres criterios para el diagnóstico del IMA:

1. **Historia:** la historia es típica si está presente el dolor de pecho agudo, grave y prolongado.
2. **ECG:** Los cambios inequívocos son el desarrollo de ondas Q anormales, persistentes, o equivalentes, en por lo menos dos guías continuas del ECG estándar, y la evolución de la herida dura más de un día.

3. **Marcadores cardíacos séricos:** cambio inequívoco que consiste en cambios en serie enzima/proteína, con un aumento inicial y una caída subsecuente de las concentraciones séricas.¹⁶

Debido a que no existe una prueba diagnóstica de laboratorio simple, que sea rápida y evalúe con precisión la función cardíaca, se necesita una combinación de marcadores cardíacos. Continúa la búsqueda de un marcador cardíaco que sea útil en la evaluación de muchos tipos de condiciones cardíacas; las siguientes características se requieren para un marcador ideal:

- El marcador debe ser absolutamente específico para el corazón, para permitir el diagnóstico confiable del daño miocárdico en presencia de una lesión del músculo esquelético.
- El marcador debe ser muy sensible para detectar el más mínimo daño cardíaco.
- El marcador debe ser capaz de diferenciar un daño reversible de uno irreversible.
- En un infarto de miocardio agudo, el marcador debe permitir el monitoreo de la terapia de perfusión y la estimación de la dimensión del infarto y el pronóstico.
- El marcador debe ser estable y la medición rápida, fácil de realizar, cuantitativa, y costeable.
- El marcador no debe detectarse en pacientes que no tienen daño del miocardio.¹⁷

Casi todos los esfuerzos a la fecha se han orientado al desarrollo de tal marcador cardíaco ideal para el diagnóstico temprano y exacto del IMA. Deben tomarse en cuenta muchos factores en la selección de la mayor parte de las pruebas de laboratorio para diagnóstico clínico, efectivas, y de costo eficaz para pacientes con dolor de pecho. El tiempo que ha pasado después de iniciar el dolor de pecho; cualquier enfermedad concomitante; la posibilidad de una lesión del músculo esquelético; la facilidad de medición y tiempo de vuelta para los resultados; y la especificidad del ensayo, la sensibilidad y las interferencias son sólo unas cuantas consideraciones en estas decisiones.¹⁸

La Academia Nacional de Bioquímica Clínica de Estados Unidos recomienda que dos marcadores bioquímicos se usen para el diagnóstico de rutina del IMA: un marcador inicial que aumenta confiablemente dentro de las 6 h después del inicio de los síntomas y un marcador definitivo que permanece incrementado después de 6 a 9 h, pero que tiene una alta sensibilidad y especificidad para el daño miocárdico y permanece anormal por varios días.¹⁶

Diagnóstico de laboratorio para el infarto agudo del miocardio

Enzimas

Aunque la prueba de sensibilidad a la angiotensina (AST) fue el primer marcador usado para el diagnóstico de laboratorio del IMA, carece de especificidad cardíaca y actualmente no tiene significado clínico para el diagnóstico del IMA. La lactato dehidrogenasa (LD) también era usada para indicar IMA. Es una enzima citoplásmica encontrada en casi todas las células del cuerpo, incluido el corazón, y, por

tanto, no es específica para el diagnóstico de la cardiopatía. Aunque las determinaciones de la isoenzima LD incrementan la especificidad para el tejido cardíaco (las subfracciones LD1 y LD2 son más indicativas del desenvolvimiento cardíaco), la Academia Nacional de Bioquímica Clínica recomienda que las isoenzimas LD y LD ya no tengan un papel en el diagnóstico de las enfermedades cardíacas.¹⁶

La *creatinina cinasa* (CK) es una enzima citosólica que participa en la transferencia de energía en el metabolismo muscular. Es un dímero comprimido de dos subunidades (la B, o forma cerebral, y la M, o forma muscular), que produce tres isoenzimas CK. Las isoenzimas CK-BB (CK1) son de origen cerebral y sólo se encuentran en la sangre si se ha abierto una brecha en la barrera sangre-cerebro. La isoenzima CK-MM (CK3) participa en la mayor parte de la actividad de la CK en el sistema musculoesquelético, mientras la CK-MB (CK2) tiene una mayor especificidad para el músculo cardíaco, aunque sólo participa entre 3 y 20% de la actividad CK total en el corazón.¹⁷ Como un marcador del IMA inicial, la CK muestra sensibilidad de sólo alrededor de 40% y una especificidad de sólo 80%.¹⁸

La CK-MB es una herramienta valiosa para el diagnóstico del IMA debido a su especificidad relativamente alta para lesión cardíaca. La amplia experiencia con la CK-MB la ha establecido como la referencia y la norma de oro para otros marcadores cardíacos. Sin embargo, se toma por lo menos de 4 a 6 h después de iniciado el ataque de dolor de pecho antes de que las actividades de CK-MB aumenten a niveles significativos en la sangre. Los niveles pico ocurren en un periodo de 12 a 24 h, y las actividades del suero suelen regresar a los niveles básicos en 2 o 3 días (fig. 23-3). Aunque la especificidad de la CK-MB para el

tejido cardíaco es mayor a 85%,¹⁸ también se encuentra en el músculo esquelético y llegan a causarse resultados falsos positivos por interferencias analíticas y condiciones clínicas como la enfermedad muscular y lesiones musculares agudas o crónicas.

En años recientes, los ensayos de la actividad CK-MB se han reemplazado cada vez más con los ensayos de masa de la CK-MB, que miden la concentración proteica de CK-MB en lugar de su actividad catalítica. Estos procedimientos de laboratorio se basan en técnicas de inmunoensayos que usan anticuerpos monoclonales y tienen menos interferencias y una sensibilidad analítica más alta que los ensayos basados en la actividad. Los ensayos de masa pueden detectar un aumento en la concentración de la CK-MB alrededor de 1 h antes que los métodos basados en la actividad, y las concentraciones de masa de la CK-MB persistentemente normales sobre un periodo de 6 a 8 h tienen un valor predictivo negativo de 97%.¹⁹

Para aumentar la especificidad de la CK-MB por el tejido cardíaco, se ha propuesto que se calcule una relación (índice relativo) entre masa CK-MB y actividad CK. Si esta relación es mayor de 3, resulta indicativa de IMA en lugar de daño muscular esquelético.

En todo el suero se encuentran presentes *isoformas* CK, y son producidas como parte del mecanismo de limpieza normal de las isoenzimas CK. Sólo existe una isoforma CK-MB (MB₂) y una CK-MM (MM₃) en el miocardio. Hay problemas inherentes con el uso de isoformas como marcador cardíaco, como la falta de especificidad cardíaca para la CK-MB, el contenido pequeño de CK-MB en el tejido del miocardio normal y niveles perceptibles de CK-MB en individuos normales. Sin embargo, las isoformas CK pueden usarse efectivamente como indicadores de reperfusión después de la terapia trombolítica en pacientes con IMA confirmado.¹⁷

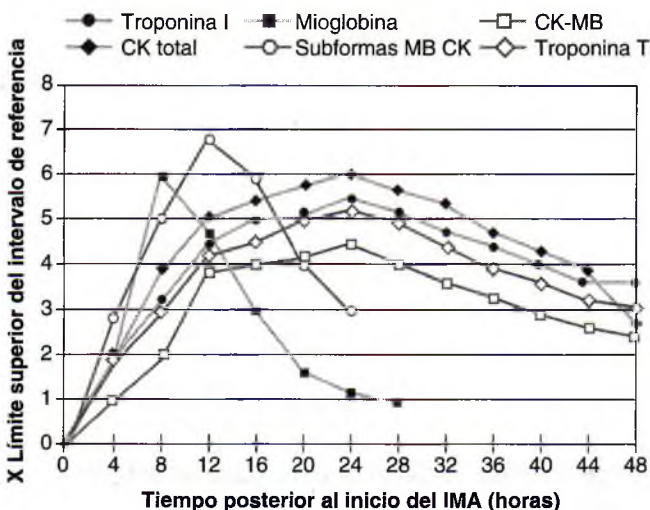


FIGURA 23-3. Perfiles de tiempo de los marcadores cardíacos característicos después del IMA. Aquí se ilustran los perfiles temporales plasmáticos de los marcadores comúnmente usados para el diagnóstico cardíaco, a saber, CK-MB, CK total, troponina I, troponina T, mioglobina y subformas CK-MB. El diagnóstico temprano del infarto (≤ 6 h) sólo es en potencia posible con dos de los marcadores, en concreto, las subformas CK-MB y la mioglobina. (Reimpreso con permiso de Roberts R. Rapid MBCK subform assay and the early diagnosis of myocardial infarction. Clin Lab Med 1997;17(4):669-683.)

Proteínas cardíacas

Es posible monitorear varias proteínas en casos sospechosos de IMA para dar información de un diagnóstico significativo. La *mioglobina*, una proteína heme que se une al oxígeno y que representa de 5 a 10% de todas las proteínas citoplásmicas, se libera rápidamente desde el músculo estriado (músculo esquelético y cardíaco) cuando se daña. Sin embargo, debido a su tamaño pequeño, los riñones eliminan rápido la mioglobina, haciéndola un marcador de daño cardíaco inestable a largo plazo. Debido a la abundancia de mioglobina en tejidos cardíaco y musculoesquelético, el límite de referencia superior de la mioglobina sérica refleja de manera directa la masa muscular del paciente y, por tanto, varía con el género, la edad y la actividad física.²⁰ Aunque existe evidencia de que hay varias formas de mioglobina, no se ha identificado una mioglobina específica cardíaca. La utilidad de la mioglobina como marcador cardíaco se determinó a mediados de 1970, cuando se desarrolló una técnica de radioinmunoensayo para su determinación, pero sólo cuando se dispuso de ensayos rápidos, cuantitativos y automatizados la mioglobina ganó aceptación como ensayo de diagnóstico rutinario para IMA.²¹

La mioglobina es significativamente más sensible que las actividades de la CK y la CK-MB durante las primeras horas

después de iniciar el dolor de pecho. Empieza a elevarse de 1 a 4 h después y es detectable en casi todos los pacientes con IMA de 6 y 9 h después del inicio del dolor de pecho, y regresa a los niveles básicos de 18 a 24 h más adelante¹⁸ (fig. 23-3). Si la concentración de hemoglobina permanece dentro del rango de referencia 8 h después de iniciado el dolor de pecho, puede descartarse el IMA. Aunque resultan comparables las sensibilidades tempranas de la masa de CK-MB, las isoformas CK y la mioglobina, las determinaciones de CK-MB son preferibles a la mioglobina en pacientes admitidos entre 10 y 12 h después del inicio del dolor de pecho, porque es posible que la concentración de mioglobina esté todavía regresando a los rangos de referencia dentro del marco de tiempo.¹⁸ No debe usarse la mioglobina para el diagnóstico temprano de IMA en pacientes con enfermedad renal, sobre todo con insuficiencia renal, porque la mioglobina se incrementará consistentemente como resultado de la disminución de la limpieza presente en riñones enfermos. La desaparición rápida de la mioglobina del suero permite usarla como indicador de reinfarcto. Una concentración de mioglobina persistentemente normal descartará el reinfarcto en pacientes con dolor de pecho recurrente después del IMA.

Las fibras musculares convierten la energía química del adenosintrifosfato (ATP) en trabajo mecánico. A medida que esto ocurre, se activan enzimas, electrolitos y proteínas, y se convierten en materiales que estimulan la contracción de las fibras musculares. La actomiosina ATPasa, el calcio, la actina, la miosina y un complejo de tres proteínas conocidas como *complejo troponina* son los protagonistas principales de esta conversión. Los tres polipéptidos del complejo de troponina son las troponinas T, I y C. La troponina C no es específica del corazón. Al contrario de la CK-MB, las troponinas séricas no se encuentran en el suero de individuos sanos. Aunque se piensa que las enzimas tradicionales sólo se liberan del tejido después de que ha ocurrido un daño irreversible del miocardio, pueden liberarse troponinas cardíacas en la isquemia reversible y en la necrosis irreversible.

La *troponina T* (TnT) permite los diagnósticos temprano y tardío del IMA. Las concentraciones séricas de TnT empiezan a elevarse unas horas después de iniciado el dolor de pecho, y llegan al máximo a los dos días. Por lo general, sigue una meseta que dura de 2 a 5 días, y la concentración sérica de TnT permanece elevada más allá de los 7 días antes de regresar a los valores de referencia (fig. 23-3). La aparición temprana de la TnT no da una mejor información diagnóstica que las concentraciones de la CK-MB o de mioglobina dentro de las primeras 4 h después del inicio del dolor de pecho, pero la sensibilidad de la TnT para detectar el infarcto del miocardio es del 100% de las 12 h a los 5 días después del inicio del dolor de pecho.¹⁸ Además, el grado de elevación de la TnT después del IMA es significativo, a menudo aumenta más de 200 veces por encima del límite superior de los intervalos de referencia.²⁰

Las concentraciones de TnT son muy usadas para el diagnóstico del infarcto del miocardio en pacientes que no buscan atención médica dentro del período usual de 2 a 3 días en que la CK total y la CK-MB son elevadas.¹⁷ También es útil en el diagnóstico diferencial del daño del miocardio en pacientes con síntomas cardíacos, además de lesión del

músculo esquelético, porque la TnT resultará clara y especialmente indicativa de la magnitud del daño cardíaco en oposición al daño muscular.²² La TnT cardíaca también tiene valor en el monitoreo de pacientes después de la reperfusión de una arteria coronaria relacionada con el infarcto. En los pacientes con IMA con reperfusión más temprana que en los pacientes con reperfusión retardada o incompleta, la TnT aparece y alcanza su pico en el suero de manera significativa más temprana que en los pacientes con reperfusión retardada o incompleta. Un incremento significativo en la TnT después de empezar la terapia trombolítica indica reperfusión aceptable de la arteria coronaria relacionada con el infarcto.²³ El grado de elevación de la TnT de 3 a 4 días después del IMA también puede usarse como una estimación práctica y rentable de la dimensión del infarcto del miocardio.²⁴

La *troponina I* (TnI) sólo se encuentra en el miocardio de adultos, lo que la hace extremadamente específica para la cardiopatía. También se encuentra en concentración mucho más alta que la CK-MB en el músculo cardíaco, lo que la convierte en un indicador sensible de lesión cardíaca. La TnI no se encuentra en cantidades detectables en el suero de pacientes con lesiones múltiples o atletas después de un ejercicio activo, en pacientes con insuficiencia renal, o en pacientes con CK-MB elevada, a menos que también estén presentes lesiones del miocardio.¹⁸ La TnI también es una buena valoración bioquímica de la lesión cardíaca en pacientes críticamente enfermos, los que tienen insuficiencia en varios órganos y en situaciones en que es difícil interpretar las elevaciones de CK/CK-MB.

Después de un IMA, la TnI se incrementa por arriba del rango de referencia entre 4 y 6 h después del inicio del dolor de pecho, alcanza su pico entre 12 y 18 h después y regresa a los límites de referencia en unos 6 días, dependiendo del tamaño del IMA¹⁸ (fig. 23-3). La TnT tiende a permanecer elevada mucho tiempo y mantiene una mayor sensibilidad 7 días después del infarcto que la TnI.¹⁸

Se ha desarrollado un ensayo ultrasensible de la TnI, que mejora la sensibilidad temprana en la evaluación del daño miocárdico. El ensayo inmunoluminométrico (ILMA) mejora la exactitud de la TnI para el monitoreo del daño miocárdico durante ciertos tipos de quimioterapia e insuficiencia cardíaca congestiva.²²

Las *cadenas ligeras de miosina* (CLM) cardíacas también intervienen en las concentraciones musculares. Se pensaba primero que eran las únicas proteínas del miocardio, pero investigaciones recientes han determinado que la CLM no es más específica para la lesión cardíaca que las determinaciones de CK-MB. Como las troponinas, la CLM se libera a partir de tejido reversiblemente isquémico. Aunque se dispone de comprobación rápida de CLM, la determinación de CLM no ofrece ventaja alguna sobre los ensayos de la troponina cardíaca. Por tanto, La CLM permanece con una importancia clínica limitada como marcador cardíaco rutinario.¹⁸

Marcadores de trastornos inflamatorios y de coagulación

Debido a que los factores clásicos de riesgo para los síndromes coronarios agudos, como género, edad, historia

ESTUDIO DE CASO 23-3

Un hombre de 83 años de edad con enfermedad coronaria grave conocida, enfermedad difusa de vasos pequeños y una estenosis distal significativa para un injerto de vena previa a una cirugía CABG, fue admitido cuando su médico lo remitió al hospital después de una visita oficial de rutina. Sus síntomas incluyeron edema del 3+ pedal, distensión de la vena yugular y anomalías en el sonido del corazón. Los datos de laboratorio significativos obtenidos en la admisión fueron los siguientes:

Nitrógeno en la urea (6 a 24 mg/dl)	53
Creatinina (0.5 a 1.4 mg/dl)	2.2
Proteína total (6.0 a 8.3 g/dl)	5.8
Albumina (3.5 a 5.3 g/dl)	3.2
Glucosa (60 a 110 mg/dl)	312
Calcio (4.3 a 5.3 meq/L)	4.1
Fósforo (2.5 a 4.5 mg/dl)	2.4
CK total (54 a 186 U/L)	134
CK-MB (0 a 5 ng/L)	4
% CK-MB (<6%)	3%
Mioglobina (< 70 µg/L)	62
Troponina T (0 a 0.1 µg/L)	0.2

Preguntas

1. ¿Los síntomas de este paciente sugieren IMA?
2. Con base en los datos de laboratorio anteriores, ¿este diagnóstico podría ser IMA? ¿Por qué sí o por qué no?
3. Con base en los datos de laboratorio precedentes, ¿existen otras anomalías del sistema de órganos?
4. ¿Cuáles son los indicadores de estas anomalías del sistema de órganos?
5. ¿Existe una prueba de laboratorio específica que pueda indicar insuficiencia cardíaca congestiva en este paciente?

familiar e hiperlipidemia, sólo se encuentran en 50% de todos los pacientes con IMA, la habilidad para predecir un riesgo en individuos con IMA es deficiente. Se sigue investigando para desarrollar herramientas adicionales que ayuden en la predicción del riesgo y en la prevención de un evento. Existe gran cantidad de datos que indican que la respuesta inflamatoria desempeña un papel crítico en la patogénesis de la cardiopatía isquémica. Los pacientes con angina inestable muestran placas ateroscleróticas, con una infiltración significativa de células inflamatorias y niveles sistémicos elevados de reactantes de la fase aguda.²⁵ Las sustancias relacionadas con la activación de las funciones de coagulación y fibrinolíticas también pueden tener valor clínico en el monitoreo de la isquemia coronaria aguda.

Hs-CRP

En estudios se han evaluado varias proteínas de fase aguda como potenciales marcadores para la evaluación del riesgo cardiovascular, y existe evidencia de que la proteína C-reactiva (CRP) es un predictor confiable del riesgo del síndrome coronario agudo. La CRP es un reactante de fase aguda producida principalmente por el hígado. Es estimulada por la interleucina-6 y se incrementa rápido en la inflamación. La concentración en plasma de la CRP se determina sobre todo por su grado de síntesis y, siempre que haya una función hepática normal, es un marcador sensible de la inflamación crónica continua que no se ve afectada por una lesión isquémica.²⁶ Aumenta significativamente como respuesta a una lesión, infección u otras condiciones inflamatorias, y

no está presente en cantidades apreciables en individuos saludables. Aunque es una respuesta no específica para la inflamación, su presencia indica un proceso inflamatorio en el cuerpo. Se ha probado que estos incrementos en CRP son mínimos en síndromes coronarios agudos, permaneciendo a menudo dentro del rango de referencia establecido. Se han desarrollado ensayos confiables, automatizados con alta sensibilidad para CRP (hs-CRP), que permiten la detección de los pequeños incrementos de CRP que suelen observarse en la cardiopatía.

Los datos epidemiológicos documentan una relación positiva entre hs-CRP y la prevalencia de la enfermedad arterial coronaria. Los niveles básicos de hs-CRP se correlacionan con un futuro riesgo más alto de morbilidad cardiovascular y mortalidad entre quienes presentan y carecen de evidencia clínica de enfermedad vascular. En pacientes con enfermedad vascular establecida, cada incremento en la desviación estándar de hs-CRP basal está relacionado con un incremento de 45% en el riesgo relativo de un infarto del miocardio no fatal, o de muerte cardíaca repentina en un período de más de dos años de seguimiento.²⁷

Los hs-CRP también muestran capacidad de pronóstico en quienes todavía no tiene un diagnóstico de enfermedad vascular. Una elevación leve de los niveles básicos de hs-CRP entre individuos aparentemente saludables está relacionada con un mayor riesgo a largo plazo para futuros eventos cardiovasculares. Esta capacidad predictiva ofrece a los pacientes la capacidad de recibir tratamiento para reducir la inflamación y, con ello, su riesgo.²⁷

ESTUDIO DE CASO 23-4

Un hombre de 68 años de edad se presentó en urgencias con un ataque repentino de dolor del pecho, dolor del brazo izquierdo, disnea y debilidad mientras estaba fuera de casa en un viaje de negocios. No está disponible su historial médico, pero admite que ha fumado 2 cajetillas diarias durante más de 20 años. Se obtuvieron marcadores cardíacos en la admisión y a las 8 h de ésta con los resultados siguientes:

MARCADORES CARDÍACOS	7:30 A.M.; SEPTIEMBRE 26	4:00 P.M.; SEPTIEMBRE 26
CK-MB (0 a 5 ng/L)	5.3	9.2
Mioglobina (<70 µg/L)	76	124
Troponina T (0-0.1 µg/L)	<0.1	1.3

Fibrinógeno

El fibrinógeno es una glucoproteína soluble producida en el hígado, y que participa en la agregación de plaquetas y en la coagulación. Es también una proteína de fase aguda producida como respuesta a una inflamación. Se ha establecido una relación entre niveles elevados de fibrinógeno y riesgo de enfermedad cardiovascular, y puede servir como marcador de pronóstico a largo plazo. Estudios prospectivos en hombres saludables indican que una sola medición del fibrinógeno puede predecir el aumento en el riesgo de eventos cardiovasculares hasta 16 años después.²⁸ Es valioso incluir la medición de fibrinógeno al investigar el riesgo cardiovascular porque ayuda a identificar a personas que pueden beneficiarse de estrategias preventivas agresivas.

D-Dímero

El D-Dímero es el producto final del proceso continuo de formación y disolución de trombos que ocurre en el sitio de placas activas en los síndromes coronarios agudos. Debido a que este proceso se antepone al daño celular del miocardio y la liberación de los contenidos proteicos, puede usarse para la detección temprana. Permanece elevado durante días, así que puede ser un marcador fisiológico fácilmente detectable de una placa inestable aunque las troponinas o la CK-MB no estén elevadas, identificando posibles pacientes de alto riesgo que de otra forma podrían ignorarse.²⁹ El D-Dímero carece de especificidad para daño cardíaco porque aumenta también en otras condiciones que causan trombosis. Se ha demostrado que las elevaciones del D-Dímero son útiles para predecir el riesgo de futuros eventos cardíacos.³⁰

Marcadores de insuficiencia cardíaca congestiva

BNP

El péptido tipo cerebro, o B natriurético (BNP), es una hormona peptídica secretada más por los ventrículos cardíacos. Actúa sobre los glomerulos renales para estimular

Preguntas

1. ¿Estos resultados indican un diagnóstico específico?
2. Si es así, ¿cuál es el diagnóstico?
3. ¿Qué resultados de mioglobina, CK-MB y troponina T se esperarían si se analizara a las 4 p.m. del 27 de septiembre?
4. ¿Pueden hacerse suposiciones acerca del estilo de vida, los hábitos y la salud del paciente que podrían incrementar su riesgo para esta condición?
5. ¿Existen algunos ensayos que podrían indicar su riesgo para eventos adicionales de este tipo?

la secreción urinaria de sodio y aumentar el flujo urinario sin afectar el grado de filtración glomerular, la presión sanguínea o el flujo sanguíneo renal.

Las concentraciones plasmáticas del BNP se incrementan en enfermedades caracterizadas por un volumen de fluido expandido (insuficiencia renal, cirrosis hepática con ascitis, aldosterismo primario e insuficiencia cardíaca congestiva), la reducción de la limpieza renal de péptidos (insuficiencia renal) o la estimulación de la producción peptídica (hipertrofia o tensión ventricular, producción ectópica de tumores, enfermedad de la tiroides, circulación excesiva de glucocorticoides o hipoxia).³¹

El diagnóstico de la insuficiencia cardíaca congestiva (CHF) es difícil debido a sus síntomas no específicos, además de la carencia de un marcador bioquímico específico para la CHF. Los estudios muestran que las concentraciones plasmáticas de BNP se encuentran elevadas en pacientes con síntomas graves.³² La evidencia sugiere que es poco probable que pacientes con una concentración por debajo de unos 20 pmol/L tengan CHF, y que quienes tienen resultados por arriba de esta concentración cuentan con una probabilidad alta de una CHF.³¹ El BNP debe servir para diferenciar a los pacientes que deben recurrir a valoraciones de diagnóstico adicionales de los que tiene poca probabilidad de sufrir insuficiencia cardíaca. El BNP puede también ser clínicamente relevante en la determinación del pronóstico de pacientes, sobre todo aquellos con diagnóstico de CHF o quienes han experimentado un IMA reciente. El desarrollo en fechas recientes de un ensayo confiable y rápido para el BNP lo convierte probablemente en un marcador bioquímico común usado en el diagnóstico del CHF.

Otros marcadores

La búsqueda del marcador cardíaco “perfecto” continúa con el desarrollo de varios ensayos que ayudan en el diagnóstico de la lesión del miocardio. Este marcador perfecto debe detectarse más rápidamente que los ensayos disponibles,

ser por completo específico para el daño muscular cardíaco y aplicarse de manera fácil (véase cuadro 23-6).

Isoenzima glucógeno fosforilasa BB (GPBB)

La GPBB es una enzima glucólica que desempeña un papel esencial en la regulación del metabolismo de los carbohidratos mediante la movilización del glucógeno. No es específica del tejido cardíaco, pero es significativamente más sensible que la CK, la masa de la CK-MB, la mioglobina y la TnT en pacientes con IMA durante las primeras 3 o 4 h después de iniciar el dolor de pecho. En la mayoría de los pacientes con IMA, la GPBB aumenta entre 1 y 4 h después del inicio del dolor de pecho, y regresa al nivel de referencia entre 1 y 2 días después.

Proteína cardíaca de enlace a ácidos grasos

La proteína cardíaca de enlace a ácidos grasos (H-FABP) es una proteína de bajo peso molecular que se encuentra en grandes cantidades en el citoplasma del miocardio y en células musculares que intervienen en el metabolismo de los ácidos grasos y la homeostasis de los lípidos. Aunque la H-FABP no es específica del corazón, el contenido de H-FABP del músculo esquelético es sólo de 10 a 30% de la que se encuentra en músculo cardíaco, mientras el contenido de mioglobina del músculo esquelético es casi dos veces más que la del tejido cardíaco. Así, se espera que H-FABP sea un marcador más sensible y específico que la mioglobina para el uso en la detección temprana de lesión miocárdica.³³ Ésta se incrementa rápido en el daño celular, por lo común de 2 a 4 h después, alcanza su pico en 5 a 10 h, y regresa a lo normal entre 24 y 36 h después del inicio del dolor de pecho. La magnitud del incremento en el plasma de la H-FABP ha mostrado también una buena correlación con la magnitud del infarto.³⁴

Isoenzima III anhidrasa carbónica (CA)

La CA es una enzima soluble que cataliza la hidratación del dióxido de carbono a bicarbonato y un protón, e interviene en la regulación del pH, el transporte de iones, el equilibrio de agua y electrolitos, y el metabolismo de carbohidratos, urea y lípidos.³⁵ Existen siete isoenzimas CA con un rango amplio de distribución tisular, pero un sitio importante de actividad de la CA es el músculo esquelético. La CAIII no se encuentra en el músculo cardíaco y, por tanto, puede ser usada para diferenciar entre daño del músculo esquelético y del músculo cardíaco cuando se realiza en conjunción con un análisis más específico del corazón como la mioglobina. En el paciente con lesión coexistente real o posible musculoesquelética, la TnT o la TnI podrían todavía ser los marcadores preferibles para confirmar o descartar el daño del miocardio.¹⁸

Albumina modificada por isquemia

Un marcador bioquímico identificado recientemente para la isquemia, la *albumina modificada por isquemia* (IMA), está en las etapas finales de la investigación. La IMA se produce cuando la albúmina entra en contacto con el tejido isquémico, modificándolo y haciéndolo más resistente a metales de enlace. El mecanismo para la producción de IMA es diferente de otros marcadores tempranos como la CK-MB y

las troponinas, que son productos de la necrosis tisular del miocardio. La IMA se produce de forma continua durante la isquemia y aumenta de 2 a 3 h después de un evento isquémico. Un estudio demuestra que la presentación de una prueba negativa de IMA en urgencias tiene un 96% de valor predictivo negativo de un resultado negativo de troponina, 6 h más tarde.³⁶ Se necesitan más datos futuros para determinar si la IMA es específica para isquemia cardíaca o si está relacionada con todas las isquemias tisulares.

Homocisteína

La homocisteína es un aminoácido natural que se encuentra en la sangre, y que está relacionado con las vitaminas B₁₂, B₆, y el ácido fólico. Un nivel de homocisteína elevado es un factor de riesgo potencial para cardiopatía coronaria, enfermedad vascular cerebral, enfermedad arterial carótida y enfermedad vascular periférica debido al estímulo en la formación de plaquetas. Se sabe que la adición de vitaminas con ácido fólico, B₁₂ y B₆ reduce las concentraciones de homocisteína, pero el beneficio de tal tratamiento sigue siendo incierto.³⁷

Pruebas cardíacas centradas en el paciente

Está ampliamente aceptado que el diagnóstico temprano de pacientes con IMA puede dar como resultado menos daño tisular cardíaco, menos complicaciones, reducción en la duración de la estancia hospitalaria y una recuperación más rápida. Además, las opciones de tratamiento, como la terapia trombolítica o la angioplastia, que puede prevenir un daño adicional al músculo cardíaco deben administrarse en forma oportuna. Por lo general, 90% de los pacientes admitidos en el hospital requieren comprobación bioquímica para confirmar o descartar el IMA.³⁸ El Colegio Estadounidense de Cardiología y la Asociación Estadounidense del Corazón recomiendan que la evaluación inicial del paciente se realice en los 20 primeros minutos después de la llegada a urgencias, y que el tiempo óptimo de espera (TAT) entre la llegada del paciente y la disponibilidad de los resultados de la prueba para los marcadores cardíacos debe ser de menos de 30 min.³⁹ La Academia Nacional de Estándares de Bioquímica Clínica de Prácticas de Laboratorio recomienda que los resultados del marcador cardíaco deben estar disponibles en menos de 1 h después del muestreo.¹⁶ La presión para cumplir con estos estándares es grande, y también difícil de lograr, en instituciones grandes con salas de urgencias ocupadas. La prueba en el punto de atención (POC) para los marcadores cardíacos es una estrategia que sirve para reducir el tiempo de espera, y el reciente desarrollo de dispositivos para la realización de ensayos cardíacos de sangre completos al lado de la cama del paciente han hecho factible satisfacer estas directrices estrictas.

Deben atenderse varios problemas médicos y técnicos cuando se toma en cuenta la prueba cardíaca en el POC. Existen sistemas de prueba cualitativos y cuantitativos, y sistemas que producen un panel de resultados de marcadores cardíacos, además de resultados discretos de un solo analito. Laboratoristas y médicos deben colaborar para determinar cuáles marcadores cardíacos se ofrecen en su institución. La determinación de los valores diagnóstico de corte para IMA en los resultados en el POC y la correlación

de estos resultados con los que pueden realizarse en el laboratorio clínico más adelante también son importantes.

Bajo el *Clinical Laboratory Improvement Amendments Act* (CLIA), la prueba de marcadores cardíacos en el POC se clasifica como una prueba moderada compleja, no como una prueba aplazada. Esta clasificación requiere pautas regulatorias más graves, y es más difícil de llevar a cabo y mantenerse en entornos de POC. Los problemas como el mantenimiento de la habilidad continua para la prueba, el control de calidad y la competencia del operador requerirán una supervisión mayor por parte de los laboratorios.³⁹

El papel del laboratorio en la vigilancia de la cardiopatía

El papel del laboratorio en la vigilancia de la función cardíaca incluye sobre todo la medición de los efectos del corazón sobre otros órganos, como los pulmones, el hígado y el riñón. Los gases sanguíneos arteriales miden el estado acidobase y de oxígeno del paciente, y se usan para determinar la acidosis respiratoria y los niveles elevados de dióxido de carbono que suelen observarse en pacientes con cardiopatía. El paciente con edema desarrollará electrolitos y cambios en la osmolalidad como resultado de la retención de fluidos y de la distribución iónica. La disminución de los resultados cardíacos ocasiona retención de sodio por parte de los riñones, pero también causa el incremento en la retención de fluido; por tanto, el sodio sérico permanece por lo general dentro de los rangos de referencia o llega a disminuir de forma ligera. Las determinaciones de los electrolitos séricos, incluidos el sodio, el potasio, el cloruro y el calcio, son importantes para monitorear la terapia diurética y de fármacos en pacientes con cardiopatía.⁴

Las elevaciones de la aspartato aminotransferasa (AST), la alanina aminotransferasa (ALT) y la fosfatasa alcalina (ALP) suelen observarse en pacientes con insuficiencia ventricular derecha crónica⁴ y el valor de la γ -glutamilttransferasa (GGT) puede ser dos veces el del límite superior del rango normal en la insuficiencia cardíaca congestiva, lo que sugiere congestión y daño hepático.

La evaluación de los lípidos evaluará el riesgo de enfermedad de la arteria coronaria. Es muy recomendable mantener cerca de lo normal los niveles del colesterol HDL, del LDL y de los triglicéridos en el caso de pacientes cardíacos. La determinación de una lipoproteína similar a la LDL, llamada lipoproteína (a), también puede indicarse porque es un factor de riesgo independiente relacionado con el desarrollo de la enfermedad de la arteria coronaria prematura y la vascular.

Es posible identificar al paciente con insuficiencia cardíaca secundaria debido a disfunción de la tiroides mediante un ensayo altamente sensible con la hormona estimulante de la tiroides. El laboratorio es también invaluable para vigilar fármacos terapéuticos siguiendo el diagnóstico de cardiopatía.

El conteo de rutina de la sangre total es importante para detectar anemia e infección. La hemólisis puede indicar comprobación adicional de hemoglobinuria y mioglobulinuria, indicadores de daño cardiovascular y enfermedad del miocardio. Un incremento en las células sanguíneas blan-

cas puede indicar pericarditis, endocarditis o infecciones valvulares. Si ha ocurrido disfunción del riñón como resultado de la cardiopatía, puede desarrollarse anemia debida al decremento en la producción de eritropoyetina renal.

Una infección relacionada con pericarditis, endocarditis y problemas valvulares podría ser identificada mediante cultivos sanguíneos. También pueden realizarse cultivos de muestras del pericardio y el endocardio si se sospecha una infección pericárdica.

El papel del laboratorio durante el tratamiento de la cardiopatía puede extenderse a proporcionar los componentes sanguíneos cuando se necesita intervención quirúrgica. En injertos de derivación, corrección de defectos valvulares y otros procedimientos quirúrgicos para corregir la insuficiencia cardíaca puede requerirse el uso de los componentes sanguíneos durante la cirugía y la recuperación del paciente.

TRATAMIENTO

Cuando se diagnostica la cardiopatía, se recomiendan ciertos cambios en el estilo de vida para mejorar la calidad de ésta y la longevidad. El ejercicio es efectivo en la reducción del riesgo de una cardiopatía adicional, y en la rehabilitación después del infarto del miocardio y otros desórdenes cardíacos crónicos. Dejar de fumar es un paso importante en la reducción de los riesgos de complicaciones y empeoramiento de las condiciones cardíacas. La dieta es un componente necesario del control de los síntomas de la cardiopatía. La reducción del peso disminuirá la carga de trabajo del corazón, y se recomienda la restricción dietética de sodio y grasas. Tal vez se necesite la terapia con fármacos para reducir las concentraciones del colesterol LDL, si la reducción en la ingestión de grasas animales y saturadas no baja las concentraciones a un nivel aceptable. También se fomenta el manejo del estrés, para minimizar la ansiedad relacionada con las condiciones cardíacas y para controlar las reacciones ante las situaciones estresantes de la vida.

La fuerte correlación entre la hipertensión y la cardiopatía requiere un control estricto de la hipertensión. El tratamiento para la *hipertensión esencial* está dirigido a reducir los factores de riesgo, como reducción de peso, restricción de sal y alcohol e incremento del ejercicio.

En los últimos 20 años, se han realizado más de 30 estudios para comparar la enfermedad cardiovascular en mujeres posmenopáusicas con terapia de reemplazo de estrógenos y en usuarias sin estrógenos que indican que la incidencia de la enfermedad de la arteria coronaria entre las usuarias de estrógeno es casi la mitad de las no usuarias. Se ha reconocido por mucho tiempo que estos resultados pueden deberse al hecho de que la población de usuarias de estrógeno es inherentemente más saludable que las que no hacen uso de la terapia del reemplazo de estrógenos. Sin embargo, estudios recientes no han mostrado beneficio alguno de la terapia de estrógenos contra un placebo en la reducción del riesgo de la enfermedad cardiovascular. En la actualidad, la conclusión es que la enfermedad de la arteria coronaria no se previene con estrógenos entre las mujeres más maduras con cardiopatía establecida.⁴⁰

ESTUDIO DE CASO 23-5

El médico principal revisó la rutina física de una mujer de 48 años. Su padre y su hermano murieron antes de los 55 con IMA; otro tío tuvo cirugía CABG a los 52. Debido a su historia familiar, ella requirió alguna prueba que indicara una predisposición o un incremento de los factores de riesgo de cardiopatía temprana. No fuma, no tiene hipertensión, tiene unos 10 kg de sobrepeso y se ejercita de manera moderada. Se obtuvieron los siguientes resultados de la prueba.

Colesterol total (<200 mg/dl)	187 mg/dl
Colesterol HDL (30 a 75 mg/dl)	52 mg/dl
Colesterol LDL (60 a 130 mg/dl)	95 mg/dl
Lipoproteína (a) (<30 mg/dl)	34 mg/dl
Triglicéridos (60 a 160 mg/dl)	203 mg/dl
Glucosa (60 a 110 mg/dl)	83 mg/dl
CK total (15 a 130 UI/L)	65 UI/L
CK-MB (<8 UI/L)	1.9 UI/L
% CK-MB (0-6%)	3 %
Homocisteína (<15 μ mol/L)	18 μ mol/L
Fibrinógeno (2 a 4.5 mg/dl)	4.3 mg/dl
D-Dímero (0 a 250 μ g/ml)	160 μ g/L
Hs-CRP (0.016 a 0.76 mg/dl)	0.91 mg/dl

Preguntas

1. ¿Alguno de los resultados obtenidos indica un alto riesgo de desarrollar una cardiopatía? Si es así, ¿cuáles resultados?
2. ¿Esta paciente tiene factores de riesgo para la cardiopatía temprana que pueden ser modificados por cambios en la dieta o el estilo de vida? Si es así, ¿qué cambios pueden hacerse?
3. ¿Existe algún tratamiento específico que pueda ser instituido para reducir el riesgo de esta paciente?
4. ¿Cómo debería vigilarse a esta paciente?

Tratamiento con fármacos

El tratamiento con varios fármacos es rutinario para el control de muchos y diversos problemas relacionados con la cardiopatía. Por lo general, consiste en una combinación de vasodilatadores, diuréticos, bloqueadores β , antagonistas de los canales del calcio, glucósidos cardíacos y anticoagulantes (cuadro 23-5).

Los nitratos son dilatadores de la arteria coronaria que incrementan el suministro sanguíneo al corazón y disminuyen la presión sanguínea. La nitroglicerina sublingual suele usarse para aliviar la angina, y es parte del tratamiento de rutina de la insuficiencia cardíaca congestiva y del infarto del miocardio. También pueden usarse ungüentos tópicos y parches de la piel que suministran una dosificación consistente de nitroglicerina para tratar la angina inestable y limitar el daño cardíaco debido a isquemia.

Los vasodilatadores más comúnmente usados son los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ACE), como la hidralazina o el captopril. Estos fármacos dilatan las arterias y venas periféricas, disminuyen la cantidad de esfuerzo que el corazón expende para bombear sangre, y suelen ser parte integral del tratamiento de condiciones cardíacas como la insuficiencia cardíaca congestiva y el infarto del miocardio.

Los fármacos bloqueadores β -adrenérgicos reducen el ritmo cardíaco o la fuerza de las contracciones, reduciendo la demanda de oxígeno para el corazón por bloqueo de los receptores β en el modo de seno y el miocardio. Este grupo de fármacos se usa para tratar taquicardia, latidos ectópicos y arritmias, además de dolor de angina e hipertensión. El propranolol es un típico bloqueador β .

Los antagonistas de los canales del calcio disminuyen las contracciones del músculo liso y producen vasodilación. Estos fármacos se combinan con las subunidades de los canales del calcio para limitar la habilidad del calcio de atravesar la membrana celular. Suelen usarse con más frecuencia para tratar la hipertensión, la angina y la taquicardia ventricular.⁴¹

Los glucósidos cardíacos, sobre todo la digoxina, se usan para incrementar la contractilidad cardíaca y disminuir la conducción de impulsos. La digoxina es el glucósido cardíaco más común recetado debido a su farmacocinética conveniente, sus rutas alternas de administración y su amplia disponibilidad en las mediciones del nivel del fármaco en suero.⁴² La mayoría de los pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva, fibrilación auricular o taquicardia, hipertensión, o isquemia cardíaca pueden recibir un fármaco de este tipo para controlar los síntomas.

CUADRO 23-5. TRATAMIENTO DE LA CARDIOPATÍA CON FÁRMACOS

CLASIFICACIÓN DEL MEDICAMENTO	ACCIÓN DEL FÁRMACO	EJEMPLO
Vasodilatador	Incrementa el suministro sanguíneo al músculo cardíaco, disminuye la presión sanguínea	Nitroglicerina, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, como la hidralazina o el captopril
Diurético	Reduce el volumen sanguíneo y el edema	Furosemida; tiacidas
β -Bloqueador	Reduce el ritmo cardíaco y la fuerza de las contracciones cardíacas	Propranolol
Antagonistas de los canales del calcio	Disminuye las contracciones del músculo liso	Nifedipina
Glucósido cardíaco	Incrementa la contractilidad del corazón y disminuye los impulsos de la conducción	Digoxina
Anticoagulante	Reduce la formación de protrombina y previene el antromboembolismo de la trombosis	Heparina; warfarina
Terapia antiplaquetaria	Reduce la activación y agregación de plaquetas	Aspirina

Los *diuréticos* se administran para ayudar a los riñones en la eliminación del agua y el sodio excesivos para reducir el volumen sanguíneo y, con ello, la carga de trabajo situada en el corazón. Los diuréticos proporcionan alivio de los síntomas en el edema pulmonar y en la insuficiencia cardíaca congestiva. Esto es importante para vigilar el equilibrio y la hidratación electrolítica para prevenir también la diuresis agresiva.

Gran cantidad de ensayos han demostrado que la perfusión inducida por trombólisis temprana reduce la dimensión del infarto y la mortalidad. Los *agentes trombolíticos*, como la estreptocinasa, la urocinasa, o el activador plasminógeno tisular, pueden ser indicados para coágulos

sanguíneos en IMA, embolismo pulmonar agudo, trombosis de la vena profunda aguda, trombosis arterial o embolismo.⁴¹ El uso de agentes trombolíticos en pacientes con IMA, comparado con la terapia médica estándar, reduce la morbilidad global en 18%.⁴³ El beneficio más grande ocurre cuando estos agentes son administrados en un período de 3 h después del inicio de los síntomas.⁴⁴

La *terapia antiplaquetaria*, a menudo la aspirina, es efectiva en reducir el riesgo de progresión de aterosclerosis a infarto del miocardio. Reduce la activación y agregación de plaquetas, un factor significativo en el proceso trombótico y, como un resultado, reduce el riesgo de cardiopatía isquémica.⁴¹

CUADRO 23-6. MARCADORES ADICIONALES DE LA CARDIOPATÍA

MARCADOR	SIGNIFICADO
Hs-CRP	Inflamación Predictor del riesgo de futura ACS
Fibrinógeno	Inflamación Predictor del riesgo y pronóstico de la cardiopatía
D-Dímero	Indicador de la inestabilidad de plaquetas Identifica pacientes con alto riesgo cuando otros marcadores no están presentes
Péptido B-natriurético	Diagnostica la cardiopatía congestiva
Isoenzima glucógeno fosforilasa BB	Indicador sensible de IMA tras 1 a 4 h del inicio del dolor
Proteína cardíaca de enlace a ácidos grasos	Indicador sensible y específico de la lesión cardíaca
Grado de elevación que refleja la dimensión de infarto en IMA	Grado de elevación que refleja la dimensión del infarto en IMA
Anhidrasa carbónica III	Diferencia entre el daño cardíaco y el daño muscular
Albúmina modificada por isquemia	Indicador de isquemia El resultado negativo "descarta" IMA
Homocisteína	Factor de riesgo de la cardiopatía coronaria y de la enfermedad vascular

El uso de heparina, warfina, u otros anticoagulantes reduce la formación de protrombina o inhibe la acción de la trombina. La terapia con anticoagulantes se recomienda para prevenir la trombosis venosa y el tromboembolismo, y la extensión y recurrencia de un infarto, y para reducir la mortalidad relacionada con estas condiciones.⁴⁵

Tratamiento quirúrgico

La cirugía de injerto de derivación de arteria coronaria (CABG) fue introducida a finales de la década de 1960, y se convirtió en un tratamiento estándar para la cardiopatía isquémica desde entonces. Esta técnica quirúrgica alivia los síntomas y disminuye la mortalidad relacionada con la cardiopatía isquémica por el reemplazo de las arterias coronarias ocluidas con injertos arteriales sin afectación. Los pacientes con angina de pecho estable e inestable, IMA, isquemia “silenciosa”, sobrevivientes de muerte cardíaca repentina, anomalías coronarias congénitas e insuficiencia cardíaca congestiva son frecuentes candidatos para esta cirugía.⁴⁶

La angioplastia coronaria transluminal percutánea (PTCA) es un procedimiento quirúrgico en que se inserta un globo de angioplastia dentro de una arteria coronaria y se expande. Este abre la luz del vaso obstruido y restablece el flujo sanguíneo del área afectada. Existe cierta discordancia acerca de los beneficios a largo plazo de la PTCA en comparación con los de la CABG, pero en la enfermedad de vasos coronarios simples la PTCA puede ser el tratamiento de elección.

La revascularización transmiocárdica con láser es una técnica de investigación prometedora en que un láser crea canales en el ventrículo izquierdo para proporcionar un suministro sanguíneo para el miocardio adyacente. Esta revascularización ha demostrado la disminución del tamaño de las regiones isquémicas en pacientes que no fueron candidatos para terapias más convencionales.

El trasplante cardíaco ortotópico es una opción para el tratamiento de la cardiopatía avanzada o cuando los pacientes tienen contraindicaciones significativas para los otros procedimientos. Actualmente, el grado de supervivencia a un año después del trasplante cardíaco es de 82% y el de 3 años de 74%.⁴⁷ La disponibilidad limitada de suficientes corazones donados es el factor limitante para esta opción de tratamiento.

RESUMEN

La meta de un diagnóstico exacto y oportuno para condiciones cardíacas no se logra en la actualidad en todos los pacientes, sobre todo en aquellos con dolor de pecho agudo. Un conocimiento completo de la anatomía y función del corazón y las causas y efectos de la cardiopatía sigue siendo una herramienta muy valiosa en la identificación y tratamiento de la cardiopatía. El uso juicioso de los datos de diagnóstico de laboratorio y de otros es crítico para la identificación de pacientes que necesitan cuidado adicional y de los que seguramente pueden ser dados de alta. En pacientes que muestran dolor de pecho, el reconocimiento de que patrones relacionados con el tiempo aumentan los marcadores cardíacos usados hoy es un factor importante en la indicación del tratamiento apropiado para cada paciente individual. Sin embargo, los síntomas y los factores de riesgo identificados a menudo no pueden correlacionarse con los datos de laboratorio y radiológicos obtenidos.

Los avances en los tratamientos quirúrgicos y farmacológicos para las condiciones cardíacas incrementarán las expectativas de vida, además la calidad de ésta, en pacientes con cardiopatía avanzada. El futuro traerá el desarrollo de ensayos más sensibles que tengan especificidad absoluta para la cardiopatía, lo que ocasionará un diagnóstico exacto en todos los pacientes.

PREGUNTAS DE REPASO

1. La concentración de troponina T en suero es el valor principal para el paciente con infarto del miocardio cuando:
 - a) El inicio de los síntomas está dentro de las primeras 3 a 6 h después de que se ha obtenido la muestra.
 - b) La CK-MB ha alcanzado su pico y regresa a las concentraciones normales.
 - c) La concentración de mioglobina es demasiado elevada.
 - d) La concentración de la troponina I ha regresado a las concentraciones normales.
2. Una concentración de mioglobina normal 8 h después del inicio de los síntomas de la sospecha de un infarto del miocardio debe:
 - a) Esencialmente descartar un infarto del miocardio agudo.
 - b) Proporcionar un diagnóstico definitivo de infarto del miocardio.
 - c) Interpretarse con la cuidadosa consideración de la concentración de troponina T.
 - d) Proporcionar la misma información que una CK-MB total.

3. ¿Cuál de los siguientes analitos tiene la más alta especificidad para la lesión cardíaca?
 - a) Troponina I.
 - b) Ensayos de masa CK-MB.
 - c) CK-MB total.
 - d) AST.
4. ¿Qué de lo siguiente NO es una consideración durante la investigación de la prueba en el punto de atención (POC) de los marcadores cardíacos?
 - a) La facilidad y costo de la prueba.
 - b) El tiempo requerido para obtener los resultados.
 - c) El mantenimiento de los requisitos regulatorios porque se considera una prueba atenuada.
 - d) La correlación entre los resultados obtenidos por métodos POC con los obtenidos en el laboratorio principal.
5. ¿Cuál de las pruebas siguientes no vigila niveles de inflamación o factores de coagulación que pueden contribuir al síndrome coronario agudo?
 - a) hs-CRP.
 - b) albúmina modificada por isquemia.
 - c) D-Dímero.
 - d) Fibrinógeno.
6. La cardiopatía reumática es resultado de una infección ¿con cuál de los siguientes microorganismos?
 - a) *Staphylococcus aureus*.
 - b) *Estreptococos* del grupo A.
 - c) *Pseudomonas aeruginosa*.
 - d) *Chlamydia pneumoniae*.
7. La angina, un síntoma común de la insuficiencia cardíaca congestiva, suele aliviarse con la administración de
 - a) Diuréticos.
 - b) Fármacos bloqueadores β -adrenérgicos.
 - c) Glucósidos cardíacos.
 - d) Nitratos.
8. ¿Cuál de los siguientes marcadores cardíacos es el indicador más usado en la insuficiencia cardíaca congestiva?
 - a) Fibrinógeno.
 - b) D-Dímero.
 - c) Isoenzima glucógeno fosforilasa BB.
 - d) Péptido B-natriurético.
9. ¿Cuál de los siguientes marcadores cardíacos es el mejor indicador de la dimensión del infarto en IMA?
 - a) Fibrinógeno.
 - b) Péptido B-natriurético.
 - c) Proteína cardíaca de enlace a ácidos grasos.
 - d) Troponina I.
10. ¿Qué de lo siguiente NO es una característica de un marcador cardíaco ideal?
 - a) Especificidad absoluta.
 - b) Alta sensibilidad.
 - c) Estimación aproximada de la magnitud de daño cardíaco.
 - d) Habilidad para predecir la ocurrencia futura de la cardiopatía.

REFERENCIAS

1. Camm AJ. Cardiovascular disease. In: Kumar PJ, Clark ML, eds. Clinical Medicine, 2nd ed. London: Bailliere Tindall, 1990:511.
2. Braunwald E. The clinical examination. In: Goldman L, Braunwald E, eds. Primary Cardiology. Philadelphia: WB Saunders, 1998:30.
3. Carabello BA. Recognition and management of patients with valvular heart disease. In: Goldman L, Braunwald E, eds. Primary Cardiology. Philadelphia: WB Saunders, 1998:375.
4. Damjanov I. Pathology for the Health-Related Professions. Philadelphia: WB Saunders, 1996.
5. Marelli AJ, Moodie DS. Adult congenital heart disease. In: Topol EJ, ed. Textbook of Cardiovascular Medicine, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002:711.
6. Gould BE. Pathophysiology for the Health-Related Professions. Philadelphia: WB Saunders, 1997.
7. Therrien J, Webb GD. Congenital heart disease in adults. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P, eds. Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine, 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001:1599.
8. Givertz MM, Colucci WS, Braunwald E. Clinical aspects of heart failure: high-output heart failure; pulmonary edema. In: Braunwald E, ed. Heart Disease: A Textbook of Cardiac Medicine, Vol 1, 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001:535.
9. Gazes PC. Clinical Cardiology: A Cost-effective Approach. New York: Chapman & Hall, 1997.
10. Christenson RH, Duh SH. Evidence-based approach to practice guides and decision thresholds for cardiac markers. Scand J Clin Lab Invest 1999;59(Suppl 230):90-102.
11. Thomas CL, ed. Taber's Cyclopedic Medical Dictionary, 18th ed. Philadelphia: FA Davis, 1997:168.
12. Wilson PWF. An epidemiologic perspective of systemic hypertension, ischemic heart disease and heart failure. Am J Cardiol 1997; 80(9B):3J-7J.
13. Black HR. Approach to the patient with hypertension. In: Goldman L, Braunwald E. Primary Cardiology. Philadelphia: WB Saunders, 1998:134.
14. Ellis RW. Infection and coronary heart disease. J Med Microbiol 1997;46:535-539.
15. Muhlestein JB. Chronic infection and coronary artery disease. Med Clin N Am 2000;84(1):123-148.
16. Wu AHB, Apple FS, Gibler WB, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery disease. Clin Chem 1999;45(7):1104-1121.
17. Mair J. Progress in myocardial damage detection: new biochemical markers for clinicians. Crit Rev Clin Lab Sci 1997;34:1-66.
18. Karras DJ, Kane DL. Serum markers in the emergency department: diagnosis of acute myocardial infarction. Emerg Med Clin N Am 2001;19(2):321-337.

19. Zimmerman J, Fromm R, Meyer D, et al. Diagnostic marker cooperative study for the diagnosis of myocardial infarction. *Circulation* 1999;99:1671-1677.
20. O'Neil BJ, Ross, MA. Cardiac markers protocols in a chest pain observation unit. *Emerg Med Clin N Am* 2001;19(1):67-86.
21. Delanghe JR, Chapelle JP, Vanderschueren SC. Quantitative nephelometric assay for determining myoglobin evaluated. *Clin Chem* 1990;36(9):1675-1678.
22. Puschendorf B. Strategies for cardiac marker measurement. *Clin Chem Lab Med* 1999;37(11/12):997-999.
23. Antman EM, Braunwald E. Acute myocardial infarction. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P, eds. *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*, 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001:1134.
24. Rempis A, Ehlermann P, Giannitsis E, et al. Cardiac troponin T levels at 96 hours reflect myocardial infarct size: a pathoanatomical study. *Cardiology* 2000;93:249-253.
25. Liuzzo G, Rizzello V. C-reactive protein and primary prevention of ischemic heart disease. *Clin Chim Acta* 2001;311:45-48.
26. Speidl WS, Graf S, Hornykewycz S, et al. High-sensitivity C-reactive protein in the prediction of coronary events in patients with premature coronary artery disease. *Am Heart J* 2002;144(3):449-455.
27. Morrow DA, Ridker PM. C-reactive protein, inflammation, and coronary risk. *Med Clin N Am* 2000;84(1):149-161.
28. Sehna E, Slany J. Fibrinogen-the key to familiar CHD or just another shadow in Plato's allegory? *Eur Heart J* 2002;23(16):1231-1233.
29. Newby LK. Cardiac marker testing: where should we focus? *Am Heart J* 2000;140(3):351-353.
30. Ridker PM. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;336(14):973-979.
31. Cowie MR, Mendez GF. BNP and congestive heart failure. *Prog Cardiovascular Dis* 2002;44(4):293-332.
32. Wei C-M, Heublein DM, Perella MA. Natriuretic peptide system in human heart failure. *Circulation* 1993;88:1004-1009.
33. Ishii J, Wang J, Naruse H, et al. Serum concentrations of myoglobin vs. human heart-type cytoplasmic fatty acid-binding protein in early detection of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1997;43:1372-1378.
34. Ghani F, Wu AHB, Graff L, et al. Role of heart-type fatty acid-binding protein in early detection of acute myocardial infarction. *Clin Chem* 2000;46:718-719.
35. Sly WS, Peiyi YH. Human carbonic anhydrases and carbonic anhydrase deficiencies. *Ann Rev Biochem* 1995;64:375-401.
36. Check W. Getting a jump on cardiovascular disease. *CAP Today* 2002;16(3):1.
37. Tribouilloy CM, Peltier M, Peltier MCI, et al. Plasma homocysteine and severity of thoracic aortic atherosclerosis. *Chest* 2000;118(6):1685-1689.
38. Collinson PO. Testing for cardiac markers at the point of care. *Clin Lab Med* 2001;21(2):351-362.
39. Lewandowski K. Cardiac markers: the next opportunity of point-of-care testing. *Clin Lab News* 2003;29(1):10-11.
40. Knopp RH, Aikawa K. Estrogen, female gender, and heart disease. In: Topol EJ, ed. *Textbook of Cardiovascular Medicine*, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002:179.
41. Opie LH. Pharmacologic options for treatment of ischemic disease. In: Smith TW, ed. *Cardiovascular Therapeutics: A Companion to Braunwald's Heart Disease*. Philadelphia: WB Saunders, 1996:22.
42. Kelly RA, Smith TW. The pharmacology of heart failure drugs. In: Smith TW, ed. *Cardiovascular Therapeutics: A Companion to Braunwald's Heart Disease*. Philadelphia: WB Saunders, 1996:176.
43. Topol EJ, Van de Werf, FJ. Acute myocardial infarction. In: Topol EJ, ed. *Textbook of Cardiovascular Medicine*, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002:394.
44. Ryan TJ. Management of acute myocardial infarction: synopsis of ACC and AHA practice guidelines. *Postgrad Med* 1997;102(5):84-96.
45. Schafer AJ, Ali NM, Levine GN. Hemostasis, thrombosis, fibrinolysis, and cardiovascular disease. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P, eds. *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*, 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001:2118.
46. Solomon AJ, Gersh BJ. Ischemic heart disease: surgical options. In: Smith TW, ed. *Cardiovascular Therapeutics: A Companion to Braunwald's Heart Disease*. Philadelphia: WB Saunders, 1996:65.
47. Miniati DN, Robbins RC, Reitz BA. Heart and heart-lung transplantation. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P, eds. *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*, 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001:629.

Función renal

Carol J. Skarzynski y Alan H. B. Wu

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- ANATOMÍA RENAL
- FISIOLÓGÍA RENAL
 - Filtración glomerular
 - Función tubular
 - Eliminación de los compuestos nitrogenados no proteicos
 - Homeostasis del agua, electrolítica y acidobásica
 - Función endocrina
 - 1,25-Dihidroxit vitamina D₃
- PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS
 - Mediciones de eliminación
 - Electroforesis de la orina
 - β_2 -Microglobulina
 - Mioglobina

- Microalbúmina
- Cistatina C
- Urianálisis
- FISIOPATOLOGÍA
 - Enfermedades glomerulares
 - Enfermedades tubulares
 - Infección/obstrucción del tracto urinario
 - Cálculos renales
 - Insuficiencia renal
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Esquematizar la anatomía de la nefrona.
- Describir el papel fisiológico de cada una de las partes de la nefrona: glomérulo, túbulo proximal, asa de Henle, túbulo distal y conducto recolector.
- Describir el mecanismo por el que el riñón mantiene el equilibrio de líquidos y electrolitos en conjunto con las hormonas.
- Establecer la importancia y el cálculo del índice de filtración glomerular y el índice de filtración glomerular estimado.
- Indicar la importancia clínica de las proteínas urinarias totales, la microalbuminuria de la albúmina urinaria, la eliminación de la mioglobina, la β_2 -microglobulina sérica y la cistatina C.
- Enumerar las pruebas de un perfil de urinalisis y microscopia, y comprender la importancia clínica de cada una de ellas.
- Describir las enfermedades de los glomérulos y de los túbulos, y la manera en que se utilizan las pruebas de laboratorio en estos trastornos.
- Distinguir entre la insuficiencia renal aguda y crónica.
- Describir la terapia de insuficiencia renal crónica con respecto a la diálisis y el trasplante renales.

TÉRMINOS CLAVE

Aldosterona
Asa de Henle
Cistatina C
Diabetes mellitus
Eliminación de creatinina
Enfermedad renal crónica
Eritropoyetina
Glomerulonefritis
Glomérulos

Hemodiálisis
Hemofiltración
Hormona antidiurética (ADH)
Índice de filtración glomerular (IFG)
Índice de filtración glomerular estimado (IFGE)

Insuficiencia renal aguda
Microalbúmina
 β_2 -Microglobulina (β_2 -M)
Mioglobina
Prostaglandina
Rabdomiólisis
Reabsorción tubular
Renina
Secreción tubular

Síndrome nefrótico
Sistema multiplicador en contracorriente
Túbulo
Umbral renal
Vitamina D

CUADRO 24-1. FUNCIONES DEL RIÑÓN

Formación de orina

Equilibrio de líquidos y electrolitos

Regulación del equilibrio acidobásico

Excreción de los productos de desecho del metabolismo de las proteínas

Excreción de fármacos y toxinas

Secreción de hormonas

Renina

Eritropoyetina

1,25-dihidroxivitamina D₃

Prostaglandinas

Los riñones son órganos vitales que realizan varias funciones importantes (cuadro 24-1). Las más relevantes son eliminación de sustancias indeseables del plasma (de desecho y excedentes), homeostasis (mantenimiento del equilibrio) del agua corporal, estado electrolítico y acidobásico, y participación en la regulación hormonal. En el laboratorio clínico, se utilizan pruebas de la función renal en la valoración de enfermedad renal, equilibrio del agua y trastornos acidobásicos y en situaciones de traumatismo, lesión en la cabeza, cirugía y enfermedades infecciosas. Este capítulo se centra en la anatomía y fisiología renal, así como en los procedimientos analíticos disponibles para el diagnóstico, monitoreo y tratamiento de la disfunción del riñón.

ANATOMÍA RENAL

Los riñones son órganos pareados en forma de frijol que se localizan en posición retroperitoneal en ambos lados de la médula espinal. Desde una perspectiva macroscópica, se evidencia que una cápsula fibrosa de tejido conectivo

cubre cada riñón. Al diseccionar de manera longitudinal, es posible distinguir con claridad dos regiones: una exterior denominada corteza y una interna conocida como médula (fig. 24-1A). También se observa la pelvis. Ésta es una cavidad semejante a una cuenca que se encuentra en el extremo superior del uréter, por la que pasa la orina recién formada. Los uréteres bilaterales son canales de paredes gruesas, que conectan los riñones con la vejiga urinaria. La orina se almacena temporalmente en la vejiga hasta que se evacua del cuerpo a través de la uretra. En la figura 24-1B se muestra la disposición de las nefronas en el riñón, que son unidades funcionales del riñón que sólo es posible observar en el microscopio. Cada riñón contiene alrededor de 1 millón de nefronas. Cada nefrona es un aparato complejo compuesto de cinco partes básicas, que se ilustran en la figura 24-2.

- Los **glomérulos** son un mechón capilar rodeado por el extremo extendido de un **túbulo renal** conocido como **cápsula de Bowman**. Cada uno de los glomérulos es abastecido por una arteriola aferente que transporta la sangre hacia adentro y una arteriola eferente que la lleva hacia afuera. La arteriola eferente se ramifica dentro de los capilares peritubulares que abastecen el túbulo.
- El **túbulo contorneado proximal** se localiza en la corteza.
- La extensa **asa de Henle** se compone de la **extremidad descendente** delgada, que abarca la médula, y la **extremidad ascendente**, que se localiza tanto en la médula como en la corteza y abarca una región que es delgada y después gruesa.
- El **túbulo contorneado distal** se localiza en la corteza.
- El **conducto recolector** se forma por dos o más túbulos contorneados distales que atraviesan por detrás de la corteza y de la médula para recolectar la orina que dreña de cada nefrona. Al final los conductos recolectores se juntan y vacían sus contenidos en la pelvis renal.

En la siguiente sección se describe la manera en que cada parte de la nefrona funciona de modo normal.

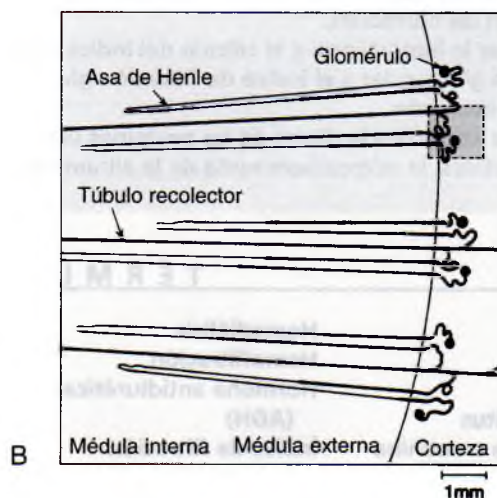
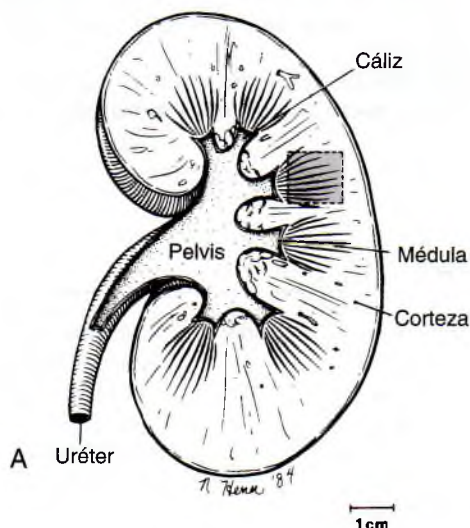


FIGURA 24-1. Anatomía del riñón.

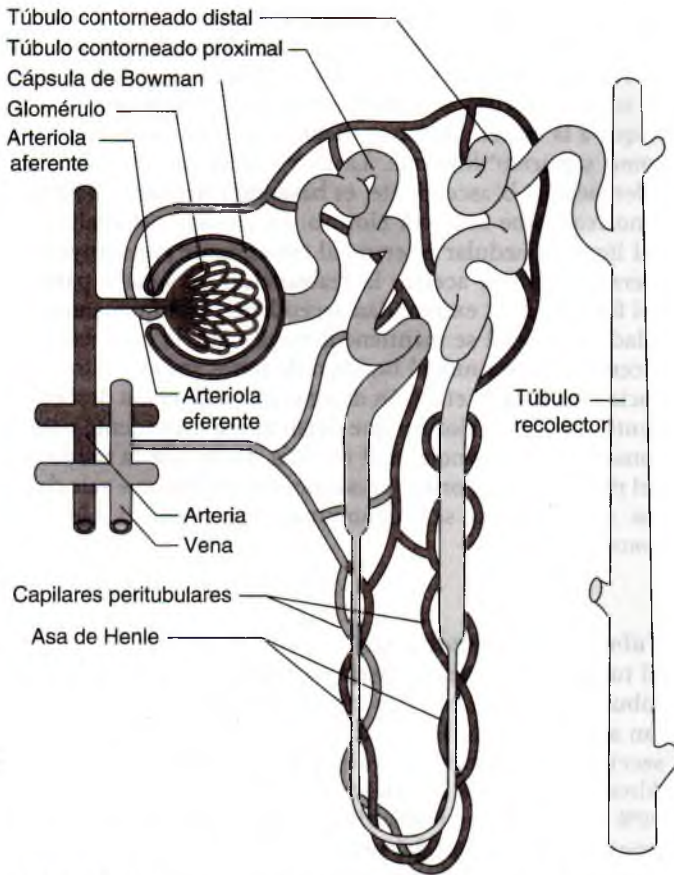


FIGURA 24-2. Representación de una nefrona y su aporte sanguíneo.

FISIOLOGÍA RENAL

Existen tres procesos básicos renales:

1. Filtración glomerular.
2. Reabsorción tubular.
3. Secreción tubular.

En la figura 24-3 se ilustra la manera en que tres sustancias diferentes se procesan en forma variable por la nefrona. La sustancia A se *filtra y secreta*, pero no se reabsorbe; la sustancia B se *filtra* y una *porción se reabsorbe*;

y la sustancia C se *filtra y se reabsorbe por completo*.¹ A continuación se muestra una descripción de la manera en que sustancias específicas se regulan de esta manera para mantener la homeostasis.

Filtración glomerular

El glomérulo es la primera parte de la nefrona y su función es filtrar la sangre que entra. Varios factores facilitan la filtración. Uno de ellos es la presión inusualmente elevada en los capilares glomerulares, que se origina por su posición entre dos arteriolas. Esto causa una marcada diferencia de presión a través de las paredes. Otro factor es la membrana basal glomerular semipermeable, que tiene un valor límite de tamaño molecular de alrededor de 66 000 daltons, casi el tamaño molecular de la albúmina. Esto significa que el agua, los electrolitos y los pequeños solutos disueltos, como la glucosa, los aminoácidos, las proteínas de bajo peso molecular, la urea y la creatinina, atraviesan en forma libre la membrana basal y entran al túbulo contorneado proximal. Otros constituyentes sanguíneos, como la albúmina; muchas proteínas plasmáticas; elementos celulares; y sustancias unidas con proteínas, como lípidos y bilirrubina, son demasiado grandes para ser filtrados. Además, debido a que la membrana basal presenta carga negativa, las moléculas con carga negativa, como las proteínas, son rechazadas. De los 1 200 a 1 500 ml de sangre que los riñones reciben cada minuto (casi una cuarta parte del gasto cardíaco total), los glomérulos filtran hacia fuera 125 a 130 ml de un líquido esencialmente libre de células y proteínas, al que se le denomina *filtrado glomerular*. El volumen de sangre filtrada por minuto es el *índice de filtración glomerular (IFG)*, y su determinación es esencial en la evaluación de la función renal, como se analizó en la sección sobre *procedimientos analíticos*.

Función tubular

Túbulo contorneado proximal

El túbulo proximal es la siguiente parte de la nefrona que recibe la sangre ahora libre de células y, en esencia, de proteínas. Este filtrado contiene productos de desecho, que son tóxicos para el cuerpo cuando sobrepasan cierta concentración, y sustancias que son valiosas para el organismo. Una de las funciones del túbulo proximal es devolver

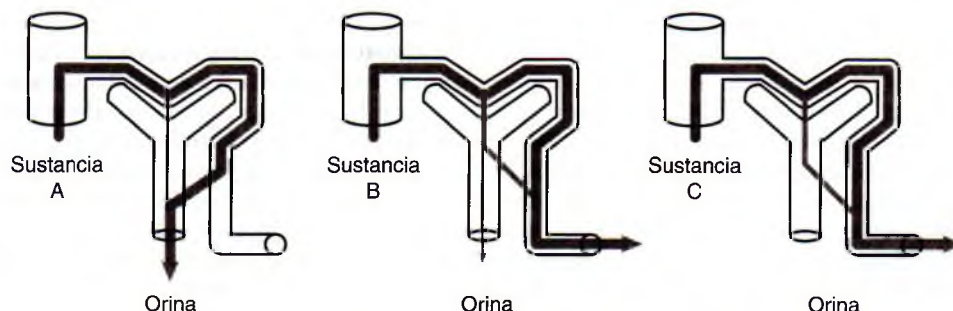


FIGURA 24-3. Proceso renal de filtración, reabsorción y secreción.

el volumen de cada sustancia valiosa a la circulación de la sangre. Así, 75% del agua, sodio y cloro; 100% de la glucosa (hasta el umbral renal); casi todos los aminoácidos, las vitaminas y las proteínas; y cantidades variables de urea, ácido úrico y iones, como el magnesio, calcio, potasio y bicarbonato, son *reabsorbidos*. Casi todo (98 a 100%) el ácido úrico, un producto de desecho, se reabsorbe de manera activa, sólo para ser secretado en el extremo distal del túbulo proximal.

Al proceso en que las sustancias pasan del lumen tubular al plasma capilar peritubular se le conoce como *reabsorción tubular*. Con excepción del agua y los iones de cloruro, el proceso es activo; es decir, las células epiteliales tubulares utilizan energía para unirse y transportar las sustancias a través de la membrana plasmática a la sangre. Los procesos de transporte implicados en condiciones normales tienen reserva suficiente para la reabsorción eficiente, pero son saturables. Cuando la concentración de las sustancias filtradas supera la capacidad del sistema de transporte, la sustancia es entonces excretada por la orina. A la concentración plasmática por arriba de aquella en que la sustancia aparece en la orina se le conoce como *umbral renal*, y su determinación es útil en la evaluación de la función tubular y en los estados de patología no renal. No existe un umbral renal para el agua porque ésta siempre se transporta de manera pasiva por difusión bajo un gradiente de concentración. En este caso, los iones de cloruro se difunden detrás del sodio.

Una segunda función del túbulo proximal es *secretar* productos del metabolismo celular tubular del riñón, como los iones de hidrógeno, y fármacos, como la penicilina. El término *secreción tubular* se utiliza de dos maneras: *a*) describe el movimiento de las sustancias del plasma capilar peritubular hacia el lumen tubular y *b*) indica, también, el momento en que las células tubulares secretan productos de su propio metabolismo celular dentro del filtrado en el lumen tubular. Una vez más, el transporte a través de la membrana de la célula es activo o pasivo.

Asa de Henle

Sistema multiplicador en contracorriente. La osmolalidad de la médula de esta porción de la nefrona aumenta de manera constante a partir de la unión corticomedular interna y facilita la reabsorción de agua, sodio y cloruro. La hiperosmolalidad que se desarrolla en la médula se mantiene en forma continua a través del asa de Henle, un dispositivo semejante a un gancho que se encuentra entre el túbulo proximal y el túbulo contorneado distal. A los flujos opuestos del asa, el flujo hacia abajo de la extremidad descendente y el flujo hacia arriba de la extremidad ascendente, se les denomina *flujo de contracorriente*. Para comprender la manera en que la hiperosmolalidad se mantiene en la médula, es mejor ver primero lo que sucede en la extremidad ascendente. El sodio y el cloruro se reabsorben de manera activa y pasiva en el líquido intersticial de la médula a lo largo de toda la extremidad ascendente. Debido a que esta última es relativamente impermeable al agua, poca agua fluye y el líquido intersti-

cial de la médula se vuelve hiperosmótico en comparación con el líquido de la extremidad ascendente. Este líquido se vuelve hipotónico o se diluye a medida que los iones de sodio y cloruro se reabsorben sin pérdida de agua, por lo que a la extremidad ascendente a menudo se le conoce como *segmento diluyente*. La extremidad descendente, a diferencia de la ascendente, es bastante permeable al agua y no reabsorbe sodio ni cloruro. La elevada osmolalidad del líquido medular intersticial circundante constituye la fuerza física que acelera la reabsorción de agua a partir del filtrado de la extremidad ascendente. La hiperosmolalidad intersticial se mantiene debido a que la extremidad ascendente continúa el bombeo de iones sodio y cloruro hacia ella. Esta interacción de agua que deja el asa descendente, y sodio y cloruro que dejan el asa ascendente para conservar una osmolalidad elevada dentro de la médula del riñón produce orina hipoosmolal a medida que sale del asa. A este proceso se le denomina *sistema multiplicador en contracorriente*.²

Túbulo contorneado distal

El túbulo contorneado distal es mucho más corto que el túbulo proximal, con dos o tres espirales que se conectan a un conducto recolector. El filtrado que entra a esta sección de la nefrona está cerca de su composición final. Alrededor de 95% de los iones de sodio y cloruro, y de 90% de agua ya se reabsorbieron del filtrado glomerular original. La función del túbulo distal es efectuar pequeños ajustes para lograr la homeostasis electrolítica y acidobásica. Estos ajustes ocurren bajo control hormonal tanto de la *hormona antidiurética (ADH)* como de la *aldosterona*. En la figura 24-4 se describe la acción de estas hormonas.

ADH. La ADH es una hormona peptídica secretada por la hipófisis posterior, sobre todo en respuesta a un aumento de la osmolalidad sanguínea. Además, la ADH se libera cuando el volumen sanguíneo disminuye más de 5 a 10%. Los descensos importantes del volumen sanguíneo estimularán la secreción de ADH, aun cuando disminuya la osmolalidad del plasma.³ La ADH estimula la reabsorción de agua. En condiciones normales, las paredes de los túbulos recolectores distales son impermeables al agua (al igual que el asa ascendente de Henle), pero se vuelven permeables con la ADH. El agua se difunde de manera pasiva a partir del lumen de los túbulos, lo que da como resultado orina más concentrada y disminución de la osmolalidad del plasma.

Aldosterona. Esta hormona se produce por la corteza suprarrenal bajo la influencia del mecanismo renina-angiotensina. Su secreción se desencadena por la disminución del flujo o la presión sanguíneos en la arteriola renal aferente y por disminución del sodio en plasma. La aldosterona estimula la reabsorción de sodio en los túbulos distales, y la secreción de potasio y del ion de hidrógeno. La secreción del ion de hidrógeno se vincula con la regeneración del bicarbonato y la secreción de amoniaco, que también ocurre aquí. Además de estos iones, se reabsorben cantidades pequeñas de iones de cloruro.

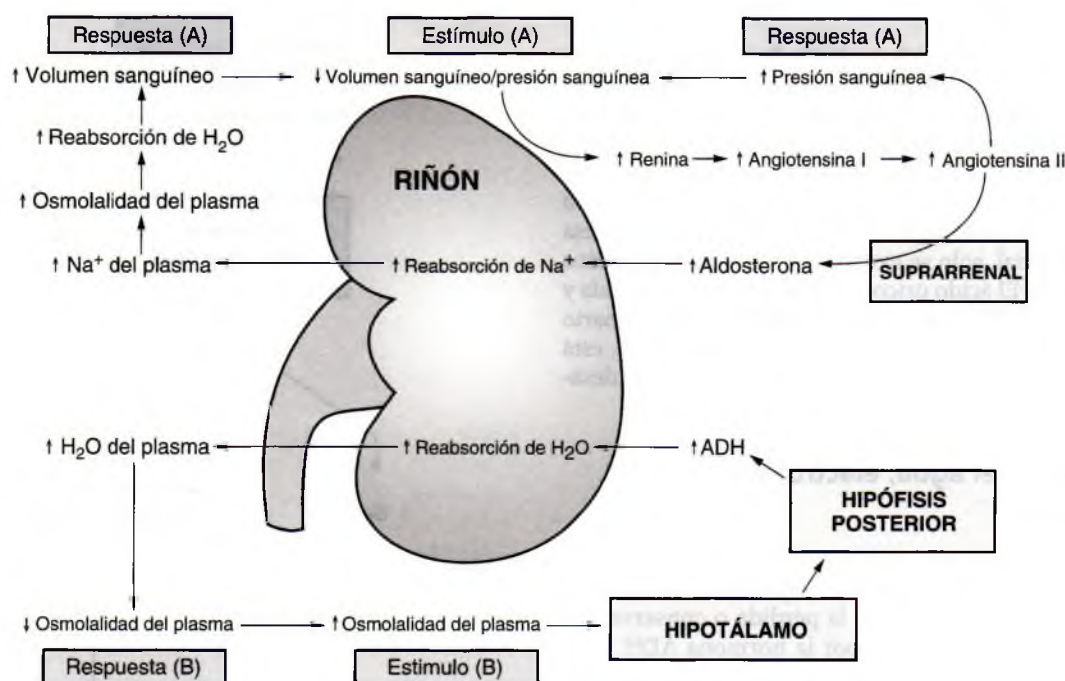


FIGURA 24-4. Control de ADH y aldosterona de la reabsorción renal de agua y Na^+ . (Reimpreso con autorización de Kaplan A, *et al.*, *The kidney and tests of renal function*, en Kaplan A, Jack R, Opheim KE, Toivola B, Lyon AW, eds. *Clinical Chemistry: Interpretation and Techniques*, 4th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1995:158, fig. 6-2.)

Conducto colector

Los conductos colectores constituyen el sitio final de la orina concentrada o diluida. Las hormonas ADH y aldosterona actúan sobre este segmento de la nefrona para controlar la reabsorción de agua y sodio. El cloruro y la urea también se reabsorben aquí. La urea desempeña un papel importante en el mantenimiento de la hiperosmolaridad de la médula renal. Debido a que los conductos recolectores de la médula son bastante permeables a la urea, ésta se difunde bajo su gradiente de concentración hacia fuera del túbulo y en el intersticio medular, lo que aumenta su osmolaridad.⁴

Eliminación de los compuestos nitrogenados no proteicos

Los compuestos nitrogenados no proteicos (NNP) son productos de desecho formados en el cuerpo como resultado del metabolismo degradante de ácidos nucleicos, aminoácidos y proteínas. La excreción de estos compuestos representa una función importante de los riñones. Los tres principales compuestos son urea, creatinina y ácido úrico.^{5,6} Para conocer una descripción más detallada de su bioquímica y correlaciones patológicas, véase el capítulo 9, *Compuestos de nitrógeno no proteínico*.

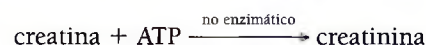
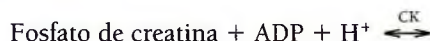
Urea

La urea constituye la mayor parte (>75%) de los NNP de desecho excretados a diario como resultado del catabolismo oxidante de las proteínas. La síntesis de la urea ocurre en el hígado. Las proteínas se degradan a aminoácidos, que luego se desaminan para formar amoniaco. Éste se

convierte con rapidez en urea, con lo que se evita toxicidad. El riñón es la única ruta importante de excreción de la urea. Esta última tiene un peso molecular de 60 y, por tanto, se filtra con rapidez por los glomérulos. En los conductos recolectores, se reabsorbe 40 a 60% de la urea. La urea reabsorbida contribuye a la elevada osmolaridad de la médula, lo que representa uno de los procesos de concentración urinaria ya mencionados (véase *Asa de Henle*).

Creatinina

El músculo contiene fosfato de creatina, un compuesto alto en energía para la formación rápida de trifosfato de adenosina (ATP). Esta reacción se cataliza por la creatina cinasa (CK) y constituye la primera fuente de combustible metabólico usado en la contracción muscular. La creatinina se forma a partir de creatina, como se muestra a continuación.



(Ec. 24-1)

Cada día, hasta 20% de la creatina muscular total (y su fosfato) se deshidrata de manera espontánea y se cicla para formar creatinina de producto de desecho. Por tanto, las concentraciones de creatinina están en función de la masa muscular y permanecen casi iguales en un individuo sobre una base diaria, a menos que cambie la masa muscular o la función renal. La creatinina tiene un peso molecular de 113 y, por tanto, se filtra con facilidad por los glomérulos. Sin embargo, una pequeña cantidad de creatinina se secreta por los túbulos del riñón a elevadas concentraciones en suero.

Ácido úrico

El ácido úrico es el principal producto de desecho del metabolismo de la purina. Las purinas, adenina y guanina, son precursores del ATP de ácidos nucleicos y del trifosfato de guanosina (GTP), respectivamente. El ácido úrico tiene un peso molecular de 168. Al igual que la creatinina, se filtra con facilidad por los glomérulos, pero luego se somete a un ciclo complejo de reabsorción y secreción a medida que atraviesa la nefrona. Al final, sólo se excreta 6 a 12% del ácido úrico filtrado original. El ácido úrico existe en su forma ionizada y más soluble, por lo general urato de sodio, a un pH urinario >5.75 (el primer pK_a de ácido úrico). A un pH <5.75 , está disociado. Este hecho tiene importancia clínica en el desarrollo de urolitiasis (formación de cálculos) y gota.

Homeostasis del agua, electrolítica y acidobásica

Equilibrio del agua

La contribución de los riñones al equilibrio del agua en el cuerpo se realiza a través de la pérdida o conservación de agua, lo que está regulado por la hormona ADH. Ésta responde en esencia a los cambios en la osmolalidad y el volumen intravascular. El aumento de la osmolalidad del plasma o la disminución del volumen intravascular estimula la secreción de ADH a partir de la hipófisis posterior. Luego la ADH incrementa la permeabilidad de los túbulos contorneados distales y de los conductos recolectores de agua, lo que ocasiona un incremento en la reabsorción del agua y excreción de orina más concentrada. En contraste, el sistema principal que regula la ingestión de agua es la sed, que al parecer se activa por los mismos estímulos que originan la secreción de ADH.

En estados de deshidratación, los túbulos renales reabsorben agua a su máximo índice, lo que causa la producción de una cantidad pequeña de orina concentrada al máximo (osmolalidad urinaria elevada, 1 200 mosmol/L).⁷ En estados de exceso de agua, los túbulos reabsorben agua a sólo un índice mínimo, lo que da como resultado la excreción de un volumen grande de orina diluida en extremo (osmolalidad urinaria baja, inferior a 50 mosmol/L).⁸⁻¹⁰ La posible afinación continua entre estos dos estados extremos ocasiona el control preciso del equilibrio de líquidos en el cuerpo (fig. 24-5).

Equilibrio electrolítico

A continuación se muestra un breve panorama de los iones notables implicados en el mantenimiento del equilibrio electrolítico dentro del cuerpo. Para conocer una explicación más completa de este tema, consúltese el capítulo 13, *Electrólitos*.

Sodio. El sodio es el principal catión extracelular del cuerpo humano y se excreta sobre todo por los riñones. El equilibrio de sodio en el cuerpo sólo se controla a través de la excreción. El sistema hormonal *renina-angiotensina-aldosterona* es el principal mecanismo para controlar el equilibrio de sodio.

Potasio. El potasio es el principal catión intracelular del cuerpo. La regulación precisa de su concentración es de

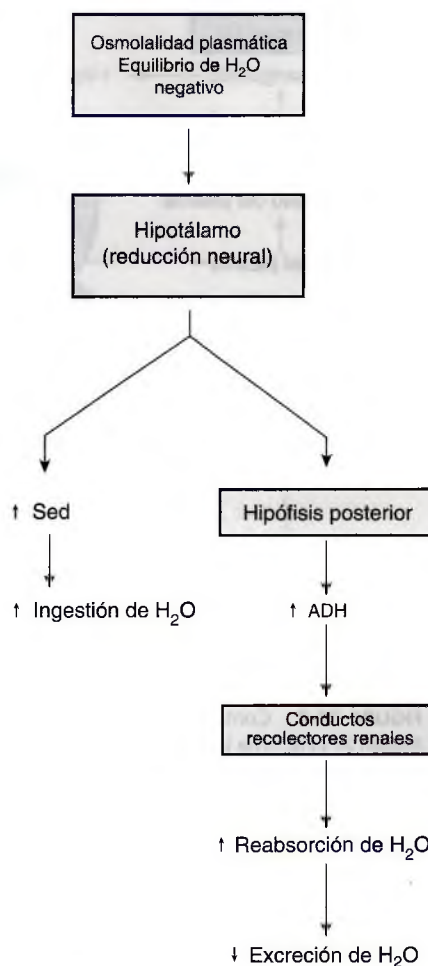


FIGURA 24-5. Control de ADH del mecanismo de la sed.

extrema importancia para el metabolismo celular, y se controla sobre todo por medios renales. Al igual que el sodio, se filtra en forma libre por los glomérulos y luego se reabsorbe de manera activa a lo largo de toda la nefrona (excepto en la extremidad descendente del asa de Henle). Tanto el túbulo contorneado distal como los conductos recolectores reabsorben y excretan potasio, que es una excreción controlada por la aldosterona. Los iones de potasio llegan a competir con los iones de hidrógeno en su intercambio con el sodio (en el túbulo contorneado proximal). Este proceso se utiliza por el cuerpo para conservar los iones de hidrógeno y, de este modo, se compensa en estados de alcalosis metabólica.

Cloruro. El cloruro es el principal anión extracelular y participa en el mantenimiento del equilibrio de líquido extracelular. Se filtra con facilidad por los glomérulos y se reabsorbe de manera pasiva como un ion de respuesta cuando el sodio se reabsorbe en el túbulo contorneado proximal. En la extremidad ascendente del asa de Henle, el potasio se reabsorbe de manera activa por un "bombeo" de cloruro distinto, que también reabsorbe sodio. Es posible que este bombeo se inhiba por diuréticos del asa, como la furosemida. Como se espera, la regulación del cloruro es controlada por las mismas fuerzas que regulan el sodio.^{7,10}

Fosfato, calcio y magnesio. El ion fosfato se encuentra en concentraciones más elevadas en entornos de líquido intracelular que en los de líquido extracelular. Existe tanto en su forma unida con proteínas como en la no unida. El equilibrio homeostático se determina de manera primordial por la reabsorción tubular proximal bajo el control de la hormona paratiroides (PTH). El calcio, el segundo catión intracelular más predominante, es el mensajero inorgánico más importante en la célula. Existe, también, en estados de unión con proteínas y no unido con proteínas. El calcio en la forma no unida con proteínas está ionizado y tiene actividad fisiológica o no ionizado, y forma complejo con iones difundibles pequeños, como fosfato y carbonato. La forma ionizada se filtra de manera libre por los glomérulos y se reabsorbe en los túbulos bajo control de la PTH. Sin embargo, el control renal de las concentraciones de calcio no representa el principal medio de regulación. La regulación controlada por la PTH y la calcitonina de la absorción de calcio a partir del intestino y de las reservas óseas es más importante que la secreción o reabsorción renal. El magnesio, un catión intracelular principal, es importante como cofactor enzimático. Al igual que el fosfato y el calcio, existe en estados de unión con proteínas y también ionizado. La fracción ionizada se filtra con facilidad por los glomérulos y se reabsorbe en los túbulos bajo la influencia de la PTH. Véase el capítulo 21, *Función paratiroidea y control de la homeostasis del calcio*, para conocer información más detallada.

Equilibrio acidobásico

Muchos productos de desecho acidificados no volátiles se forman cada día por el metabolismo corporal normal. El ácido carbónico, el ácido láctico, los cetoácidos y otros deben transportarse de manera continua en el plasma y excretarse del cuerpo, lo que produce sólo alteraciones menores a un pH fisiológico. El sistema renal constituye uno de los tres medios por los que se logra el control constante del pH corporal global. Las otras dos estrategias implicadas en esta regulación son el sistema respiratorio y el sistema amortiguador acidobásico.¹¹

Los riñones llevan a cabo su parte de responsabilidad en el control del pH corporal por medios duales: al conservar los iones de bicarbonato y eliminar los ácidos metabólicos. Para conocer un estudio más a fondo de estos procesos, consúltese el capítulo 14, *Gases en la sangre, pH y sistemas amortiguadores*.

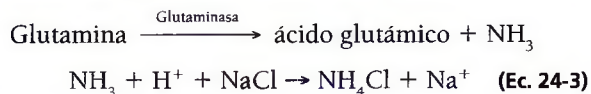
Regeneración de los iones de bicarbonato. En un proceso complicado, los iones de bicarbonato son los primeros que se filtran fuera del plasma por los glomérulos. En el lumen de los túbulos renales, este bicarbonato se combina con iones de hidrógeno para formar ácido carbónico, que luego se degrada a dióxido de carbono (CO_2) y agua. Posteriormente este CO_2 se difunde en el borde escobillado de las células tubulares proximales, donde se reconvierte por la anhidrasa carbónica a ácido carbónico y luego se vuelve a degradar a iones de hidrógeno y iones de bicarbonato regenerados. Esta reacción se detalla a continuación:



Este bicarbonato regenerado se transporta en la sangre para reemplazar lo que se elimina por el metabolismo. Los iones de hidrógeno acompañantes se secretan una vez más en el lumen tubular y de allí entran en la orina. El bicarbonato filtrado es “reabsorbido” en la circulación, lo que ayuda a regresar el pH sanguíneo a su concentración óptima y funciona de manera efectiva como otro sistema amortiguador.

Excreción de los ácidos metabolizados. Los iones hidrógeno son producidos en los túbulos renales como parte del mecanismo de regeneración del bicarbonato. Estos iones de hidrógeno, así como otros que se disocian de ácidos orgánicos no volátiles, se eliminan a través de varias reacciones diferentes con bases amortiguadoras.

Reacción con amoníaco (NH_3). Los glomérulos no filtran el NH_3 . Sin embargo, esta sustancia se forma en los túbulos renales cuando el aminoácido glutamina se desamina por la glutaminasa. Luego este NH_3 reacciona con iones de hidrógeno secretados para formar iones de amonio (NH_4^+), que no se difunden con facilidad fuera del lumen tubular y, por tanto, se excretan por la orina.



Este modo de excreción ácida constituye el principal medio por el que los riñones compensan los estados de acidosis metabólica.

Reacción con fosfato de monohidrógeno (HPO_4^{2-}). Los iones de fosfato filtrados por los glomérulos llegan a presentarse en el líquido tubular como fosfato de hidrógeno de sodio (Na_2HPO_4) (dibásico). Es posible que este compuesto reaccione con iones de hidrógeno para producir fosfato de dihidrógeno (monobásico), que luego se excreta. Más adelante, el sodio liberado se combina con bicarbonato para producir bicarbonato de sodio y ser reabsorbido.



Estos mecanismos llegan a excretar cantidades crecientes de ácido metabólico hasta que se alcanza un pH urinario máximo de alrededor de 4.4. Después de esto, la compensación renal es incapaz de ajustarse a cualquier disminución adicional en el pH sanguíneo y surge la acidosis metabólica. Pocos iones de hidrógeno libres se excretan directo por la orina.

Función endocrina

Además de las numerosas funciones excretoras y reguladoras, el riñón también posee funciones endocrinas. Representa un sitio endocrino primario, como productor de sus propias hormonas, y un sitio secundario, como lugar designado para las hormonas producidas por otros órganos endocrinos. Los riñones sintetizan renina, eritropoyetina, 1,25-dihidroxivitamina D_3 y prostaglandinas.

Renina. La renina es el componente inicial del sistema renina-angiotensina-aldosterona. La renina se produce por las células yuxtaglomerulares de la médula renal cuando disminuye el volumen de líquido extracelular o la presión

sanguínea. Cataliza la síntesis de la angiotensina por desdoblamiento del angiotensinógeno precursor plasmático circulante. La angiotensina se convierte a angiotensina II por la enzima convertidora de angiotensina (ACE). La angiotensina II es un potente vasoconstrictor que aumenta la presión sanguínea y estimula la liberación de aldosterona a partir de la corteza suprarrenal. La aldosterona, a su vez, promueve la reabsorción de sodio y la conservación de agua.^{8,10} Para conocer un panorama más detallado de las complejidades de este circuito de retroalimentación, consúltese el capítulo 18, *Función suprarrenal*.

Eritropoyetina. La *eritropoyetina* es un polipéptido de cadena simple producido por células cercanas a los túbulos proximales. Su producción está regulada por los valores de oxígeno sanguíneo. La hipoxia produce aumento de las concentraciones séricas a las dos horas. La eritropoyetina actúa sobre las células progenitoras eritroides en la médula ósea, lo que incrementa la cantidad de glóbulos rojos. En la insuficiencia renal crónica, la producción de eritropoyetina se reduce en gran medida. En fecha reciente, se desarrolló la eritropoyetina humana recombinante y en la actualidad es de uso rutinario en pacientes con insuficiencia renal. Antes de esta terapia, la anemia era una realidad clínica en estos pacientes.^{5,8} Es posible medir las concentraciones de eritropoyetina en la sangre a través de inmunoensayos.

1,25-Dihidroxivitamina D₃

Los riñones son los sitios de formación de la forma activa de la *vitamina D*; 1,25(OH)₂vitamina D₃.^{3,5} Esta forma de vitamina D es una de las tres principales hormonas que determinan el equilibrio de fosfato y calcio y la calcificación ósea en el cuerpo humano. Por tanto, a menudo la insuficiencia renal crónica está relacionada con *osteomalacia* (calcificación ósea inadecuada, la forma de raquitismo en adultos), debido a la distorsión continua del metabolismo normal de la vitamina D.

Prostaglandinas. Las *prostaglandinas* conforman un grupo de ácidos grasos cíclicos potentes constituidos a partir de ácidos grasos esenciales (dietéticos), sobre todo ácido araquidónico. Se forman en casi todos los tejidos, y sus acciones son diversas. Las prostaglandinas producidas por los riñones aumentan el flujo sanguíneo renal, la excreción de sodio y agua, y la liberación de renina. Actúan en oposición a la vasoconstricción debida a la angiotensina y la noradrenalina.

PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS

Existen varias pruebas disponibles para evaluar varios aspectos de la función de la nefrona, incluyendo filtración glomerular, y secreción y reabsorción de los túbulos proximales y distales.

Mediciones de eliminación

Todos los métodos de laboratorio empleados para la valoración de la función renal dependen de la medición de los productos de desecho en la sangre, por lo general urea y creatinina, que aumentan cuando los riñones comienzan a fallar. Es necesario anticipar la insuficiencia renal, con sólo alrededor de 20 a 30% de las nefronas aún en funcionamien-

to, antes de que la concentración de cualquier sustancia comience a aumentar en la sangre. A la tasa en que la creatinina y la urea se eliminan o depuran de la sangre en la orina se le denomina *eliminación*. Ésta se define como el volumen de plasma a partir del cual una cantidad medida de sustancia debe eliminarse por completo en la orina por unidad de tiempo expresada en ml/min.⁵ La medición de la eliminación se usa para calcular el índice de filtración glomerular.

Creatinina

La creatinina es una sustancia casi ideal para las mediciones de eliminación. Se trata de un producto metabólico endógeno sintetizado a una tasa constante para un individuo dado y, en esencia, sólo se elimina por filtración glomerular (no se reabsorbe y sólo se secreta ligeramente por el túbulo proximal). El análisis de la creatinina es sencillo y económico a través de análisis colorimétricos.

Eliminación de la creatinina e índice de filtración glomerular

El cálculo de la *eliminación de la creatinina* se ha vuelto el método estándar de laboratorio para determinar el *índice de filtración glomerular* (IFG). Este valor se deriva por la relación matemática de la concentración de creatinina sérica con la concentración de creatinina urinaria excretada durante un período, por lo general de 24 h. Por tanto, la recolección de la muestra debe incluir una muestra de orina en 24 h y un valor de creatinina sérica, en condiciones ideales obtenido a la mitad de la recolección de orina de 24 h. Se debe mantener refrigerado el recipiente de la orina (limpio, seco y libre de contaminantes o conservadores) a lo largo del procedimiento de recolección y del subsiguiente período de almacenaje hasta que se realice el análisis de laboratorio. La concentración de creatinina en suero y orina se mide por los métodos aplicables que se analizan en el capítulo 9, *Compuestos de nitrógeno no proteínico*. El volumen total de orina se mide de manera cuidadosa, y la *eliminación de creatinina* se calcula a través de la siguiente fórmula:

$$C_{Cr}(\text{ml/min}) = \frac{U_{Cr}(\text{mg/dl}) \times V_{Ur}(\text{ml/24 h})}{P_{Cr}(\text{mg/dl}) \times 1440 \text{ min/24 h}} \times \frac{1.73}{A} \quad (\text{Ec. 24-5})$$

donde

C_{Cr} = eliminación de creatinina

U_{Cr} = concentración de creatinina urinaria

V_{Ur} = volumen de orina excretada en 24 h

P_{Cr} = concentración de creatinina sérica

$1.73/A$ = factor de normalización para el área superficial corporal

1.73 es el promedio aceptado en forma general de superficie corporal en metros cuadrados.

A es el área de superficie corporal real del individuo determinada por la altura y el peso.

Si el área de superficie corporal del paciente varía en gran medida del promedio (p. ej., pacientes obesos o pediátricos), esta corrección de la masa corporal debe incluirse

en la fórmula. En el apéndice G, *Nomograma para la determinación del área de la superficie corporal*, se muestran nomogramas para la determinación más precisa del área de superficie corporal a partir de los valores de peso y altura.

Los rangos de referencia para la eliminación de creatinina son:

- Hombres: 97 ml/min por 1.73 m² a 137 ml/min por 1.73 m².
- Mujeres: 88 ml/min por 1.73 m² a 128 ml/min por 1.73 m².
- En condiciones normales, la eliminación de la creatinina disminuye con la edad, con una disminución de alrededor de 6.5 ml/min por 1.73 m² por cada década de vida.

Índice de filtración glomerular estimado

La *National Kidney Foundation* recomienda que se calcule el índice de filtración glomerular estimado (IFGE) cada vez que se informe una creatinina sérica. (Hay información adicional disponible en el sitio Web de la *National Kidney Foundation*). La ecuación se usa para predecir el IFG y se basa en la creatinina sérica, la edad, el tamaño corporal, el género y la raza, sin necesidad de una creatinina en la orina. Puesto que el cálculo no requiere la recolección de orina programada, se utilizará más a menudo que la eliminación de creatinina tradicional y dará como resultado la detección más temprana de la enfermedad renal crónica. Consulté la sección *Enfermedad renal crónica* que aparece más adelante para conocer la interpretación del IFG (por lo general, por el IFGE).¹²

$$\text{IFG (ml/min)} = \frac{(140 - \text{Edad}) \times \text{Peso (kg)}}{72 \times S_{\text{Cr}} \text{ (mg/dl)}} \times (0.85 \text{ si es mujer})^*$$

(Ec. 24-6)

Urea

La eliminación de la urea fue una de las primeras pruebas de eliminación realizadas. La urea se filtra de manera libre en los glomérulos, y alrededor de 40% se reabsorbe por los túbulos. Por esta razón, no proporciona una valoración completa de la eliminación, y ya no se utiliza en forma amplia.

En las pruebas antiguas de eliminación se utilizaba inulina, yotalamato de sodio [¹²⁵I] o *p*-aminohipurato para evaluar la filtración glomerular o la secreción tubular. Estas pruebas son tardadas, costosas y difíciles de administrar, por lo que en su mayor parte están descontinuadas.

Electroforesis de la orina

Debido a la eficacia de la filtración glomerular y la reabsorción tubular renales, la excreción de proteína urinaria normal es de sólo 50 a 150 mg/24 h. Es posible que se desarrolle proteinuria cuando hay defectos en la reabsorción renal o en la permeabilidad capilar glomerular, o cuando hay un aumento importante en las inmunoglobulinas séricas. Como resultado, la electroforesis de la orina se utiliza sobre todo para distinguir entre neuropatía glomerular agu-

da y proteinuria tubular; también, para valorar globulinas monoclonales o policlonales anormales. Se realizará identificación positiva y determinación del subtipo de las para-proteínas urinarias por electroforesis de inmunofijación.

β₂-Microglobulina

La β₂-microglobulina (β₂-M) es un pequeño polipéptido no glucosilado (peso molecular de 11 800 daltons) que se encuentra en la superficie de la mayor parte de las células nucleadas. La membrana plasmática pierde β₂-M como una molécula relativamente intacta en el líquido extracelular circundante. Debido a que este proceso es bastante constante en adultos, las concentraciones de β₂-M permanecen estables en pacientes normales. Los valores elevados en suero indican incremento en la renovación celular, como se observa en trastornos mieloproliferativos y linfoproliferativos, inflamación e insuficiencia renal. Como péptido pequeño endógeno, la β₂-M se filtra con facilidad por los glomérulos. Luego se reabsorbe alrededor de 99.9% por los túbulos proximales y se cataboliza. La medición de la β₂-M sérica se utiliza en clínica para evaluar la función tubular renal en pacientes con trasplante renal, con valores elevados que indican rechazo al órgano. En algunos estudios se ha encontrado que la β₂-M es un marcador más eficiente del rechazo del trasplante renal que los valores de creatinina sérica porque no depende de la masa muscular magra ni de la variación diaria en la excreción.^{13,14}

Mioglobina

La mioglobina es una proteína de bajo peso molecular (16 900 daltons) relacionada con lesiones esquelética y muscular cardíaca agudas. La función de la mioglobina es enlazar y transportar oxígeno de la membrana plasmática a la mitocondria en células musculares. En la *rabdomiólisis*, la mioglobina que se libera del músculo esquelético es suficiente para sobrecargar los túbulos proximales y causar insuficiencia renal aguda. El diagnóstico temprano y tratamiento agresivo de la elevación de la mioglobina llega a prevenir o disminuir la gravedad de la insuficiencia renal. En fecha reciente, se propuso la eliminación de la mioglobina como indicador temprano efectivo de insuficiencia renal aguda inducida por mioglobina. Una eliminación elevada o una eliminación y concentración sérica bajas indican riesgo bajo, y una eliminación baja y concentración sérica elevada indican riesgo elevado.¹⁵ La mioglobina sérica y urinaria se mide con facilidad y rapidez a través de inmunoanálisis. La mioglobina urinaria se mide, también, mediante métodos de tira sumergible después de eliminar la hemoglobina, pero este método no tiene sensibilidad ni especificidad.

Microalbúmina

El término *microalbuminuria* describe cantidades pequeñas de albúmina en orina. La medición de la *microalbúmina* urinaria es importante en el cuidado de los pacientes con diabetes mellitus, que se encuentran en riesgo importante de desarrollar nefropatía a lo largo de su vida. El tipo 1 tiene un riesgo de 30 a 45%, en tanto que el tipo 2 tiene

* De Cockcroft-Gault (Nephron 1976;16:31)

un riesgo de 30%. En las primeras fases de nefropatía, hay hipertrofia renal, hiperfunción y aumento del grosor de las membranas glomerular y basal tubular. En esta fase temprana, no hay señales evidentes de disfunción renal. En los siguientes 7 a 10 años, existe progresión hacia glomerulosclerosis, con incremento en la permeabilidad capilar glomerular. Esta permeabilidad permite que cantidades pequeñas (microscópicas) de albúmina pasen a la orina. Si se detecta en esta fase temprana, es posible establecer control rígido de la glucosa, junto con tratamiento para prevenir hipertensión, para impedir la progresión hacia la enfermedad renal de estado terminal (ERET).¹⁶ En los criterios de la *American Diabetes Association* para la frecuencia de pruebas de albúmina urinaria en todas las personas con diabetes, se recomienda una comprobación en la evaluación inicial del paciente, y cada año en lo sucesivo para todos los pacientes pospúberes que han tenido diabetes durante cuando menos cinco años.¹⁷

Se utilizan de manera extensa inmunoanálisis cuantitativos específicos para albúmina, por lo general con nefelometría o inmunoturbidimetría. Las concentraciones de albúmina urinaria de 50 a 200 mg/24 h predicen nefropatía diabética.¹⁸ Se prefiere una recolección de orina de 24 h, pero también es posible utilizar una muestra aleatoria de orina en la que se utilice una proporción entre albúmina y creatinina. Una proporción de albúmina/creatinina de 20 a 30 mg/g indica microalbuminuria.¹⁹ Aunque muchos métodos de tira reactiva de orina no son lo bastante sensibles para detectar estas concentraciones bajas de albúmina, ahora están disponibles métodos de tira reactiva más recientes para la detección específica de albúmina y la proporción de albúmina/creatinina.

Cistatina C

La cistatina C es una proteína de bajo peso molecular producida por células nucleadas. Se filtra de manera libre por los glomérulos, y se reabsorbe y cataboliza por el túbulo proximal. Se produce a una tasa constante, por lo que los valores permanecen estables si la función del riñón es normal. En estudios recientes se demostró que las mediciones de cistatina C son cuando menos tan útiles como la creatinina sérica y la eliminación de creatinina en la detección de cambios tempranos en la función renal. La cistatina C se mide a través de métodos de inmunoanálisis.²⁰

Urianálisis

El *urianálisis* (UA) permite una valoración detallada a fondo del estado renal con una muestra obtenida con facilidad. El UA sirve, también, como indicador rápido del estado de glucosa y de la función hepática biliar de un individuo. El UA rutinario incluye la evaluación de las características físicas, análisis químicos y un examen microscópico del sedimento de una muestra de orina (aleatoria).

Características físicas

Recolección de la muestra. Es necesario enfatizar en la importancia de una muestra recolectada y almacenada de manera apropiada para el UA. Se prefieren las muestras al inicio de la mañana porque están más concentradas por

la retención de toda la noche en la vejiga. La muestra se obtiene mediante captura o cateterización media limpia. La orina se recolecta en un recipiente limpio y seco con una tapa bien cerrada. Se analiza en la primera hora de la recolección si se mantuvo a temperatura ambiente, o refrigerada a 2 a 8°C durante no más de ocho horas antes del análisis. De no examinarse en estos límites de tiempo, ocurren varios cambios. La multiplicación de bacterias produce pruebas de nitritos falso positivas, en tanto los microorganismos productores de ureasa degradan la urea a amoníaco y alcalinizan el pH. La pérdida de CO₂ por difusión en el aire contribuye a esta elevación del pH, que, a su vez, causa degeneración de matiz y lisis de células rojas.

Se requiere que el contenedor de la orina sea estéril si la orina será cultivada. Por lo general, las muestras para el UA rutinario son recolecciones aleatorias o al azar.

Apariencia visual. La intensidad del color de la orina se relaciona con la concentración: cuanto más oscura, más concentrada es la muestra. Los diversos colores observados en la orina se deben a los distintos pigmentos excretados. El amarillo y el ámbar suelen originarse por los urocromos (derivados de la urobilina, el producto final de la degradación de la bilirrubina), mientras que un color castaño amarillento o verde es resultado de la oxidación del pigmento biliar. El rojo y café después de una exposición se deben a las porfirinas, en tanto el castaño rojizo en muestras recientes proviene de la hemoglobina o las células rojas. El negro castaño después de la exposición se observa en presencia de *alcaptonuria* (como resultado del ácido homogentísico excretado) y melanoma maligno (en el que el melanógeno precursor se oxida en el aire a melanina). Los fármacos y algunos alimentos, como las remolachas, también llegan a alterar el color de la orina.

Olor. Por lo general, el olor tiene poca importancia en el diagnóstico. El característico olor agrio de la orina reciente se debe a ácidos aromáticos volátiles, en contraste con el olor típico a amoníaco de la orina que permanece expuesta. Las infecciones del tracto urinario confieren un olor nocivo fecal a la orina; mientras tanto, la orina de diabéticos a menudo huele a afrutado debido a las cetonas.

Turbidez. La turbidez de una muestra de orina depende del pH y de la composición de los sólidos disueltos. La turbidez a menudo se debe a bacteriuria evidente, en tanto que un aspecto ahumado se observa en la hematuria. Se detecta turbidez con aspecto de hilo cuando la muestra está llena de moco. En la orina alcalina, los precipitados suspendidos de fosfatos y carbonatos amorfs tal vez sean responsables de la turbidez; en la orina ácida, los uratos amorfs constituyen la posible causa.¹³

Volumen. El volumen de la orina excretada indica el equilibrio entre la ingestión de líquidos y la pérdida de agua a partir de los pulmones, el sudor y el intestino. La mayoría de los adultos produce de 750 a 2 000 ml/24 h, con un promedio de alrededor de 1.5 por persona. (Para un UA rutinario, una alícuota de 10 a 12 ml tomada de una muestra bien mezclada es óptima para el análisis preciso de los constituyentes sedimentarios.) La poliuria se observa en la diabetes mellitus e insípida (en ésta, como resultado de la falta de ADH), así como en enfermedad renal crónica, *acromegalia* (sobreproducción de la soma-

tostatina de la hormona del crecimiento) y *mixedema* (edema hipotiroideo). Se encuentra anuria u oliguria (<200 ml/día) en presencia de nefritis, ERET, obstrucción del tracto urinario e insuficiencia renal aguda.

Gravedad específica. La gravedad específica (GE) de la orina es el peso de 1 ml de orina en gramos dividido entre el peso de 1 ml de agua. La GE indica la densidad de un líquido que depende de la concentración de los sólidos totales disueltos. La GE varía con la carga de soluto que debe excretarse (consiste sobre todo en NaCl y urea), así como con el volumen de orina. Se usa para evaluar el estado de hidratación/deshidratación de un individuo o como indicador de la capacidad de concentración de los riñones.

Métodos de laboratorio. El método analítico encontrado más a menudo consta de un refractómetro, o medidor de sólidos totales. Éste opera con base en el principio de que el índice de refracción de una muestra de orina variará de manera directa con la cantidad total de sólidos disueltos en la muestra. Este instrumento mide el índice de refracción de la orina en comparación con el agua en una escala que se calibra directamente en el ocular y se observa a contraluz. La calibración correcta es vital para la precisión. En fecha más reciente, se agregó un método indirecto de tira con reactivo colorimétrico para analizar la GE a la mayor parte de las valoraciones con tiras reactivas. A diferencia del refractómetro, las tiras reactivas miden sólo solutos iónicos y no toman en cuenta la glucosa ni la proteína.

Correlación con enfermedad. El rango normal para la GE urinaria es de 1.005 a 1.030. Las muestras diluidas se clasifican en el rango de 1.000 a 1.010, en tanto las muestras concentradas caen entre 1.025 y 1.030. La GE llega a variar en estados patológicos. Se observa GE baja en presencia de diabetes insípida, en la que tal vez nunca sobrepase el rango de 1.001 a 1.003, y en pielonefritis y glomerulonefritis, en las que la capacidad de concentración renal se vuelve disfuncional. En ocasiones se observa GE elevada en diabetes mellitus, insuficiencia cardíaca congestiva, deshidratación, insuficiencia suprarrenal, enfermedad hepática y nefrosis. La GE aumentará alrededor de 0.004 unidades por cada cambio de 1% en la concentración de glucosa, y alrededor de 0.003 unidades por cada cambio de 1% en proteínas. En daño renal grave, en el que los riñones excretan orina que es isoosmótica con el plasma, se observa una GE fija (*isostenuria*) de casi 1.010. Por lo general, esto ocurre después de un período inicial de anuria debido a que los túbulos dañados son incapaces de concentrar o diluir el filtrado glomerular.^{9,13}

pH. Las determinaciones del pH urinario *deben* realizarse con muestras recientes debido a la importante tendencia de la orina a la alcalinización ante la exposición. El pH urinario normal cae en el rango de 4.5 a 8.0. La acidez de la orina (pH, <7.0) se origina sobre todo por fosfatos, que se excretan como sales conjugadas de Na⁺, K⁺, Ca²⁺ y NH₄⁺. Además, la acidez refleja la excreción de los ácidos metabólicos no volátiles piruvato, lactato y citrato. Debido al mecanismo de bombeo de intercambio del Na⁺/H⁺ de los túbulos renales, el pH (concentración del ion de H⁺) aumenta a medida que se retiene sodio. Los estados patológicos, en los que se observa aumento de la acidez, incluyen acidosis sistémica, como se observa en la

diabetes mellitus, y acidosis tubular. En la acidosis tubular renal, los túbulos son incapaces de excretar exceso de H⁺, aunque el cuerpo se encuentre en estado de acidosis metabólica, y el pH urinario permanezca en alrededor de 6.

Se detecta orina alcalina (pH, >7.0) posprandial como una reacción normal a la acidez del HCl gástrico bombeado en el duodeno y luego en la circulación. Además, las infecciones del tracto urinario y la contaminación bactericida alcalinizan el pH. Medicamentos como el citrato de potasio y el bicarbonato de sodio reducen el pH urinario. También se observa orina alcalina en presencia de *síndrome de Fanconi*, una aminoaciduria congénita generalizada que se origina por un defecto en la función tubular proximal.

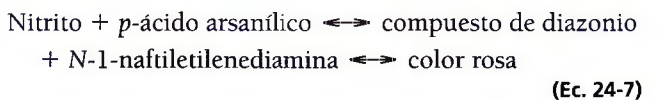
Análisis químicos

El análisis químico rutinario de orina es rápido y fácil de realizar con las tiras reactivas o sumergibles disponibles en el mercado. Estas tiras están cubiertas de plástico y cuentan con diferentes bandas de reactivo dirigidas hacia varios analitos. Cuando se sumergen en la orina, un cambio de color señala una desviación de la normalidad. Los colores de las bandas de las tiras reactivas se comparan con un cuadro de colores proporcionado con los reactivos. Los instrumentos automatizados y semiautomatizados que se detectan por fotometría de reflectancia proporcionan una alternativa al cuadro de colores, y ofrecen mayor precisión y estandarización. La obtención de resultados anormales debe seguirse por análisis de orina cuantitativos o confirmatorios. Los analitos examinados de manera rutinaria son glucosa, proteína, cetonas, nitrito, leucocito esterasa, bilirrubina/urobilinógeno y hemoglobina/sangre.

Glucosa y cetonas. En condiciones normales, estos componentes están ausentes en la orina. En el capítulo 11, *Carbohidratos*, se analiza la importancia clínica de estos analitos y sus métodos de prueba.

Proteína. Las tiras de reactivo para el UA se utilizan como valoración cualitativa general para la proteinuria. Son específicas sobre todo para albúmina, pero tal vez produzcan resultados falso-positivos en muestras que son alcalinas y muy amortiguadas. Los resultados positivos de las tiras sumergibles deben confirmarse por análisis químicos más específicos, como se describió en el capítulo 8, *Aminoácidos y proteínas*, o más a menudo por evaluación microscópica para detectar matices.

Nitrito. Este análisis semicuantifica la cantidad de reducción urinaria de nitrato (en la almohadilla de la tira del reactivo) a nitrito por las enzimas de las bacterias gramnegativas. Este esquema se muestra en la siguiente reacción.



Un resultado negativo no significa que la bacteriuria no esté presente. Un patógeno grampositivo, como estafiloco, enterococo o estreptococo, tal vez no produzca enzimas reductoras del nitrato; como alternativa, una muestra de orina al azar quizá no se haya retenido el tiempo necesario en la vejiga para recolectar una cantidad suficiente de microorganismos que se registren en la tira del reactivo.¹³

Leucocito esterasa. Los glóbulos blancos, en especial los fagocitos, contienen esterasas. Una tira sumergible positiva para esterasas indica posibles células blancas en la orina.

Bilirrubina/urobilinógeno. El resultado final de la degradación de la hemoglobina es la formación de bilirrubina, un producto de desecho, que luego se convierte en urobilinógeno en el intestino a través de la acción bacteriana. Aunque la mayor parte de este urobilinógeno se excreta como urobilina por las heces, una parte lo hace por la orina como producto de desecho incoloro. En condiciones normales, esta cantidad es demasiado pequeña para detectarla como una reacción positiva en la tira sumergible. Sin embargo, en problemas de ictericia prehepática, hepática y poshepática, las pruebas con tiras sumergibles en orina para urobilinógeno y bilirrubina son positivas o negativas, lo que depende de la naturaleza de la ictericia del paciente. En el capítulo 22, *Función hepática*, se proporciona un panorama más detallado del metabolismo de la bilirrubina y los métodos de análisis. Las pruebas con tira de reactivo para bilirrubina implican la diazotización y formación de un cambio de color. Los métodos de tira sumergible para urobilinógeno son diferentes, pero la mayor parte cuenta con una modificación de la reacción de Ehrlich con *p*-dimetilaminobenzaldehído.¹³

Hemoglobina/sangre. Los glóbulos rojos intactos o lisados producen un resultado positivo en la tira sumergible. Ésta será positiva en casos de traumatismo/lesión renal, infección u obstrucción que causa cálculos o neoplasmas.

Examen de sedimento

Una alícuota de orina decantada y centrifugada deja un sedimento de elementos formados que se utiliza para el examen microscópico.

Células. En el caso de los elementos celulares, la evaluación se logra de mejor manera por conteo y después se obtiene el promedio de cuando menos 10 campos microscópicos.

Glóbulos rojos. A los eritrocitos mayores de 0-2/campo de alta potencia (cap) se les considera anormales. Es posible que esta hematuria tan sólo se deba a ejercicio excesivo o contaminación sanguínea menstrual. Sin embargo, también llega a indicar traumatismo, en particular lesión vascular, obstrucción de cálculos renales/urinarios, pielonefritis o cistitis. La hematuria junto con leucocitos es diagnóstica de infección.

Glóbulos blancos. A los leucocitos mayores de 0-2/cap se les considera anormales. Por lo general, estas células son fagocitos polimorfonucleares, a menudo conocidos como *neutrófilos segmentados*. Se observan cuando existe glomerulonefritis aguda, infección del tracto urinario o inflamación de cualquier tipo. En la orina hipotónica (concentración osmótica baja), los glóbulos blancos aumentan de tamaño, en tanto muestran un efecto brillante en sus gránulos citoplásmicos. Estas células poseen movimiento de Brown notable y se les conoce como *células brillantes*, aunque carecen de importancia desde el punto de vista patológico.

Células epiteliales. A menudo se encuentran varios tipos de células epiteliales en la orina normal porque se desprenden con frecuencia de la cubierta de las nefronas y del tracto urinario. Por lo general, se observan epitelios

vaginales escamosos, grandes y aplanados en muestras de orina de pacientes femeninos. Además, tal vez se observen aglomerados o láminas de estas células en muestras muy contaminadas con flujo vaginal. Las células epiteliales renales son células redondas sin núcleo; cuando se presentan en una cantidad mayor de 2/cap, indican lesión o degeneración tubular activa de importancia clínica. Las células epiteliales transicionales de la vejiga (células uroteliales), que también llegan a observarse en la orina, son planas, cuboidales o columnares. Se detectarán cantidades grandes de estas células sólo en caso de cauterización, inflamación de la vejiga o neoplasma.

Elementos diversos. A menudo se encuentran espermatozoos en la orina tanto de mujeres como de hombres. Por lo general, no se informa porque no tienen importancia patológica. Sin embargo, en hombres, es posible que su presencia indique anormalidades de la próstata. En las muestras de orina se observan con frecuencia, también, células de levadura. Debido a que son en extremo refráctiles y de tamaño similar a los glóbulos rojos, se confunden con facilidad bajo una amplificación baja. El análisis a una mayor potencia para formas botionales o miceliales diferencia estos elementos fúngicos de los eritrocitos. Los parásitos encontrados en la orina suelen ser contaminantes de material fecal o vaginal. En la categoría de contaminantes fecales, el microorganismo encontrado más a menudo es la infestación con *Enterobius vermicularis* (parásito de alfiler) en niños. En la categoría de contaminación vaginal, el más habitual es el flagelo de intensa movilidad *Trichomonas vaginalis*. Un parásito urinario verdadero, algunas veces visto en pacientes de áreas endémicas del mundo, es el óvulo del trematodo *Schistosoma haematobium*. Por lo general, esta afección ocurrirá junto con hematuria importante.¹³

Bacterias. La orina normal es estéril y no contiene bacterias. Las cantidades pequeñas de microorganismos observadas en una muestra de orina reciente suelen representar contaminación de la piel o aérea. Sin embargo, en muestras recientes, cantidades grandes de microorganismos o volúmenes pequeños acompañados por glóbulos blancos y los síntomas de infección del tracto urinario, constituyen un diagnóstico favorable para infección verdadera. Se considera bacteriuria de importancia clínica con más de 20 microorganismos/cap o, como alternativa, 10⁵ o un registro mayor en un recuento microbiológico de colonias. La mayor parte de los patógenos observados en la orina son coliformes gramnegativos ("bastones" microscópicos), como las especies *Escherichia coli* y *Proteus*. La bacteriuria asintomática, en la que hay cantidades importantes de bacterias sin síntomas clínicos apreciables, ocurre un poco más a menudo en mujeres jóvenes, embarazadas y pacientes con diabetes. Se debe tomar en cuenta este trastorno con seriedad, ya que si no se trata tal vez ocasione pielonefritis y, como resultado, daño renal permanente.

Cilindros. Los cilindros son impresiones cilíndricas precipitadas de las nefronas. Comprenden la mucoproteína de Tamm-Horsfall (*uromucoide*) de los epitelios tubulares de la extremidad ascendente del asa de Henle. Los cilindros se forman cada vez que hay estasis renal suficiente, concentraciones elevadas de sal o proteína urinaria

y descenso del pH urinario. En pacientes con enfermedad renal grave, la clasificación precisa real de los cilindros tal vez requiera el uso de centrifugación de “citospina” y la prueba de Papanicolaou para realizar diferenciación adecuada. A diferencia de las células, los cilindros se examinarán bajo potencia baja, y a menudo se localizan en torno a los bordes del cubreobjetos.

Hialinos. La matriz de estos cilindros es clara y gelatinosa, sin materia celular o particulada incrustada. Tal vez sean difíciles de visualizar, a menos que se use una lámpara de alta intensidad. Su presencia indica filtración glomerular de proteína. Esta filtración es temporal (como resultado de fiebre, postura erguida, deshidratación o estrés emocional) o permanente. A su presencia ocasional no se le considera patológica.

Granulares. Estos cilindros se clasifican de manera descriptiva en granulares ásperos o finos. El tipo de materia particulada insertada sólo depende de la cantidad de degeneración que sufren las inclusiones de células epiteliales. Su presencia ocasional no es patológica; sin embargo, tal vez se encuentren cantidades grandes por toxicidad crónica por plomo y pielonefritis.

Celulares. En esta categoría se incluyen diversos tipos de cilindros. A los cilindros de *glóbulos rojos* o *eritrocitos* siempre se les considera patológicos porque son diagnósticos de inflamación glomerular que produce hematuria renal. Se observan en presencia de endocarditis bacteriana subcutánea, infartos del riñón, enfermedades del colágeno y glomerulonefritis aguda. A los cilindros de *glóbulos blancos* o *leucocitos* siempre se les considera, también, patológicos porque son diagnósticos de inflamación de las nefronas. Se observan en pielonefritis, síndrome nefrótico y glomerulonefritis aguda. En pielonefritis asintomática, estos cilindros constituyen el único indicio para la detección. Algunas veces se forman cilindros de células epiteliales por fusión de los epitelios tubulares renales después de descamación; la presencia ocasional es normal. Sin embargo, se observan muchos en procesos descamativos graves y estasis renal, que se presentan por envenenamiento con metales pesados, toxicidad renal, eclampsia, síndrome nefrótico y amiloidosis. Los *cilindros de cera* son uniformemente amarillentos, refráctiles y de aspecto quebradizo, con bordes bien definidos a menudo rotos. Casi siempre son patológicos porque indican inflamación o deterioro tubular. Se forman por estasis renal en los conductos colectores y, por tanto, se les encuentra en enfermedades renales crónicas. Los *cilindros de grasa* son cilindros granulares anormales, ásperos y granulares con inclusiones de lípidos que aparecen como glóbulos refráctiles de tamaños diferentes. Los *cilindros amplios* (*insuficiencia renal*) son entre dos a seis veces más anchos que los cilindros “regulares”, y su composición es celular, de cera o granular. Al igual que los cilindros de cera, se derivan de los conductos recolectores en la estasis renal.

Cristales

Ambiente ácido. Los cristales que se observan en orina con valores de pH menores de 7 incluyen oxalato de calcio, que son octaedros o “moldes” incoloros normales. Tienen un aspecto semejante a una estrella. Además, se han detectado

uratos amorfos, consistentes en masas amarillentas-rojizas normales con aspecto de granos de arena. Los cristales de ácido úrico encontrados en este ambiente son cristales normales amarillentos a rojizos-castaños con formas muy irregulares, como escarpelas, prismas o romboides. Los cristales de colesterol de la orina ácida son láminas rectangulares, claras y planas con esquinas hendidas. A éstos siempre se les considera anormales y se observan en presencia de síndrome nefrótico y en afecciones que producen quiluria. Algunas veces también se observan cristales de cistina en la orina ácida; son bastante patológicos y su aspecto es de hexágonos incoloros, refráctiles y casi planos, con cierta semejanza al ácido úrico. Se les observa en la *cistinuria* (aminoaciduria heredada que produce retraso mental) y *mocistinuria* (raro defecto de la reabsorción de cistina que ocasiona cálculos renales).

Ambiente alcalino. Los cristales detectados en orina con valores de pH mayores de 7 incluyen fosfatos amorfos, que son cristales normales con aspecto de masas finas e incoloras semejantes a la arena. Además, se han encontrado cristales de carbonato de calcio, consistentes en formas normales similares a pesas o esferas pequeñas incoloras. Otros cristales observados en orinas alcalinas son los de fosfato triple, que constan de prismas incoloros de tres a seis lados semejantes a “tapas de ataúd”. Los cristales de biurato de amonio son formas que se encuentran de manera ocasional en este medio, con aspecto de esferas castaño-amarillentas espinosas, o “manzanas con espinas”.

Otros. Los cristales de sulfonamida son precipitados anormales con formas de vainas, racimos o agujas castaño-amarillentas encontrados en pacientes que se someten a terapia antimicrobiana con fármacos sulfa. En la actualidad, rara vez se utilizan estos fármacos. Los cristales de tirosina/leucina son tipos anormales semejantes a racimos de agujas o esferas lisas amarillentas. En ocasiones se observan en pacientes con enfermedad hepática grave.

FISIOPATOLOGÍA

Enfermedades glomerulares

Es posible que, al menos en principio, los trastornos o enfermedades que dañan de forma directa a los glomérulos renales muestren función tubular normal. Sin embargo, con el tiempo, la progresión de la enfermedad también abarca los túbulos renales. Los siguientes síndromes tienen síntomas discretos que son reconocibles por sus patrones de hallazgos en el laboratorio clínico.^{5,8}

Glomerulonefritis aguda

Las lesiones patológicas de la *glomerulonefritis* aguda afectan sobre todo los glomérulos. En el examen histológico se muestran glomérulos grandes e inflamados con disminución del lumen capilar. Por lo general, entre los hallazgos de laboratorio anormales se encuentran inicio rápido de hematuria y proteinuria (a menudo albúmina, <3 g/día). El rápido desarrollo de un descenso en el IFG, anemia, elevación del nitrógeno ureico sanguíneo (NUS) y creatinina sérica, oliguria, retención de sodio y agua (con hipertensión consecuyente y cierto edema localizado) y, algunas

veces, insuficiencia cardíaca congestiva son típicos. En el UA se observan numerosos cilindros hialinos y granulares. A los cilindros de glóbulos rojos reales se les considera bastante sugerentes de este síndrome.

A menudo la glomerulonefritis aguda se relaciona con infección reciente por estreptococos β -hemolíticos del grupo A. Se piensa que la circulación de complejos inmunitarios desencadena una fuerte respuesta inflamatoria en la membrana basal glomerular, lo que produce una lesión directa en el propio glomérulo. Otras causas posibles comprenden exposiciones relacionadas con fármacos, infecciones agudas en el riñón debido a otros agentes bacterianos (y, quizá, virales) y otras enfermedades del complejo inmunitario sistémico, como lupus sistémico eritematoso (LES) y endocarditis bacteriana subaguda (EBS).

Glomerulonefritis crónica

La inflamación glomerular prolongada tal vez conduzca a cicatrización glomerular y pérdida eventual del funcionamiento de las nefronas. Este proceso a menudo permanece sin detectar por períodos prolongados porque al principio sólo ocurren disminuciones menores en la función renal y únicamente aparecen proteinuria y hematuria leves. El desarrollo gradual de uremia (o *azoemia*, exceso de compuestos nitrogenados en la sangre) pudiera ser el primer signo de este proceso.

Síndrome nefrótico

El *síndrome nefrótico* (fig. 24-6) llega a originarse por varias enfermedades diferentes que dan como resultado lesión e incremento en la permeabilidad de la membrana basal glomerular. Este defecto casi siempre produce varios hallazgos anormales, como proteinuria extremadamente masiva (>3.5 g/día) e hipoalbuminemia resultante. La subsiguiente disminución en la presión oncótica del plasma causa un edema generalizado como resultado del movimiento de los líquidos corporales hacia fuera de los espacios vasculares y dentro de los intersticiales. Otras características de este síndrome son la hiperlipidemia y la lipiduria. Esta última

adquiere la forma de cuerpos de grasa ovalados en la orina. Estos cuerpos son células tubulares renales degeneradas que contienen lipoproteínas reabsorbidas. Las causas primarias están relacionadas de forma directa con los estados de enfermedad glomerular.

Enfermedades tubulares

En cierto grado, ocurren defectos tubulares en la progresión de todas las enfermedades renales a medida que desciende el IFG. Sin embargo, en algunos casos, este aspecto de la disfunción global se vuelve predominante. El resultado es descenso en la excreción/reabsorción de ciertas sustancias, o reducción en la capacidad de concentración urinaria. Desde el punto de vista clínico, el defecto más importante es la acidosis tubular renal (ATR), el trastorno tubular primario que afecta el equilibrio acidobásico. Esta enfermedad se clasifica en dos tipos, de acuerdo con la naturaleza del defecto tubular:

- *ATR distal*, en la que los túbulos renales son incapaces de conservar el gradiente del pH vital entre la sangre y el líquido tubular
- *ATR proximal*, en la que hay disminución en la reabsorción del bicarbonato, lo que ocasiona acidosis hiperclorémica. En términos generales, la reducción de la reabsorción en el túbulo proximal se manifiesta por hallazgos de valores séricos anormalmente bajos de fósforo y ácido úrico, y por glucosa y aminoácidos en la orina. Además, tal vez exista cierto grado de proteinuria (por lo general <2 g/día).

También se observa inflamación aguda de los túbulos y el intersticio circundante como resultado del fármaco analgésico o toxicidad de radiación, reacciones de hipersensibilidad a la metilina, rechazo del trasplante renal e infecciones virales-fúngica-bacteriana. En estos casos, los hallazgos clínicos característicos son decrementos en IFG, capacidad de concentración urinaria y excreción del ácido metabólico; cilindros de leucocitos en la orina; y control inapropiado del equilibrio del sodio.^{5,8}

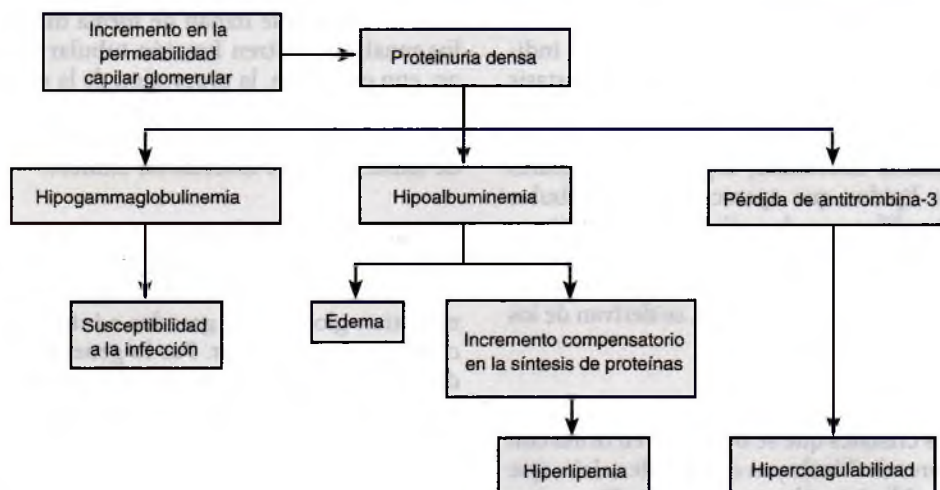


FIGURA 24-6. Fisiopatología del síndrome nefrótico.

Infección/obstrucción del tracto urinario

Infección

El sitio de infección se encuentra en los riñones (*pielonefritis*) o en la vejiga urinaria (*cistitis*). En términos generales, a un recuento de colonias microbiológicas de más de 10^5 colonias/ml se le considera diagnóstico para infección en cualquier sitio. La *bacteriuria* (cuando se evidencia por hallazgos positivos con tiras sumergibles de nitrito para algunos microorganismos), hematuria y *piuria* (leucocitos en la orina, según se demuestra por tiras sumergibles positivas de leucocito esterasa) constituyen resultados de laboratorio anormales encontrados con frecuencia en estos casos. En particular, a los cilindros de glóbulos blancos (leucocitos) en la orina se les considera diagnósticos para *pielonefritis*.^{5,8,13}

Obstrucción

Las obstrucciones renales causan enfermedad de dos maneras. Elevan de manera gradual la presión intratubular hasta que las neuronas sufren necrosis y surge insuficiencia renal, o bien predisponen al tracto urinario a infecciones repetidas.

Las obstrucciones llegan a localizarse en el tracto urinario superior o inferior. Los bloqueos en el tracto superior se caracterizan por lesión de constricción debajo de un conducto recolector dilatado. Las obstrucciones del tracto inferior se evidencian por la orina residual en la vejiga después del cese de la micción. Entre los síntomas se incluyen lentitud en la evacuación, tanto al principio como a lo largo de la micción. Las causas de obstrucción abarcan neoplasmas (como carcinoma de próstata/vejiga o tumores linfáticos nodulares que constriñen los uréteres), enfermedades adquiridas (como estricturas uretrales o cálculos renales); y deformidades congénitas del tracto urinario inferior. Los síntomas clínicos del avance de la enfermedad obstructiva son disminución en la capacidad de concentración urinaria, reducción en la excreción ácida metabólica, descenso del IFG y reducción en el flujo sanguíneo renal. Las pruebas de laboratorio útiles en la determinación de la naturaleza del obstáculo son urianálisis, cultivo de orina, NUS, creatinina sérica y RSC. Por lo general, el diagnóstico final se establece por técnicas de imágenes.^{3,6,10}

Cálculos renales

Los cálculos renales, o piedras del riñón, se forman por la combinación de varias sustancias cristalizadas, mismas que se listan en el cuadro 24-2. De éstas, las piedras de oxalato de calcio son, por mucho, las más frecuentes, en particular en los trópicos y subtrópicos.

En la actualidad, se cree que la recurrencia de cálculos en individuos susceptibles se debe a varias causas, pero sobre todo a reducción en la tasa del flujo sanguíneo (lo que se relaciona con disminución en la ingesta de líquidos) y saturación de la orina con grandes cantidades de sustancias esencialmente insolubles. El análisis químico de los cálculos es importante para determinar la causa del trastorno. Con este propósito, se utilizan de manera extensa la difracción especializada de rayos X y las técnicas de espectroscopia infrarroja. Los síntomas clínicos son,

desde luego, similares a los encontrados en otros procesos obstructivos: hematuria, infecciones del tracto urinario y dolor abdominal característico.^{5,8,13}

Insuficiencia renal

Insuficiencia renal aguda

Consiste en una marcada declinación súbita en la función renal producida por un tóxico agudo o agresión hipóxica a los riñones, definida como reducción del IFG a menos de 10 ml/min. Este síndrome se subdivide en tres tipos, lo que depende de la ubicación del defecto precipitante.

- *Insuficiencia prerrenal*: el defecto permanece en el aporte sanguíneo antes de llegar al riñón. Entre las causas se incluyen insuficiencia del sistema cardiovascular e hipovolemia resultante.
- *Insuficiencia renal primaria*: el defecto implica el riñón. La causa más frecuente es la necrosis tubular aguda; otras causas incluyen obstrucciones/inflamaciones vasculares y glomerulonefritis.
- *Insuficiencia posrenal*: el defecto permanece en el tracto urinario después de salir del riñón. Por lo general, la insuficiencia renal aguda ocurre como consecuencia de la obstrucción del tracto urinario inferior o rotura de la vejiga urinaria.

Entre las agresiones tóxicas al riñón que son lo bastante graves para iniciar insuficiencia renal aguda se incluyen reacciones de transfusión hemolítica, mioglobinuria debida a rhabdomiólisis, envenenamiento con metales pesados/solventes, ingestión de anticongelante y toxicidades analgésicas y aminoglucósidas. Estos trastornos dañan de manera directa los túbulos renales. Las agresiones hipóxicas abarcan problemas que afectan de forma grave el flujo sanguíneo renal, como choque séptico/hemorrágico, quemaduras e insuficiencia cardíaca.

CUADRO 24-2. TIPOS DE CÁLCULOS RENALES

COMPOSICIÓN DE LOS CÁLCULOS	CAUSA DE LA FORMACIÓN DE LOS CÁLCULOS
Oxalato de calcio	Hiperparatiroidismo
	Calcio urinario elevado
	Toxicidad de la vitamina D
	Sarcoidosis
Fosfato de amonio de magnesio	Osteoporosis
	Proceso infeccioso
	Consumo excesivo de álcalis
Fosfato de calcio	Infección con microorganismos productores de ureasa
Ácido úrico	Gota
	Concentraciones elevadas de ácido úrico en sangre y orina
Cistina	Cistinuria heredada

ESTUDIO DE CASO 24-1

Un hombre de 52 años de edad con antecedente de SIDA, hipertensión, diabetes mellitus y abuso de alcohol fue encontrado inconsciente en su casa por su compañero de cuarto. En la sala de urgencias, se encontró hipotenso (103/60), febril (38.3°C) y sin respuesta. En la imagen de TC del abdomen se observaron colecistitis y cálculos biliares. En la parte inferior se muestran los datos de laboratorio. (Caso desarrollado por Cynthia Batangen Santos, médico residente en patología del Departamento de Patología y Medicina de Laboratorio del Hospital Harford, Harford, CT. Modificado e impreso con autorización.)

Al paciente se le diagnosticó insuficiencia renal aguda. Se le administraron líquidos por vía IV; el NUS descendió a 68 mg/dl y la creatinina a 2.2 mg/dl. El informe del cultivo sanguíneo del paciente fue positivo para *E. coli*. Se le trató con tobramicina y cefepima. El deterioro del paciente continuó y murió cinco días des-

pués del ingreso al hospital. La causa de la muerte fue insuficiencia multiorgánica secundaria a SIDA, sepsis y cirrosis alcohólica.

Preguntas

1. ¿Cuál es la importancia de la elevación de la CK del paciente? Explique por qué el médico solicitó una CKMB y medición de la concentración de troponina. ¿Cuál es la conclusión que se obtiene del estado cardíaco del paciente?
2. ¿Cuál es la causa de su insuficiencia renal aguda?
3. ¿Cuál es la importancia de la alta hemoglobina en la orina?
4. ¿Cómo interpretaría estas pruebas de la función hepática del paciente dado su historial clínico?

Abuso de drogas: etanol sérico	Negativo: 84 mg/dl	Urianálisis: Hemoglobina	Alta: 4 cap (0 a 4)
CK	3308 U/L (24 a 204)	WBC	2 cap (0 a 4)
CKMB	15 ng/ml (0 a 7.5)	RBC	
CKMB rel. índice	0.5 (0 a 4)	NUS	71 mg/dl (8 a 21)
Troponina T	<0.01 ng/ml (0 a 0.4)	Creatinina	4.1 mg/dl (0.9 a 1.5)
pH	7.50	ALP	443 U/L (45 a 122)
PCO ₂	27 mm Hg	AST	305 U/L (9 a 45)
CO ₂ total	15 mmol/L	ALT	78 U/L (8 a 63)
		GGT	724 U/L (11 a 50)
		Bilirrubina total	2.7 mg/dl (0.2 a 1.0)
		Bilirrubina directa	2.4 mg/dl (0 a 0.2)

Los síntomas de insuficiencia renal aguda más frecuentes son la oliguria y anuria (<400 ml/día). La disminución en la capacidad para excretar electrolitos y agua ocasiona un aumento importante en el volumen del líquido extracelular, lo que conduce a edema periférico, hipertensión e insuficiencia cardíaca congestiva. Sin embargo, es más prominente el inicio del *síndrome urémico* o ERET, en el que se observa aumento de los valores del NUS y de la creatinina sérica juntos con los síntomas precedentes. El resultado de esta enfermedad es la recuperación o, en caso de daño renal irreversible, progresión a insuficiencia renal crónica.^{5,8}

Insuficiencia renal crónica (enfermedad del riñón crónica)

La *enfermedad del riñón crónica* (terminología de elección) es un síndrome clínico que ocurre cuando hay declinación gradual en la función renal con el tiempo (fig. 24-7). La detección y el tratamiento tempranos son necesarios para prevenir progresión a ERET y complicaciones como la enfermedad vascular coronaria. En Estados Unidos, la *National Kidney Foundation* formuló directrices para el diagnóstico, el tratamiento y la prevención más oportunos

de la progresión adicional de la enfermedad. Véase el cuadro 24-3 para conocer las cinco fases de la enfermedad del riñón crónica. El IFG y la evidencia del daño al riñón con base en la medición de la proteinuria u otros marcadores conforman la base de las clasificaciones.²¹

Es posible que los trastornos que precipitan insuficiencia renal aguda también conduzcan a insuficiencia renal crónica.^{5,14} Otras causas de este síndrome se listan en el cuadro 24-4.

Diabetes mellitus

La *diabetes mellitus* llega a tener efectos profundos en el sistema renal. Los pacientes con diabetes tipo 1 padecen déficit de insulina. Alrededor de 45% de los pacientes con tipo 1 desarrollarán deterioro progresivo de la función del riñón (*nefropatía diabética*) en los 15 a 20 años posteriores al diagnóstico. Un menor porcentaje de personas con diabetes tipo 2 también desarrollará esta afección. Los efectos son sobre todo glomerulares, pero es posible que también afecten todas las estructuras del riñón, y se cree que se originan por el medio hiperglucémico anormal que cubre de manera constante el sistema vascular.^{5,8}

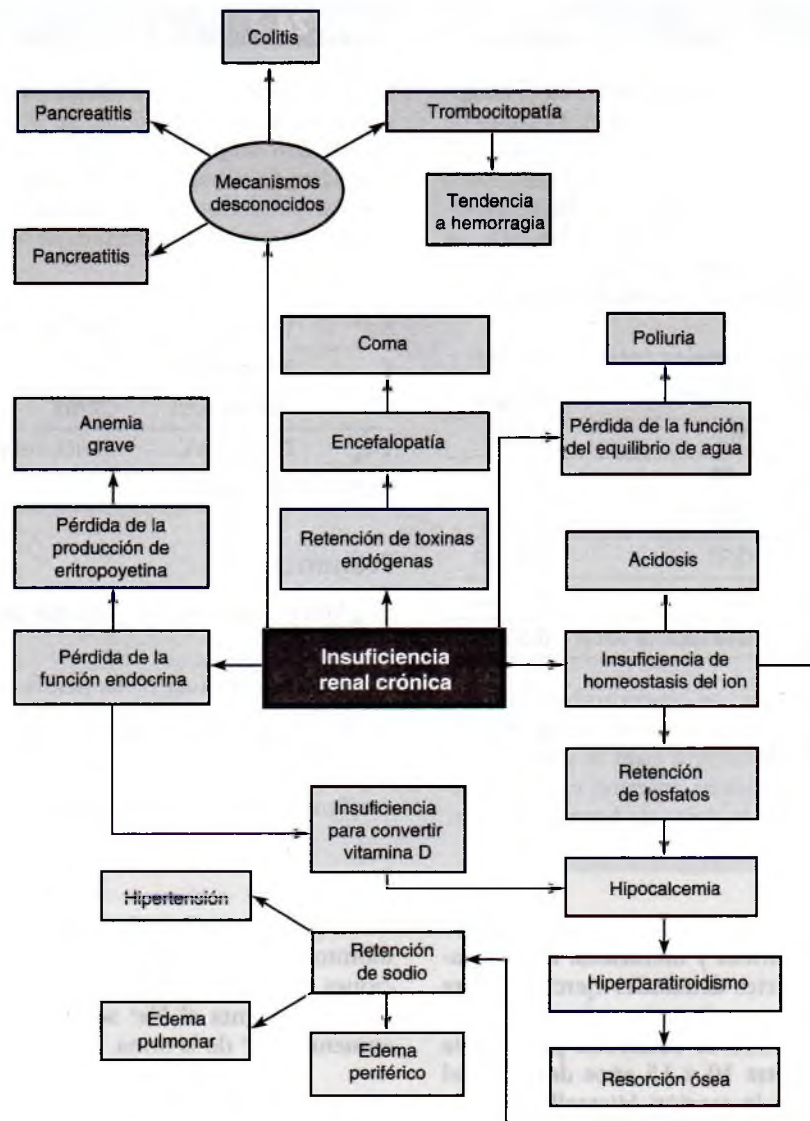


FIGURA 24-7. Fisiopatología de la enfermedad del riñón crónica.

CUADRO 24-3. CLASIFICACIÓN SISTEMÁTICA DE LAS ETAPAS DE LA ERC

ETAPA	DESCRIPCIÓN	IFG (ml/min por 1.73 m ²)
	En aumento del riesgo ^a	≥90 (con factores de riesgo)
1	Daño renal con IFG normal o ↑	>90
2	Daño renal con IFG normal o ↓	60 a 89
3	↓ IFG moderada	30 a 59
4	↓ IFG grave	15 a 29
5	Insuficiencia renal	<15

^aSe debe valorar a los pacientes en riesgo. Las etapas 1 a 5 ilustran la progresión de la ERC. (Fuente: National Kidney Foundation, K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Executive Summary, New York, 2002:16.)

CUADRO 24-4. ETIOLOGÍA DE LA INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA

ETIOLOGÍA	EJEMPLOS
Enfermedades circulatorias renales	Trombosis de la vena renal, hipertensión maligna
Enfermedades glomerulares primarias	LES, glomerulonefritis crónica
Secuencia renal hacia enfermedad metabólica	Gota, diabetes mellitus, amiloidosis
Enfermedades inflamatorias	Tuberculosis, pielonefritis crónica
Obstrucciones renales	Agrandamiento prostático, cálculos
Deformidad renal congénita	Riñones policísticos, hipoplasia renal
Diversos trastornos	Nefritis por radiación

ESTUDIO DE CASO 24-2

Un hombre de 45 años de edad se presentó en el hospital con síndrome de abstinencia al alcohol. Después de beber una copa de brandy cada día durante los últimos cinco a seis años, decidió dejar de beber hace cuatro días. El hombre experimentó temblores y luego alucinaciones visuales y auditivas. Al llegar al hospital, se encontraba diaforético y con taquicardia, con un pulso de 102. Sus resultados químicos fueron los siguientes:

Na ⁺	130 mmol/L	Proteína total	7.1 g/dl
K ⁺	3.7 mmol/L	Albumina	3.7 g/dl
Cl ⁻	90 mmol/L	ALP	63 U/L
CO ₂	20 mmol/L	AST	42 U/L
NUS	81 mg/dl	ALT	16 U/L
Creatinina	4.0 mg/dl	GGT	131 U/L
Magnesio	1.4 mg/dl	CK	591 U/L
Alcohol	Negativo	Bilirrubina total	0.5 mg/dl

Entre los antecedentes se encontraban artritis, hipertensión, depresión y alcoholismo. Había tomado un medicamento antiinflamatorio para la artritis y un antidepresivo. Durante la noche anterior, estuvo agitado y requirió aumento de la dosis de benzodiazepina,

junto con restricciones físicas para control de la conducta. La mañana siguiente, se le transfirió a la unidad de cuidado intensivo, donde se le evaluó en busca de insuficiencia renal aguda. El paciente fue rehidratado y se suspendieron los medicamentos para la artritis y antidepresivos. Los resultados de laboratorio se enumeran a continuación:

Na ⁺	139 mmol/L	Creatinina	1.4 mg/dl
K ⁺	3.5 mmol/L	CK	1626 U/L
Cl ⁻	107 mmol/L	CKMB	3.4 ng/ml
CO ₂	23 mmol/L	Índice relativo	0.2
NUS	16 mg/dl		

Preguntas

1. ¿Aún se encuentra el paciente en insuficiencia renal aguda?
2. ¿Cuál fue la causa de su insuficiencia renal aguda?
3. ¿Por qué ha mejorado el estado de electrolitos del paciente?
4. ¿Por qué su CK es muy elevada?

Por lo general, la diabetes afecta a los riñones ya que se vuelven glucosúricos, poliúricos y nictúricos. Estos estados se originan por las fuertes demandas ejercidas sobre los riñones para que produzcan diuresis en la orina hiperosmótica. Además, a menudo se desarrolla proteinuria leve (*microalbuminuria*) entre 10 y 15 años después del diagnóstico original (véase la sección *Microalbumina* en este mismo capítulo). A menudo surge hipertensión más adelante, lo que exacerba aún más el daño renal. A la postre, es posible que evolucione a insuficiencia renal crónica o síndrome nefrótico, de modo que a cada uno se le identifica por sus síntomas y hallazgos de laboratorio característicos. El tratamiento temprano de la diabetes que se centra en el control estrecho de la glucosa sanguínea y la prevención de la presión sanguínea elevada pudiera prolongar el inicio de la insuficiencia renal crónica.

Hipertensión renal

La hipertensión inducida por enfermedad renal tal vez se deba al decremento en la perfusión de todo el riñón o parte de él (isquemia). La falta de perfusión llega a originarse por traumatismo, daño o estrechamiento de una arteria o de arteriolas intrarrenales. La isquemia crónica de cualquier riñón ocasiona disfunción de la nefrona y necrosis eventual. Los cambios resultantes en los volúmenes de sangre y líquido corporal dentro del riñón desencadenan la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona, lo que produce vasoconstricción que se manifiesta como hipertensión persistente.

Es posible evaluar la hipertensión renal a través de monitoreo de la aldosterona sérica, Na⁺, y las concentraciones de renina. Como resultado del efecto de la aldosterona, aumenta el Na⁺ sérico, disminuye el K⁺ sérico y aumenta el K⁺ de la orina.

Terapia de insuficiencia renal

Dialísis. En pacientes con insuficiencia renal aguda, los síntomas urémicos, la hiperpotasemia incontrolada y la acidosis fueron indicadores tradicionales de que los riñones eran incapaces de excretar los productos de desecho del cuerpo, y se requería un método sustituto en la forma de diálisis. Sin embargo, a menudo la diálisis se instituye antes de esta fase. Existen diversas formas de diálisis disponibles, aunque en todas se utiliza una membrana semipermeable rodeada por un baño del dializante.

En la *hemodialísis* tradicional (eliminación de desechos de la sangre), la membrana es sintética y se encuentra fuera del cuerpo. La sangre arterial y el dializante se bombean a tasas elevadas (150 a 250 ml/min y 500 ml/min, respectivamente) en direcciones opuestas. La sangre se regresa a la circulación venosa y el dializante se desecha. La difusión de los solutos de bajo peso molecular (<500 daltons) dentro del dializante es favorecida por este proceso, pero los solutos de peso molecular medio (500 a 2000 daltons) se eliminan de manera inadecuada. La eliminación de creatinina es alrededor de 150 a 160 ml/min.

En la diálisis peritoneal, la pared peritoneal actúa como la membrana dializante, y se utiliza la gravedad para intro-

ducir y remover el dializante. Están disponibles dos variaciones de esta forma: la diálisis peritoneal ambulatoria continua (DPAC) y la diálisis peritoneal cíclica continua. Sin embargo, el proceso es continuo en ambas al realizarse 24 h al día los siete días de la semana. Este método no es tan riguroso como el tradicional. Los solutos pequeños (p. ej., potasio) tienen índices de eliminación mucho más bajos en comparación con el método tradicional, pero los solutos más grandes se eliminan, y se mantienen concentraciones estables de analitos sanguíneos.

La *hemofiltración arteriovenosa continua* (ultrafiltración de la sangre), *hemofiltración venovenosa continua*, *hemodiálisis arteriovenosa continua* y *hemodiálisis venovenosa continua* constituyen, en conjunto, las terapias de reemplazo renal lento continuo desarrolladas para tratar la insuficiencia renal aguda en pacientes con enfermedad crítica en entornos de cuidado intensivo. En estos métodos, la membrana semipermeable se encuentra, una vez más, fuera del cuerpo. En los primeros dos métodos, los solutos de hasta 5000 daltons (el tamaño del poro de la membrana) y el agua se filtran de manera lenta (1 ml/min) y continua a partir de la sangre, lo que causa cambios mínimos en la osmolalidad del plasma. Es posible reemplazar la pérdida de volumen en forma de nutrición parenteral y medicamentos intravenosos. Los dos últimos métodos son similares a los métodos de filtración, pero el goteo continuo del líquido de la diálisis se bombea después de la

membrana de la diálisis, lo que ocasiona difusión continua y duplicación de la eliminación de la urea.

Terapia de enfermedad renal de etapa terminal (ERET)

En pacientes con insuficiencia renal irreversible, la diálisis y el trasplante son las únicas dos opciones terapéuticas. El establecimiento de este tratamiento ocurre cuando el IFG cae a 5 ml/min (10 a 15 ml/min en pacientes con nefropatía diabética).

Díálisis. La hemólisis tradicional o su forma más reciente de elevada eficiencia, así como la diálisis peritoneal, son los métodos disponibles. El uso de pruebas de laboratorio clínico y la hemodiálisis servirán para vigilar de manera adecuada la eficiencia de procedimientos en una amplia gama de áreas. La diálisis renal tiene objetivos básicos. La realización de pruebas de laboratorio específicas contribuirá a evaluar la consecución de cada una de las metas.

Trasplante. La técnica de hemodiálisis más eficiente proporciona sólo 10 a 12% de eliminación de solutos pequeños de dos riñones normales y mucho menos en solutos grandes. Incluso pacientes con buena diálisis padecen discapacidades físicas y disminución en la calidad de vida. El trasplante de riñón ofrece la mayor oportunidad para el regreso completo a una vida sana y productiva. Sin embargo, esta opción es limitada por la importante escasez de donadores de órganos. En pacientes con ERET, la espera de la donación de un órgano varía de meses a años.

ESTUDIO DE CASO 24-3

Una mujer de 78 años de edad con antecedente de hipertensión, injerto torácico aórtico y enfermedad por reflujo esofágico manifiesta fiebre (37.8°C) y debilidad. Tres semanas antes, recibió tratamiento en el hospital para una infección del tracto urinario. Ingreso en el hospital para un estudio de diagnóstico y transfusión. Sus resultados de laboratorio fueron los siguientes:

Na ⁺	129 mmol/L	Hct	25.6%
K ⁺	3.7 mmol/L	Hgb	8.5 g/dl
Cl ⁻	97 mmol/L	WBC	9,700
CO ₂	19 mmol/L		
NUS	52 mg/dl		
Creatinina	3.2 mg/dl		

El cultivo de orina fue positivo para *Citrobacter*. Los resultados del urianálisis se enumeran a continuación:

Color	Confuso/amarillo
Gravedad específica	1.015
pH	5
Sangre	Alta
Proteína	2+
Glucosa	Negativo

Cetonas	Negativo
Nitratos	Negativo
RBC	>25
WBC	1-4
Cilindros	Granulares, 1 a 4

La declinación de la función renal del paciente continuó, por lo que se le colocó en hemodiálisis. Se realizó una biopsia renal en la que se demostró glomerulonefritis creciente en etapa terminal. Dos días más tarde, la paciente sufrió una úlcera duodenal perforada que requirió cirugía y transfusión sanguínea. Después, desarrolló coagulopatía e insuficiencia hepática. Su estado continuó deteriorándose en los siguientes pocos días, y murió después de eliminar el soporte de vida.

Preguntas

1. Al observar el urianálisis, ¿cuál es la importancia de la proteína 2+ y RBC >25?
2. ¿Cuál fue la causa más probable de la glomerulonefritis?
3. ¿Por qué se colocó a la paciente en hemodiálisis?

El trasplante renal debe provenir de un donador compatible con un destinatario que padece insuficiencia renal irreversible. El órgano se obtiene de un cadáver o de un individuo vivo (en Estados Unidos, 80 y 20%, respectivamente, de todos los trasplantes realizados). Para que este procedimiento sea exitoso, es necesario suprimir la respuesta inmunitaria al órgano trasplantado. Por tanto, se valora de manera cuidadosa al donador y el receptor para conocer grupo sanguíneo ABO, compatibilidad con el antígeno leucocito (HLA) y anticuerpos HLA preformados. El sistema HLA representa el principal inhibidor del trasplante.

Aunque los trasplantes de riñón tienen capacidad para funcionar durante décadas, la vida media de un trasplante a partir de un cadáver es de alrededor de siete años. La tasa de mortalidad no es muy diferente a la hemodiálisis. Las cifras de supervivencia de un injerto de tres años varían de 65 a 85%; con injertos vivos, mejoran. Hay informes de que no existe diferencia en la supervivencia de pacientes entre hemodiálisis, DPAC y trasplante de riñón cadavérico. El trasplante relacionado con un donador vivo está relacionado con mejor supervivencia del paciente que otras opciones terapéuticas de ERET.

RESUMEN

El riñón desempeña un papel vital en el mantenimiento del equilibrio de agua y electrolitos, la homeostasis y la eliminación de productos de desecho. Los riñones producen diversas hormonas importantes (p. ej., renina y 1,25-dihidroxivitamina D) necesarias para realizar esas tareas. Otras hormonas renales (p. ej., eritropoyetina) son importantes para otras funciones fisiológicas.

Las pruebas de la función renal se centran en su mayor parte en las eliminaciones glomerulares, valoradas por mediciones de creatinina y urea, y las funciones tubulares, valoradas por mediciones de proteína (p. ej., electroforesis de la orina). Los análisis de orina para analitos, como pH, glucosa, cetonas y bilirrubina, aún constituyen pruebas de evaluación importantes para muchas enfermedades no renales, como diabetes mellitus, cetoacidosis (y otros desequilibrios acidobásicos), hemólisis y enfermedad hepática. Los análisis de proteína más recientes, como microalbúmina de orina, β_2 -M, cistatina C y mioglobina de suero y orina, llegan a proporcionar información de pronóstico importante que resulta útil para el control del paciente. La microalbuminuria contribuye a la detección temprana de la nefropatía diabética; la β_2 -M, al rechazo temprano de trasplante renal; y los índices de eliminación de mioglobina, a la predicción de insuficiencia renal aguda inducida por rabdomiólisis.

Entre las infecciones renales frecuentes se incluyen procesos infecciosos e inflamatorios en glomérulos, túbulos y tracto urinario; obstrucciones en la función normal del riñón; e insuficiencia renal crónica. En esta última, los métodos terapéuticos agresivos basados en la diálisis y el trasplante permiten supervivencia prolongada de lo que alguna vez fue un trastorno terminal. Las variaciones en las técnicas de diálisis han hecho que este proceso se vuelva más disponible y conveniente y, con la implantación de potentes fármacos inmunosupresores, el trasplante renal extendido ahora sólo está limitado por la disponibilidad de órganos donantes apropiados.

PREGUNTAS DE REPASO

- Calcule la eliminación de la creatinina, con la siguiente información: creatinina sérica, 1.2 mg/dl; creatinina en orina, 120 mg/dl; volumen urinario, 1 750 ml/24 h; área superficial corporal, 1.80 m².
- Determine el IFG en una mujer de 50 años de edad que pesa 60 kg. Su concentración de creatinina sérica es de 2.5 mg/dl.
- La medición de cistatina C sérica, una proteína pequeña producida por células nucleadas, es útil para:
 - Calcular la eliminación de la creatinina.
 - Diagnosticar enfermedad renal en etapa terminal.
 - Vigilar pacientes con diálisis.
 - Detectar disminución temprana en la función del riñón.
- La insuficiencia renal aguda se clasifica en tres tipos. Mencíónelos y proporcione un ejemplo de cada uno de ellos.
 - _____
 - _____
 - _____
- La función del túbulo proximal es:
 - Concentrar sales.
 - Reabsorber 75% de sal y agua.
 - Formar el umbral renal.
 - Reabsorber urea.
- La tasa de filtración glomerular normal es de alrededor de:
 - 2 ml/min.
 - 125 ml/min.
 - 800 ml/min.
 - 1 200 ml/min.

7. La eliminación renal es:
 - a) El volumen de orina producido por día.
 - b) La cantidad de creatinina en orina.
 - c) El volumen de plasma del que se elimina una sustancia por unidad de tiempo.
 - d) La concentración de orina de una sustancia dividida por el volumen de orina por unidad de tiempo.
8. La liberación de la renina por el riñón es estimulada por:
 - a) Aumento en la concentración de sodio en plasma.
 - b) Decremento en el volumen o presión del líquido extracelular.
 - c) Incremento en el sodio de la dieta.
 - d) Reabsorción tubular renal.
9. El conjunto de resultados que refleja con mayor precisión la enfermedad renal grave es:

<i>Creatinina sérica</i>	<i>Eliminación de creatinina</i>	<i>NUS</i>
a) 1.0 mg/dl	110 ml/min	17 mg/dl
b) 2.0 mg/dl	120 ml/min	14 mg/dl
c) 1.0 mg/dl	95 ml/min	43 mg/dl
d) 3.7 mg/dl	44 ml/min	88 mg/dl
10. Los resultados de la eliminación de creatinina se corrigen a través del área superficial corporal del paciente que corresponden a diferencias en:
 - a) Edad.
 - b) Ingesta dietética.
 - c) Sexo.
 - d) Masa muscular.

REFERENCIAS

1. Vander A, et al. Human Physiology: The Mechanisms of Body Function, 7th ed. New York: McGraw-Hill, 1998:503, 508, 519.
2. Kaplan A, et al. Clinical Chemistry: Interpretation and Techniques, 4th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1995:156–157.
3. DuFour DR. Professional Practice in Clinical Chemistry: A Companion Text, Water and Electrolyte Balance. Washington, D.C.: AACC, 1999.
4. Davies A, Blakely A, Kidd C. Human Physiology. London: Harcourt Publishers, 2001:747.
5. Rock RC, Walker WG, Jennings CD. Nitrogen metabolites and renal function. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1987:669.
6. Russell PT, Sherwin JE, Obernolte R, et al. Nonprotein nitrogenous compounds. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. St. Louis: CV Mosby, 1989:1005.
7. Fraser D, Jones G, Kooh SW, et al. Calcium and phosphate metabolism. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1987:705.
8. First MR. Renal function. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 3rd ed. St. Louis: CV Mosby, 1996:484.
9. Kaplan LA. Measurement of colligative properties. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. St. Louis: CV Mosby, 1989:207.
10. Kleinman LI, Lorenz JM. Physiology and pathophysiology of body water and electrolytes. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. St. Louis: CV Mosby, 1989:313.
11. Sherwin JE, Bruegger BB. Acid-base control and acid-base disorders. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. St. Louis: CV Mosby, 1989:332.
12. Lab Tests Online: GFR and EGFR at a glance. Available at: <http://www.labtestsonline.org>.
13. Schumann GB, Schweitzer SC. Examination of urine. In: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. St. Louis: CV Mosby, 1989:820.
14. Fraenhoffer E, Demers LM. Beta₂-microglobulin. ASCP Check Sample Continuing Education Program, Clinical Chemistry, No. CC 865 (CC173). Chicago, IL, 1986.
15. Wu AHB, Laios I, Green S, et al. Immunoassays for serum and urine myoglobin: myoglobin clearance assessed as a risk factor for acute renal failure. Clin Chem 1994;40:796.
16. Skogen W. Urinary albumin and diabetic nephropathy. Clin Lab News 1995;21(3):6–7.
17. American Diabetes Association. Position statement: standards of medical care for patients with diabetes mellitus. Diabetes Care 1994;17:616–623.
18. Bennett PH, et al. Screening and management of microalbuminuria in patients with diabetes mellitus: recommendations to the Scientific Advisory Board of the National Kidney Foundation from an Ad Hoc Committee of the Council on Diabetes Mellitus of the National Kidney Foundation. Am J Kidney Disease 1995;25:107.
19. Emancipator K. Laboratory diagnosis and monitoring of diabetes mellitus. Am J Clin Pathol 1999;112:665.
20. Lab Tests Online: Cystatin C at a glance. Available at: http://www.labtestsonline.org/understanding/analytes/cystatin_c/glance.
21. Mitchum C. Implementing the new kidney disease testing guidelines. Clin Lab News 2002; September:14.

Función pancreática

Edward P. Fody

25

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- FISIOLÓGÍA DE LA FUNCIÓN PANCREÁTICA
- ENFERMEDADES DEL PANCREAS
- PRUEBAS DE LA FUNCIÓN PANCREÁTICA
 - Prueba de secretina/CCK
 - Análisis de la grasa fecal
 - Determinaciones de electrolitos en sudor
 - Enzimas séricas
 - Otras pruebas de la función pancreática
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS
- LECTURAS RECOMENDADAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Analizar el papel fisiológico del páncreas en el proceso digestivo.
- Enumerar las hormonas excretadas por el páncreas, junto con sus papeles fisiológicos.
- Describir los siguientes trastornos pancreáticos y enumerar las pruebas de laboratorio relacionadas que contribuirían en el diagnóstico: pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, carcinoma pancreático, fibrosis quística y malabsorción pancreática.

TÉRMINOS CLAVE

Colecistocinina (CCK)
Esteatorrea

Islotes de Langerhans

Pancreatitis

Secretina

El páncreas es una glándula grande que participa en el proceso digestivo, pero se localiza fuera del sistema gastrointestinal (GI). Se compone de tejido endocrino y exocrino. Las funciones endocrinas del páncreas incluyen producción de insulina y glucagon. Estas dos hormonas están implicadas en el metabolismo de los carbohidratos. Las funciones exocrinas abarcan la producción de muchas enzimas usadas en el proceso digestivo. En este capítulo se analiza la fisiología de la función pancreática, enfermedades del páncreas y pruebas de la función pancreática.

FISIOLÓGÍA DE LA FUNCIÓN PANCREÁTICA

Como glándula digestiva, el páncreas sólo es la segunda en tamaño después del hígado, con un peso de entre 70 y 105 g. Se localiza detrás de la cavidad peritoneal, a lo largo de la parte superior del abdomen al nivel de la primera y segunda vértebras lumbares, 2,5 a 5 cm arriba del ombligo (fig. 25-1). El páncreas se compone de dos tejidos con función y estructura morfológica diferentes: tejido endocrino y exocrino. El componente *endocrino* (liberador de hormonas) es, por mucho, el más pequeño de los dos y

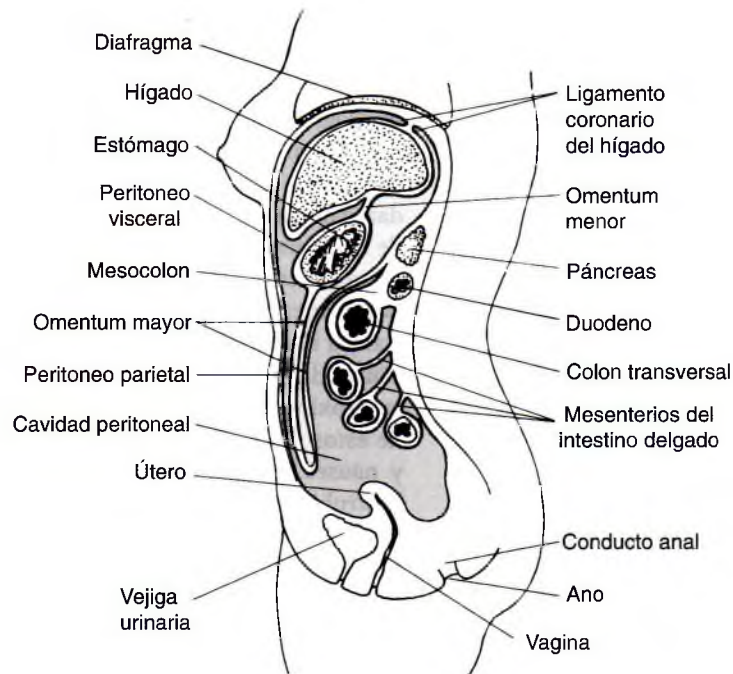


FIGURA 25-1. Peritoneo y mesenterios. El peritoneo parietal recubre la cavidad abdominal; y el peritoneo visceral, los órganos abdominales. Los órganos retroperitoneales están protegidos por el peritoneo parietal. Los mesenterios son membranas que conectan los órganos abdominales entre sí y a la pared del cuerpo. (Reimpresa con autorización de Thompson JS y Akesson EJ, eds. *Thompson's Core Textbook of Anatomy*, 2nd. ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1990:115.)

consta de los islotes de Langerhans, que son racimos esféricos u ovoides bien delineados compuestos de cuando menos cuatro tipos diferentes de células. Las células del islote secretan un mínimo de cuatro hormonas dentro de la sangre: insulina, glucagon, gastrina y somatostatina. El componente pancreático *exocrino* (liberador de enzimas), que es más grande, secreta alrededor de 1.5 a 2 L/día de líquido, que es rico en enzimas digestivas, dentro de los conductos que al final se vacían en el duodeno.

El líquido digestivo se produce por células acinares pancreáticas (semejantes a racimos de uvas), que recubren el páncreas y se conectan por conductos pequeños. Éstos se vacían de manera progresiva dentro de los conductos más grandes, con lo que al final forman un conducto pancreático principal y uno accesorio más pequeño. El conducto pancreático principal y el biliar común se abren dentro del duodeno en la papila duodenal principal (fig. 25-2). El líquido pancreático normal rico en proteínas es claro, incoloro y acuoso, con un pH alcalino que alcanza 8.3. Esta alcalinidad se debe a la elevada concentración de bicarbonato de sodio presente en el líquido pancreático, que al final se utiliza para neutralizar el ácido clorhídrico en el líquido gástrico del estómago a medida que ingresa al duodeno. Las concentraciones de bicarbonato y cloruro varían en forma recíproca, de modo que totalizan aproximadamente 150 mmol/L.

El líquido pancreático tiene casi las mismas concentraciones de potasio y sodio que de suero. Las enzimas digestivas, o sus proenzimas secretadas por el páncreas,

tienen capacidad para digerir las tres clases principales de sustancias alimenticias (proteínas, carbohidratos y grasas) e incluyen: *a*) enzimas proteolíticas tripsina, quimotripsina, elastasa, collagenasa, leucina aminopeptidasa y algunas carboxipeptidasas; *b*) enzimas que digieren lípidos, sobre todo lipasa y lecitinasa; *c*) amilasa pancreática degradante de carbohidratos; y *d*) diversas nucleasas (ribonucleasa), que separan las bases que contienen nitrógeno de sus oligoelementos de azúcar-fosfato.

La actividad pancreática se encuentra bajo control nervioso y endocrino. Las ramificaciones del nervio vago llegan a producir una cantidad pequeña de secreción de líquido pancreático cuando la comida se huele o se observa. Estas

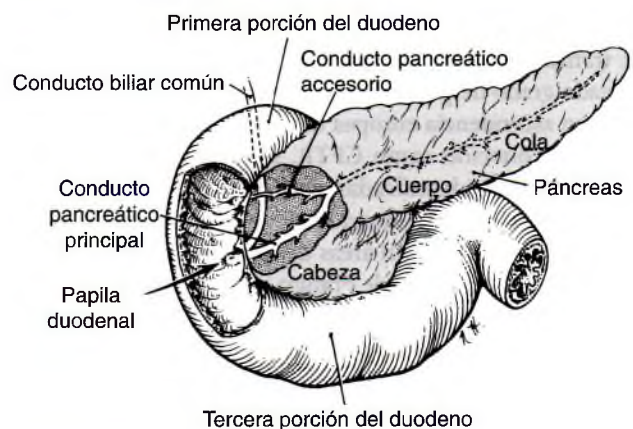


FIGURA 25-2. Esquema del páncreas y su relación con el duodeno.

secreciones aumentan a medida que el bolo alimenticio entra al estómago. Sin embargo, la mayor parte de la acción pancreática está bajo el control hormonal de la *secretina* y *colecistocinina* (CCK; antes conocida como *pancreozimina*). La secretina es responsable de la producción de líquido pancreático rico en bicarbonato y, por tanto, alcalino, que protege el revestimiento del intestino. La secretina se sintetiza en respuesta a los contenidos ácidos del estómago que llegan al duodeno. Esto también afecta la actividad de la gastrina en el estómago. Este líquido pancreático contiene pocas enzimas digestivas. La CCK, en presencia de grasas o aminoácidos en el duodeno, se produce por las células de la mucosa intestinal y es responsable de liberar enzimas de las células acinares a través del páncreas en el líquido pancreático.

ENFERMEDADES DEL PÁNCREAS

Además del traumatismo, sólo tres enfermedades atraen más de 95% de la atención médica dedicada al páncreas. Si afectan la función endocrina del páncreas, estas enfermedades llegan a ocasionar alteración en la digestión y el metabolismo de nutrientes. En el capítulo 11, *Carbohidratos*, se analiza el papel del páncreas en la diabetes mellitus.

1. La *fibrosis quística* (conocida por varios otros términos, como *enfermedad fibroquística del páncreas* y *mucoviscidosis*) es un trastorno autosómico recesivo heredado, caracterizado por disfunción de las glándulas mucosas y exocrinas en todo el cuerpo. Esta enfermedad es relativamente frecuente y ocurre en cerca de 1 de cada 1 600 nacidos vivos. Tiene varias manifestaciones y al principio llega a presentarse en formas tan variables como obstrucción intestinal del recién nacido, infecciones pulmonares excesivas en la niñez o, rara vez, malabsorción pancreatogénica en adultos. La enfermedad hace que los conductos pequeños y grandes y los ácinos se dilaten y se conviertan en quistes pequeños rellenos de mucosidad, que a la postre ocasionan la prevención de secreciones pancreáticas que llegan al duodeno o, dependiendo de la edad del paciente, un tapón que bloquea el lumen del intestino, lo que conduce a la obstrucción. A medida que la enfermedad avanza, existe un aumento en la destrucción y cicatrización fibrosa del páncreas y un decremento correspondiente en la función. La fibrosis quística se transmite como un trastorno recesivo autosómico con elevado grado de penetración. Ocurre sobre todo en personas con ascendencia europea del norte. El gen de la fibrosis quística, conocido como CFTR, se presenta en el cromosoma 7. Están identificadas más de 900 mutaciones que causan este trastorno, aunque algunas ocurren con mayor frecuencia que otras. En áreas de elevada frecuencia, como Britania en el occidente de Francia, más de 10% de la población llega a presentar una mutación de fibrosis quística, y 1 de cada 3 000 niños se ve afectado, lo que la vuelve el trastorno genético más frecuente en esas poblaciones. En la actualidad, se llevan a cabo varias evaluaciones genéticas.¹⁻³

2. El *carcinoma pancreático* es la quinta forma más frecuente de cáncer fatal, y causa alrededor de 27 000 muertes cada año en Estados Unidos, lo que representa cerca de

5% de todas las muertes por neoplasmas malignos en ese país. La tasa de supervivencia de cinco años es menor de 2%. Más de 90% de los pacientes mueren en el primer año de diagnóstico. La mayor parte de los tumores pancreáticos surgen como adenocarcinomas del epitelio conductal. Debido a que el páncreas cuenta con un suministro abundante de nervios, el dolor es una característica prominente de la enfermedad. Si el tumor surge en el cuerpo o la cola del páncreas, la detección a menudo no ocurre hasta una fase avanzada de la enfermedad debido a su ubicación central y a los síntomas vagos relacionados. Por lo general, el cáncer de la cabeza del páncreas se detecta más pronto por su proximidad con el conducto biliar común. Los signos de estos tumores son ictericia, pérdida de peso, anorexia y náusea. La ictericia se relaciona con signos de hiperbilirrubinemia poshepática (colestasis intrahepática) y bajas concentraciones de bilirrubina fecal, lo que da como resultado heces de color arcilla. Sin embargo, los hallazgos no son específicos para tumores pancreáticos, por lo que deben descartarse otras causas de obstrucción.

Los tumores celulares del islote del páncreas afectan la capacidad endocrina del páncreas. Si el tumor ocurre en las células beta, a menudo se observa hiperinsulinismo, que ocasiona concentraciones bajas de glucosa sanguínea, algunas veces seguidas por choque hipoglucémico. A los tumores de las células alfa pancreáticas, con sobreproducción de gastrina, se les denomina *gastrinomas*. Éstos producen el *síndrome de Zollinger-Ellison* y llegan a ser de origen duodenal. Estos tumores están relacionados con diarrea acuosa, úlcera péptica recurrente e hipersecreción e hiperacidez gástricas importantes. Los tumores pancreáticos que secretan glucagon en las células α son raros. La hipersecreción de glucagon se relaciona con diabetes mellitus.

3. La *pancreatitis*, o inflamación del páncreas, es básicamente causada por autodigestión del páncreas como resultado del reflujo de la bilis o contenidos duodenales dentro de los conductos pancreáticos. Los cambios patológicos incluyen edema agudo, con grandes cantidades de líquido que se acumula en el espacio retroperitoneal y decremento relacionado con el volumen sanguíneo circulante efectivo; infiltración celular, que conduce a necrosis de las células acinares, con hemorragia como posible resultado de los vasos sanguíneos necróticos; y necrosis adiposa pancreática intrahepática y extrahepática. Por lo general, la pancreatitis se clasifica como aguda (daño no permanente al páncreas), crónica (lesión irreversible) o recurrente/recurrente, que también puede ser aguda o crónica. A menudo ocurre en la madurez. Es posible que se presenten episodios dolorosos de manera intermitente, que suelen alcanzar intensidad máxima en minutos u horas y duran varios días o semanas, con frecuencia acompañados por náusea y vómito. La pancreatitis a menudo está relacionada con abuso de alcohol o enfermedad del tracto biliar, pero los pacientes con hiperlipoproteinemia y aquellos con hiperparatiroidismo también se encuentran en mayor riesgo para esta enfermedad.

ESTUDIO DE CASO 25-1

Un hombre de 38 años de edad ingresa a urgencias con dolor grave e intenso en la parte media del abdomen de seis horas de duración. Un amigo, que lo transportó al hospital, informó que el paciente se desmayó tres veces en el automóvil. El paciente presenta antecedente de 15 años de alcoholismo y bebe uno o dos vasos de whisky por día. Se le hospitalizó por última vez debido a alcoholismo agudo hace tres meses, momento en que se observaron anomalías relativamente menores de la función hepática. En este ingreso, su presión sanguínea fue de 80/40 mmHg; pulso, 110 latidos/min y constante; y respiraciones, 24/min y poco profundas. En el cuadro 25-1.1 de estudio de caso se muestran los resultados de la prueba de laboratorio clínica.

Preguntas

1. ¿Cuál es la enfermedad probable?
2. ¿Cuál es la causa de que el calcio sérico sea bajo?
3. ¿Cuál es la causa del aumento del nitrógeno de urea sanguíneo?

CUADRO 25-1.1. DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

Amilasa sérica	640 unidades (3.5 a 260)
Sodio sérico	133 meq/L (135 a 145)
Potasio	3.4 meq/L (3.8 a 5.5)
Calcio	4.0 meq/L (4.5 a 5.5)
Nitrógeno de urea sanguíneo	32 mg/dl (8 a 25)
Recuento de glóbulos blancos	16 500
Hemoglobina	12 g/dl

Otros factores etiológicos relacionados con pancreatitis aguda incluyen paperas, obstrucción causada por enfermedad del tracto biliar, cálculos biliares, tumores pancreáticos, lesión tisular, enfermedad aterosclerótica, choque, embarazo, hipercalcemia, pancreatitis hereditaria, factores inmunológicos relacionados con trasplante posrenal e hipersensibilidad. Los síntomas de la pancreatitis aguda constan de dolor abdominal grave generalizado o en los cuadrantes superiores, y que a menudo se irradia hacia la parte posterior o baja del costado derecho o izquierdo. La etiología de la pancreatitis crónica es similar a la de la pancreatitis aguda, pero al parecer el consumo excesivo crónico de alcohol es el factor más frecuente de predisposición.

Los hallazgos de laboratorio abarcan aumento de amilasa, lipasa, triglicéridos e hipercalcemia, lo que a menudo se relaciona con hiperparatiroidismo subyacente. Tal vez se encuentre hipocalcemia y se atribuya a la eliminación repentina de grandes cantidades de calcio del líquido extracelular debido a daño en la movilización o como resultado de la fijación de calcio por ácidos grasos liberados debido a incremento en la acción de la lipasa sobre los triglicéridos. La hipoproteinemia se atribuye de manera primordial a la pérdida notable de plasma en el espacio retroperitoneal. Un cambio del flujo sanguíneo arterial de las células pancreáticas inflamadas a las células menos afectadas o normales origina la privación de oxígeno e hipoxia tisular en el área dañada, que incluye a los órganos y tejido circundantes.

Estos tres trastornos llegan a producir disminución grave en la función exocrina pancreática, que afectan de manera importante la digestión y absorción de los nutrientes inge-

ridos. Ésta es la esencia del síndrome de la malabsorción general, que abarca hinchamiento e incomodidad abdominales; paso frecuente de heces voluminosas y con mal olor; y pérdida de peso. La incapacidad para digerir o absorber grasas, conocida como *esteatorrea*, proporciona un aspecto grasiento a las heces (más de 5 g de grasa fecal por 24 horas). Por lo general, el síndrome de malabsorción implica digestión o absorción anormal de proteínas, polisacáridos, carbohidratos y otras moléculas complejas, así como lípidos. Es posible que también ocurra daño grave en la absorción y el metabolismo de electrolitos, agua, vitaminas (en particular vitaminas A, D, E y K solubles en grasa) y minerales. La malabsorción quizá afecte a una sola sustancia, como la vitamina B₁₂, lo que ocasiona anemia megaloblástica (anemia perniciosa), o lactosa causada por una deficiencia de lactasa. Además de la deficiencia exocrina pancreática, el síndrome de malabsorción se produce por obstrucción biliar, que priva al intestino delgado del efecto emulsificante de la bilis, y por varias enfermedades del intestino delgado, que inhiben la absorción de los productos digeridos.

PRUEBAS DE LA FUNCIÓN PANCREÁTICA^{1,2}

De acuerdo con la etiología y el cuadro clínico, se sospecha función pancreática cuando hay evidencia de aumento de la amilasa y lipasa. Consulte el capítulo 10, *Enzimas*, para conocer un análisis más detallado de estas enzimas. Otras pruebas de laboratorio de la función pancreática incluyen aquellas que se utilizan para la detección de la malabsorción (p. ej., examen de las heces en busca de exceso de grasa, prueba de la D-xilosa y análisis de la grasa fecal), las que miden otra

ESTUDIO DE CASO 25-2

Un hombre alcohólico de 56 años de edad se presenta con un historial de dos semanas de dolor en la parte media del abdomen. Además, informa heces de color arcilla, ictericia leve, náusea, vómito y pérdida de peso de 4.5 kg. En el cuadro 25-2.1 de estudio de caso se muestran los hallazgos de laboratorio.

Preguntas

- 1. ¿Cuál sistema orgánico es afectado de manera primaria?
- 2. ¿Cuáles son las principales consideraciones del diagnóstico?
- 3. ¿Qué significan los resultados de laboratorio? ¿Cuáles pruebas de laboratorio adicionales serían útiles en el establecimiento del diagnóstico?
- 4. ¿Cuáles otros estudios o procedimientos tal vez se requieran?

CUADRO 25-2.1 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

PRUEBA	RESULTADO	RANGO DE REFERENCIA
Bilirrubina sérica	4.2 mg/dl	0.3 a 1.0 mg/dl
Lactato-deshidrogenasasérica	625 UI/L	0 a 200 UI/L
Alanina-amino-transferasa sérica	76 UI/L	0 a 46 UI/L
Fosfatasa alcalina sérica	462 UI/L	0 a 80 UI/L
Amilasa sérica	80 UI/L	0 a 85 UI/L
Bilirrubina en orina	3+	Negativo

función exocrina (p. ej., secretina, CCK, grasa fecal, tripsina y quimotripsina), las que evalúan cambios relacionados con obstrucción hepática (p. ej., bilirrubina) y las relacionadas con sustancias endocrinas (p. ej., gastrina, insulina y glucosa) que reflejan cambios en las células endocrinas del páncreas.

En ocasiones la evaluación directa del líquido pancreático incluye medición del volumen total del líquido pancreático y la cantidad o concentración de bicarbonato y enzimas, lo que requiere estimulación pancreática. Es posible lograr la estimulación a través de una comida prescrita o con la administración de secretina, que permite la evaluación del volumen y del bicarbonato, o estimulación de la secretina seguida por estimulación de CCK, lo que agrega enzimas a la evaluación del líquido pancreático. La ventaja de estas pruebas, que requieren la intubación del paciente, es que los exámenes químico y patológico se realizan sobre secreciones pancreáticas reales. A menudo el examen citológico del líquido establece la presencia, o cuando menos la sospecha, de neoplasmas malignos, aunque no es posible la localización precisa del órgano primario implicado (es decir, páncreas, sistema biliar, ámpula de Vater o duodeno) por aspiración duodenal.

Debido a los avances en las técnicas de imagen, estas pruebas de estimulación se utilizan con menor frecuencia. Ninguna ha mostrado ser de particular utilidad en el diagnóstico de la enfermedad pancreática leve o aguda, en la que la fase aguda se reduce. La mayor parte de las pruebas son de utilidad clínica en la exclusión del páncreas del diagnóstico. La prueba de sudor, utilizada para valorar la fibrosis quística, no es específica para evaluar la afección pancreática pero, cuando se usa junto con el cuadro clínico en el momento de comprobación, tal vez proporcione información diagnóstica importante. A continuación se

describen de manera breve las siguientes pruebas de la función pancreática: prueba de secretina/CCK, análisis de grasa fecal, determinaciones de cloruro en sudor e interpretación de la amilasa y lipasa.

Prueba de secretina/CCK

La prueba de secretina/CCK es una determinación directa de la capacidad secretoria exocrina del páncreas. La prueba incluye entubación del duodeno sin contaminación por líquido gástrico, lo que neutralizaría cualquier bicarbonato. La prueba se realiza después de un ayuno de seis horas o durante toda la noche. La secreción pancreática es estimulada por secretina administrada por vía intravenosa en dosis que varían de 2 a 3 U/kg del peso corporal, seguida por la administración de CCK. Si se desea una prueba simple de secretina, sólo se proporciona la dosis más elevada de secretina.

No se ha establecido ningún protocolo de manera uniforme para la prueba. Las secreciones pancreáticas se recolectan de manera variada por 30, 60 u 80 min después de la administración de los estimulantes, sea como muestras de 10 min o como una sola recolección depositada. Se determinan el pH, el índice secretorio, las actividades enzimáticas (p. ej., tripsina, amilasa o lipasa), y la cantidad de bicarbonatos. La cantidad promedio de bicarbonato excretada por hora es de alrededor de 15 mM para hombres y 12 mM para mujeres, con un flujo promedio de 2 ml/kg. Dado el gasto del volumen total, se debe obtener la valoración de las enzimas. La disminución del flujo pancreático está relacionada con obstrucción pancreática e incremento de las concentraciones enzimáticas. Las concentraciones bajas de bicarbonato y enzimas están relacionadas con fibrosis quística, pancreatitis crónica, quistes pancreáticos, calcificación y edema del páncreas.¹

Análisis de la grasa fecal

Los lípidos fecales se derivan de cuatro fuentes: lípidos ingeridos no absorbidos, lípidos excretados en el intestino (sobre todo en la bilis), células vertidas en el intestino y metabolismo de bacterias intestinales. Los pacientes con dieta libre de lípidos aún excretan 1 a 4 g de lípidos en las heces en un período de 24 h. Incluso con una dieta rica en lípidos, por lo general la grasa fecal no sobrepasa una cifra aproximada de 7 g en un periodo de 24 h. El lípido fecal normal se compone de ácidos grasos en alrededor de 60%; esteroides, alcoholes superiores y carotenoides en 30%; y triglicéridos en 10%. Aunque el aumento importante de la grasa fecal tal vez se deba a obstrucción biliar, la estatorrea grave suele relacionarse con insuficiencia pancreática exocrina o enfermedad del intestino delgado.

Prueba de valoración cualitativa de la grasa fecal

Se han desarrollado varias pruebas de valoración para detectar estatorrea. En estas pruebas se suelen utilizar tintas solubles en grasa (p. ej., Sudán III, Sudán IV, aceite rojo 0 o sulfato azul del Nilo), que se disuelven en el interior de las gotas del lípido y las colorean. El grado de experiencia y confiabilidad del laboratorista clínico que realiza la prueba es de mayor importancia que el procedimiento de la técnica particular.

Tinción de Sudán para grasa fecal^{3,4}

Las grasas neutras (triglicéridos) y muchos otros lípidos se tiñen de color amarillento-naranja a rojo con Sudán III porque la tinta es mucho más soluble en lípidos que en agua o etanol. Los ácidos grasos libres no se tiñen de manera apreciable, a menos que la muestra se caliente en presencia del tinte con 36% de ácido acético. El portaobjetos se examina caliente o frío para valorar la cantidad de gotas de grasa. A medida que la laminilla se enfría, los ácidos grasos cristalizan en el exterior en partículas largas e incoloras semejantes a agujas. La detección de fibra de carne se realiza por una tercera alícuota de muestra fecal mezclada sobre el portaobjetos con 10% de alcohol y una solución de eosina teñida durante tres minutos. La fibra de carne se teñirá como fibras rectangulares de estrías transversales. Al dividir la muestra y detectar grasas neutras, ácidos grasos y fibras de carne sin digerir, es posible proporcionar información diagnóstica. Los incrementos de grasa y fibras de carne sin digerir son indicativos de pacientes con esteatorrea de origen pancreático. Se utiliza una muestra fecal representativa para el análisis.

Las heces normales presentan hasta 40 o 50 gotas de lípido neutras pequeñas (1 a 5 mm) por campo de microscopio de alta potencia. La esteatorrea se caracteriza por aumento en la cantidad y el tamaño de las gotas teñibles, a menudo con algunos glóbulos de grasa en el rango de 50 a 100 mm. En pacientes con este trastorno, se espera una valoración de ácidos grasos mayor de 100 gotas pequeñas teñidas, junto con la presencia de fibra de carne.

Análisis cuantitativo de grasa fecal^{3,4}

La prueba definitiva para la estatorrea es la determinación cuantitativa de la grasa fecal, por lo general en una reco-

lección de heces de 72 h, aunque el período de recolección llega a aumentar hasta por cinco días. Existen dos métodos básicos para la cuantificación de lípidos fecales. En el método gravimétrico, los jabones de ácidos grasos (de manera primordial sales de calcio y magnesio de ácidos grasos) se convierten a ácidos grasos libres, seguido por la extracción de la mayor parte de los lípidos en un solvente orgánico, que luego se evapora para que se pese el residuo lipídico. En métodos de titulación, los lípidos se saponifican con hidróxido, y las sales de ácido graso se convierten a ácidos grasos libres mediante el uso de ácido. Luego se extraen los ácidos grasos libres, junto con varios lípidos no saponificados, con un solvente orgánico, en tanto los ácidos grasos se titulan con hidróxido después de la evaporación del solvente y la redisolución del residuo en etanol. Obviamente, los métodos de titulación sólo miden los ácidos grasos saponificables y, como consecuencia, producen resultados alrededor de 20% más bajos que los de métodos gravimétricos. Otra objeción es que en los métodos de titulación se utiliza un peso molecular promedio estimado para los ácidos grasos para convertir moles de ácidos grasos a gramos de lípido.

En algún momento, era habitual medir la cantidad de ácidos grasos libres como un porcentaje de lípidos totales bajo la suposición de que un porcentaje elevado de ácidos grasos indica actividad adecuada de la lipasa pancreática. A este método ya no se le considera confiable debido a los resultados falsos, en particular causados por la lipasa producida por bacterias intestinales.

Es esencial, a los pacientes se les administra una dieta rica en lípidos durante cuando menos dos días antes de instituir la recolección fecal. La dieta debe contener cuando menos 50 g, y de preferencia 100 g, de lípidos al día. Las recolecciones fecales se extenderán durante tres días sucesivos o más.

Existen varias maneras de expresar la excreción lipídica fecal. La expresión como un porcentaje de peso fecal húmedo o seco está abierta al cuestionamiento serio debido a las amplias variaciones en contenido de agua fecal y en residuo seco como resultado del consumo dietético. El método más aceptado consiste en informar los gramos de grasa fecal excretada en un período de 24 horas.

Método gravimétrico de Sobel⁵ para la determinación de grasa fecal (modificado)⁶

La muestra fecal completa se emulsifica con agua. Una alícuota es acidificada para convertir todos los jabones de ácidos grasos a ácidos grasos libres, que luego se excretan con otros lípidos solubles en éter de petróleo y etanol. Después de la evaporación de los solventes orgánicos, se pesa el residuo lipídico. Todas las heces por un periodo de tres días se recolectan en recipientes de tara. Es necesario que éstos *no contengan* una capa de cera. La muestra se mantendrá en refrigeración.

Los lípidos totales no cambian de manera importante durante un almacenamiento de cinco días de la muestra a temperaturas del refrigerador. Los pacientes no deben ingerir aceite de ricino, aceite mineral u otros laxantes aceitosos y no utilizarán supositorios rectales que contengan

aceite o lípido durante dos días antes de la prueba y durante la misma.

El rango de referencia para lípidos fecales en adultos es de 1 a 7 g/24 horas.

Determinaciones de electrólitos en sudor⁶⁻⁹

La medición de la concentración de sodio y cloruro en el sudor es la prueba más útil para el diagnóstico de fibrosis quística. Se observan concentraciones bastante elevadas de ambos iones, que ocurren en más de 99% de los pacientes afectados. Los aumentos de dos a cinco veces de sodio y cloruro en sudor son diagnósticos de fibrosis quística en niños. Incluso en adultos, ningún otro trastorno causa incrementos del cloruro y sodio en sudor por arriba de 80 meq/L. El potasio en sudor también es elevado, pero en menor medida, por lo que no suele tomarse en cuenta para el diagnóstico. Al contrario de algunas aserciones, las determinaciones de electrólitos en sudor no distinguen transportadores heterocigotos de fibrosis quística de los homocigotos normales.

Los métodos antiguos para la obtención de las muestras de sudor requerían tecnólogos experimentados, quienes a menudo realizaban la prueba. La inducción de sudor incluía la aplicación de bolsas de plástico o el envolvimiento del paciente en mantas, lo que conllevaba importantes riesgos de deshidratación, trastornos electrolíticos e hiperpirexia. En 1959, se informó la administración de pilocarpina por iontoforesis como un método eficiente para la recolección y estimulación del sudor.^{10,11} En la iontoforesis se emplea una corriente eléctrica que hace que la pilocarpina emigre al área limitada de la piel, por lo general la parte interna del antebrazo, hacia el electrodo negativo a partir de una almohadilla humedecida sobre el electrodo positivo. Luego se aplica un recipiente de recolección a la piel. Después se analiza el sudor para cloruro. Para la confirmación, se debe repetir la prueba. Los electrodos de superficie comerciales para analizar el cloruro del sudor se consiguen con facilidad. Para conocer detalles, consulte el capítulo 27, *Análisis de los líquidos corporales*.

Se acepta de manera amplia que las concentraciones del cloruro en sudor mayores a 60 mmol/L son diagnósticas de fibrosis quística en niños.¹² Las concentraciones de sodio o cloruro en el sudor en mujeres ejercen fluctuaciones en el ciclo menstrual y alcanzan un valor máximo cinco a 10 días antes del comienzo de la menstruación, pero no se superponen con los rangos relacionados con fibrosis quística.

Enzimas séricas¹¹

La amilasa representa la enzima sérica que más se utiliza para la detección de enfermedad pancreática. Sin embargo, no se trata de una prueba de la función. La amilasa es útil sobre todo en el diagnóstico de pancreatitis aguda, en la que ocurren aumentos importantes en las concentraciones séricas en alrededor de 75% de los pacientes. Por lo general, la amilasa en suero aumenta pocas horas después del comienzo de la enfermedad, alcanza un valor máximo en alrededor de 24 h y, debido a su eliminación por los riñones, regresa a lo normal en tres a cinco días, lo que a menudo hace que la amilasa en la orina sea un indicador más sensible de la pancreatitis aguda. La magnitud de la elevación de la enzima no se correlaciona con la gravedad de la enfermedad.

La determinación de la eliminación renal de la amilasa es útil en la detección de incrementos menores o intermitentes en la concentración sérica de esta enzima. Para corregir la disminución en la función glomerular, la expresión más útil es la proporción entre eliminación de amilasa y la eliminación de creatinina, como se muestra a continuación:

$$\frac{\% \text{ de eliminación de amilasa}}{\text{Creatinina}} = 100 \times \frac{AO}{AS} \times \frac{CS}{CO} \quad (\text{Ec. 25-1})$$

donde AO = amilasa en orina

AS = amilasa en suero

CS = creatinina en suero

CO = creatinina en orina

Los valores normales son menores de 3.1%. Se observan valores muy elevados, que promedian alrededor de 8

ESTUDIO DE CASO 25-3

Los padres de un niño de 7 años de edad lo llevan al pediatra con manifestaciones de fiebres frecuentes y deficiencia en el crecimiento. El niño sufrió tres brotes de neumonía durante los dos años anteriores y padeció bronquitis crónica, que le causó cantidades copiosas de tos con esputo mucoide espeso y amarillento. A pesar de mostrar gran apetito, sólo había aumentado entre 0.5 y 1 kg durante los últimos dos años, y era de estatura frágil y pequeña. En especial le gustaban los alimentos salados. Por lo general, presentaba entre tres y cuatro movimientos intestinales voluminosos y de olor fétido. Su hermana de 9 años de edad mostraba estupenda salud.

Preguntas

1. ¿Cuál es la enfermedad más probable?
2. ¿Cuáles pruebas de laboratorio clínico serían las más informativas y cuáles resultados se esperarían?
3. ¿Qué otras pruebas de laboratorio clínico es probable que serían anormales?

o 9%, en presencia de pancreatitis aguda, pero también ocurren en otras afecciones, como quemaduras, sepsis y cetoacidosis diabética.

El uso de la lipasa sérica en la detección clínica de la enfermedad pancreática ha sido afectada en el pasado por problemas técnicos inherentes a los diversos métodos analíticos. Al parecer los métodos analíticos mejorados indican que la lipasa se eleva en suero tan pronto como la amilasa en la pancreatitis aguda, y que dicha elevación persiste por un poco más tiempo que la de amilasa. Como resultado, algunos médicos consideran que la lipasa es más sensible que la amilasa como indicador de pancreatitis aguda u otras causas de necrosis pancreática.

Tanto la amilasa como la lipasa se elevan de manera importante en suero en presencia de muchos otros trastornos (p. ej., administración de opiáceo, carcinoma pancreático, infarto intestinal, obstrucción o perforación y traumatismo pancreático). Además, las concentraciones de amilasa se elevan con frecuencia en paperas, colecistitis, hepatitis, cirrosis, embarazo ectópico interrumpido y macroamilasemia. La electroforesis de amilasa total, si es que está disponible, revelaría incremento en la isoenzima tipo p que, junto con la lipasa, permanece elevada mucho más tiempo que la amilasa total en la pancreatitis aguda. Los valores de lipasa suelen elevarse de manera importante en fracturas óseas y en relación con embolismo de grasas.

Otras pruebas de la función pancreática

En el cuadro 25-2.1 de estudio de caso se resumen las pruebas de laboratorio que tal vez sean útiles en el diagnóstico de enfermedades pancreáticas. Otras pruebas, que diferencian la malabsorción pancreática de la entérica, se analizan en detalle en el capítulo 26, *Función gastrointestinal*. Una de ellas es la prueba de absorción de la D-xilosa. La D-xilosa es un azúcar pentosa que no requiere enzimas pancreáticas para la absorción. En un paciente con sospecha de síndrome de malabsorción, una D-xilosa normal indica insuficiencia pancreática.

La prueba de tolerancia al almidón se desarrolló para diferenciar la malabsorción pancreatogénica de la intestinal. En teoría, un paciente con liberación inadecuada de amilasa pancreática en el intestino delgado tendría un aumento mucho más bajo en las concentraciones de glucosa sanguínea después de la ingestión de una preparación de almidón purificado que una persona con cantidades normales de amilasa. Los resultados se comparan con los de una prueba estándar de tolerancia a la glucosa. Por desgracia, este método de referencia es confuso por el hecho que la prueba de tolerancia a la glucosa a menudo es anormal en pacientes con malabsorción intestinal, así como en más de la mitad de los pacientes con insuficiencia pancreática.

Otro problema es que la gelatinización de almidón, en frío, interfiere con la digestión y la absorción. Además, la digestión del almidón se inicia por secreción de saliva, que continúa en el intestino de pacientes con falta de acidez gástrica. Como resultado, esta prueba rara vez se utiliza.

La determinación de la actividad enzimática proteolítica en heces constituyó un procedimiento habitual para la evaluación de la función exocrina pancreática, en particular en el diagnóstico de fibrosis quística. Dicho procedimiento determina la actividad proteolítica fecal por su capacidad para digerir gelatina en una película de rayos X al producir aclaración de la película. Desafortunadamente, los resultados son de confiabilidad limitada porque muchas bacterias intestinales producen enzimas proteolíticas, además de que las bacterias también destruyen enzimas pancreáticas. Existen análisis más específicos, pero han recibido poca aceptación.

Las pruebas radiográficas, incluyendo rayos X abdominal y de pecho, ultrasonido, duodenografía, tomografía por computadora, endoscopia, angiografía y biopsia pancreática, son herramientas esenciales para el diagnóstico apropiado de los trastornos pancreáticos.¹³

RESUMEN

El páncreas es una glándula digestiva que pesa 70 a 105 g. Consta de dos tejidos diferentes desde el punto de vista morfológico y funcional: tejido endocrino y exocrino. El componente endocrino consiste en los islotes de Langerhans, que secretan cuando menos cuatro hormonas en la sangre: insulina, glucagon, gastrina y somatostatina. El componente pancreático exocrino, que es más grande, secreta enzimas digestivas en los conductos que al final se vacían en el duodeno. La actividad pancreática se encuentra bajo control nervioso y endocrino. Además del traumatismo, sólo tres enfermedades causan más de 95% de la atención médica dedicada al páncreas: fibrosis quística, carcinoma pancreático y pancreatitis. El papel del páncreas en la diabetes mellitus se analiza en el capítulo 11, *Carbohidratos*. De acuerdo con la etiología y el cuadro clínico, la función pancreática tal vez resulte sospechosa cuando hay evidencia del incremento de amilasa y lipasa. Las pruebas de la función pancreática incluyen aquellas usadas para la detección de malabsorción (p. ej., D-xilosa, exceso de grasa, fibra de carne y grasa fecal), pruebas para la medición de otras funciones exocrinas (p. ej., secretina, CCK, tripsina y quimotripsina), pruebas para evaluar los cambios relacionados con obstrucción extrahepática (p. ej., bilirrubina) y pruebas de relación endocrina que reflejan cambios en las células endocrinas del páncreas (p. ej., gastrina, insulina, glucosa y cortisol).

PREGUNTAS DE REPASO

- Los hallazgos de laboratorio en la pancreatitis incluyen todos los siguientes, EXCEPTO:
 - Incremento de amilasa.
 - Incremento de lipasa.
 - Incremento de triglicéridos.
 - Incremento de cortisol.
- ¿Cuál de las siguientes pruebas representa una determinación directa de la capacidad secretora exocrina del páncreas?
 - Amilasa.
 - Análisis cuantitativo de la grasa fecal.
 - Prueba de secretina/CCK
 - Ninguna de las anteriores.
- ¿Cuál de las siguientes afirmaciones concernientes a la fibrosis quística NO es correcta?
 - Ocurre predominantemente en poblaciones de extracción del norte de Europa.
 - Se diagnostica con frecuencia por mediciones del cloruro en el sudor.
 - Afecta a hombres y mujeres casi por igual.
 - Se origina por varias mutaciones en el cromosoma.
 - La valoración genética suele ser infructuosa.
- Es *menos probable* que la fibrosis quística produzca ¿cuál de los siguientes trastornos?
 - Obstrucción intestinal del recién nacido.
 - Infecciones pulmonarias.
 - Cicatrización del páncreas.
 - Cirrosis hepática.
 - Malabsorción intestinal.
- El período apropiado para la recolección de una muestra de grasa fecal es:
 - 24 horas.
 - 36 horas.
 - 48 horas.
 - 72 horas.
 - 96 horas.
- El conducto pancreático principal drena en:
 - Duodeno.
 - Estómago.
 - Vesícula.
 - Colon.
 - Higado.

REFERENCIAS

- Scotet V, Gillet D, Dugueperoux I, et al. Spatial and temporal distribution of cystic fibrosis and of its mutations in Brittany, France: a retrospective study from 1960. *Hum Genet* 2002; 111(3):247–254.
- Corbetta C, Seia M, Bassotti A, et al. Screening for cystic fibrosis in newborn infants: results of a pilot programme based on a two tier protocol (IRT/DNA/IRT) in the Italian population. *J Med Screen* 2002;9(2):60–63.
- Gregg AR, Simpson JL. Genetic screening for cystic fibrosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2002;29(2):329–340.
- Boyd EJ, Wormsley KG. Laboratory tests in the diagnosis of the chronic pancreatic diseases. Part 1. Secretagogues used in tests of pancreatic secretion. *Int J Pancreatol* 1987;2(3):137–148.
- Chesner I, Lawson N. Tests of exocrine pancreatic function. *Ann Clin Biochem* 1994;31(Pt 4):305–314.
- Simko V Sudan stain and quantitative fecal fat. *Gastroenterology* 1990;98(6):1725–1723.
- Huang G, Khouri MR, Shiau YF. Sudan stain of fecal fat: new insight into an old test. *Gastroenterology* 1989;96(2 Pt 1):421–427.
- Boyd EJ, Rinderknecht H, Wormsley KG. Laboratory tests in the diagnosis of the chronic pancreatic diseases. Part 3. Tests on pure pancreatic juice. *Int J Pancreatol* 1987;2(5–6):291–304.
- Farrell PM, Gregg RG, Koscik R, et al. Newborn screening for cystic fibrosis in Wisconsin: comparison of biochemical and molecular methods. *Pediatrics* 1997;99(6):819–824.
- James TJ, Taylor RP. Enzymatic measurement of sweat sodium and chloride. *Ann Clin Biochem* 1997;34(Pt 2):211.
- Stern RC. The diagnosis of cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1997;336(7):487–491.
- Burnett RW, LeGrys VA. Current status of sweat testing in North America: results of the College of American Pathologists Needs Assessment Survey. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118(9):865–867.
- Boyd EJ, Wormsley KG. Laboratory tests in the diagnosis of the chronic pancreatic diseases. Part 2. Tests of pancreatic secretion. *Int J Pancreatol* 1987;2(4):211–251.
- Boyd EJ, Rinderknecht H, Wormsley KG. Laboratory tests in the diagnosis of the chronic pancreatic diseases. Part 4. Tests involving the measurement of pancreatic enzymes in body fluid. *Int J Pancreatol* 1988;3(1):1–16.
- Boyd EJ, Wormsley KG. Laboratory tests in the diagnosis of the chronic pancreatic diseases. Part 5. Stool enzyme measurements. *Int J Pancreatol* 1988;3(2–3):101–103.
- Boyd EJ, Rinderknecht H, Wormsley KG. Laboratory tests in the diagnosis of the chronic pancreatic diseases. Part 6. Differentiation between chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Int J Pancreatol* 1988;3(4):259–240.

LECTURAS RECOMENDADAS

- DiMagno EP, Layer P. Human exocrine pancreatic enzyme secretion. In: Go VLW, DiMagno EP, Gardner JD, et al, eds. *The Pancreas: Biology, Pathobiology and Disease*, 2nd ed. New York: Raven Press, 1993:275–300.
- Owyang C, Williams JA. Pancreatic secretion. In: Yamada T, Alpers DH, Laine L, et al, eds. *Textbook of Gastroenterology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:355–379.
- Pandolf SJ. Pancreatic physiology and secretory testing. In: Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH, eds. *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Diseases: Pathophysiology, Diagnosis, Management*, 7th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2002:871–880.

Función gastrointestinal

Edward P. Fody

26

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- FISIOLÓGÍA Y BIOQUÍMICA DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA
- ASPECTOS CLÍNICOS DEL ANÁLISIS GÁSTRICO
- PRUEBAS DE LA FUNCIÓN GÁSTRICA
 - Mediciones del ácido gástrico en pruebas secretorias basales y máximas
 - Medición del ácido gástrico
 - Gastrina plasmática
- FISIOLÓGÍA INTESTINAL
- ASPECTOS CLINICOPATOLÓGICOS DE LA FUNCIÓN INTESTINAL

- PRUEBAS DE LA FUNCIÓN INTESTINAL
 - Prueba de tolerancia a la lactosa
 - Prueba de absorción de la D-xilosa
 - Carotenoides séricos
 - Análisis de la grasa fecal
 - Otras pruebas de malabsorción intestinal
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS
- LECTURAS RECOMENDADAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Describir la fisiología y bioquímica de la secreción gástrica.
- Enumerar las pruebas usadas para evaluar la función gástrica e intestinal.

- Explicar los aspectos clínicos del análisis gástrico.
- Evaluar el trastorno de un paciente, considerando ciertos datos clínicos.

TÉRMINOS CLAVE

Factor
intrínseco
Gastrina

Pepsina
Prueba de absorción de la
D-xilosa

Prueba de tolerancia a la
lactosa
Secretagogos

Síndrome de Zollinger-
Ellison

El sistema gastrointestinal (GI) se compone de la boca, el esófago, el estómago, el intestino delgado y el intestino grueso. La digestión, que de manera primordial constituye una función del intestino delgado, es el proceso por el que almidones, proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y otras moléculas complejas se degradan a componentes simples (moléculas) para su absorción y uso en el cuerpo. En este capítulo se analiza la fisiología y bioquímica de la secreción gástrica, la fisiología intestinal y los aspectos patológicos de la función intestinal, al igual que las pruebas de las funciones gástrica e intestinal.

FISIOLÓGÍA Y BIOQUÍMICA DE LA SECRECIÓN GÁSTRICA¹

La secreción gástrica ocurre en respuesta a varios estímulos:

- Impulsos neurogénicos del cerebro transmitidos a través de los nervios vagales (p. ej., respuestas a la observación, el olor o la anticipación de comida).
- Distensión del estómago con alimento o líquido.
- Contacto de productos de degradación de proteínas, denominados secretagogos, con la mucosa gástrica.

- La hormona *gastrina* representa el estímulo más potente para la secreción gástrica; se secreta por células G especializadas en la mucosa gástrica y en el duodeno en respuesta a la estimulación vagal y el contacto con secretagogos.

Las influencias inhibitoras incluyen acidez gástrica elevada, que disminuye la liberación de la gastrina por las células G gástricas. El polipéptido inhibitor gástrico se secreta por las células K en el duodeno medio y distal, y en el yeyuno proximal en respuesta a productos alimenticios, como grasas, glucosa y aminoácidos. El polipéptido intestinal vasoactivo, producido por las células H en la mucosa intestinal, inhibe de forma directa la secreción gástrica, la liberación de gastrina y la motilidad gástrica.

El líquido gástrico cuenta con un elevado contenido de ácido clorhídrico, pepsina y moco. El ácido clorhídrico se secreta contra un gradiente del ion hidrógeno de hasta 1 millón de veces la concentración en plasma (es decir, el líquido gástrico alcanza un pH de 1.2 a 1.3 bajo condiciones de estimulación aumentada o máxima). La *pepsina* se refiere a un grupo de enzimas proteolíticas relativamente débiles, con un pH óptimo de alrededor de 1.6 a 3.6, que cataliza todas las proteínas nativas excepto el moco. El componente más importante de la secreción gástrica en términos de fisiología corporal es el *factor intrínseco*, que facilita en gran medida la absorción de la vitamina B₁₂ en el íleon.

ASPECTOS CLÍNICOS DEL ANÁLISIS GÁSTRICO²⁻⁵

El análisis gástrico se utiliza en medicina clínica primordialmente con los siguientes propósitos:

- El análisis gástrico se utilizó de manera amplia en la medicina clínica, pero en la actualidad se le ha reemplazado en gran medida por la endoscopia de fibra óptica y procedimientos radiológicos mejorados.
- El análisis gástrico se utiliza en clínica sobre todo para detectar características de hipersecreción del *síndrome de Zollinger-Ellison*. Este síndrome implica un neoplasma secretador de gastrina, que por lo general se localiza en los islotes pancreáticos, y de manera excepcional concentraciones elevadas de gastrina plasmática. A menudo la secreción basal de una hora sobrepasa los 10 meq, en tanto la proporción entre la secreción basal de una hora y la máxima suele superar el 60% (p. ej., en realidad el estómago no se encuentra en estado basal, sino que más bien está estimulado de manera patológica por la concentración elevada de gastrina plasmática).

Además, en ocasiones se utiliza el análisis gástrico para evaluar la anemia perniciosa en adultos. En este trastorno, se observa atrofia gástrica y el estómago no secreta el factor intrínseco, que se enlaza a la vitamina B₁₂ para impedir su degradación por el ácido gástrico. Por lo general, el pH del fluido gástrico en este trastorno no cae por debajo de 6, incluso con estimulación máxima. El análisis gástrico rara vez contribuye en la determinación del tipo de procedimiento quirúrgico requerido para el tratamiento de úlcera.

Previamente se utilizaron varias sustancias para estimular la secreción gástrica (p. ej., cafeína, alcohol y alimentos de prueba), pero éstos son estímulos submáximos y obso-

letos. De 1953 a finales de la década de 1970, se empleó el fosfato ácido de histamina como un estímulo máximo para la secreción gástrica. Debido a sus efectos adversos, algunos de ellos graves, en la actualidad a la histamina se le ha reemplazado por la pentagastrina, que es un pentapéptido sintético compuesto de los cuatro aminoácidos C-terminales de la gastrina ligada a un derivado de alanina sustituido.

El líquido gástrico normal es translúcido, color gris pálido y un poco viscoso, además de que a menudo tiene un ligero olor acre. El volumen residual no debe exceder 75 ml. En ocasiones las muestras residuales contienen manchas de sangre o son verdes, marrón o amarillas debido al reflujo de bilis durante el procedimiento de intubación. La presencia de partículas alimenticias es anormal e indica obstrucción.

PRUEBAS DE LA FUNCIÓN GÁSTRICA

Mediciones del ácido gástrico en pruebas secretorias basales y máximas²⁻⁵

Después de un ayuno durante la noche, suele realizarse análisis gástrico como prueba basal de una hora, seguido por una prueba estimulada de una hora subsiguiente a la administración de pentagastrina (6 µg/kg por vía subcutánea). Los resultados de la prueba revelan un amplio traslape entre sujetos sanos y pacientes enfermos, excepto por la anacidia, (p. ej., en anemia perniciosa) y la hipersecreción extrema encontradas en el síndrome de Zollinger-Ellison. Por lo general, la úlcera péptica se relaciona con un volumen de secreción normal y producción ácida. La úlcera péptica duodenal suele relacionarse con incremento en el volumen secretorio en las pruebas de secreción basal y máxima. Sin embargo, se observa traslape importante con el rango normal.

Medición del ácido gástrico²

En muestras de secreción estimulada, la capacidad del estómago para secretar contra un gradiente del ion de hidrógeno está determinada por la medición del pH. La producción ácida total en un intervalo programado se determina a partir de la acidez titulable y los volúmenes de las muestras del componente. Después de la intubación, la secreción residual se aspira y retiene. La secreción en los 10 a 30 min subsiguientes se desecha para permitir el ajuste del paciente al procedimiento de intubación. Las muestras se obtienen de manera ordinaria como recolecciones de 15 min para un período de una hora.

La respuesta de la gastrina a la estimulación intravenosa de secretina se utiliza para investigar a pacientes con concentraciones ligeramente elevadas de gastrina en suero. En esta prueba, la secretina porcina pura se inyecta por vía intravenosa, en tanto se recolectan las cifras de gastrina a intervalos de cinco minutos durante los siguientes 30 min. En pacientes con síndrome de Zollinger-Ellison, la concentración de gastrina se eleva cuando menos 100 pg/ml sobre el nivel basal. Los pacientes con ulceración péptica, aclorhidria u otros trastornos muestran un ligero decremento en la concentración gástrica.⁶

Se informan el volumen, el pH y la acidez titulable y el cálculo de la producción ácida de cada prueba, como

es el volumen total y la producción ácida de cada período de prueba (suma de las muestras del componente). Existe importante variación en la producción ácida gástrica entre sujetos sanos en las pruebas de secreción basal y máxima. No obstante, en la prueba basal, la mayoría de los individuos sanos secretan 0 a 6 meq de ácido en un volumen total de 10 a 100 ml. En la prueba máxima de una hora, con el uso de histamina o pentagastrina como estímulo, la mayoría de los hombres secreta 1 a 40 meq de ácido en un volumen total de 40 a 350 ml. Por lo general, las mujeres y personas mayores secretan un poco menos de ácido que los hombres jóvenes.

Gastrina plasmática⁶

La medición de las concentraciones de gastrina plasmática resulta invaluable en el diagnóstico del síndrome de Zollinger-Ellison, en el que los valores en ayunas a menudo sobrepasan los 1 000 pg/ml y alcanzan los 400 000 pg/ml, en comparación con el rango normal de 50 a 150 pg/ml. Por lo general, la gastrina no aumenta en presencia de enfermedad de úlcera péptica simple. En la mayoría de los pacientes con anemia perniciosa, no ocurre aumento de la gastrina plasmática, pero ésta disminuye a lo normal cuando el ácido clorhídrico se introduce de manera artificial en el estómago.

FISIOLOGÍA INTESTINAL

La *digestión*, predominantemente una función del intestino delgado, constituye el proceso en el que almidones, proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y otras moléculas

complejas se degradan a monosacáridos, aminoácidos y oligopéptidos, ácidos grasos, purinas, pirimidinas y otros componentes simples. En la mayor parte de las moléculas grandes, la digestión es necesaria para que se produzca la absorción. Cada día, el duodeno recibe alrededor de 7 a 10 L de agua y alimento ingeridos, y secreción de las glándulas salivales, el estómago, el páncreas y el tracto biliar. Luego los materiales ingresan al yeyuno y al íleon, donde se agregan 1 a 1.5 L de secreciones adicionales. Sin embargo, al final sólo alrededor de 1.5 L de material líquido llega al *ciego*, que es la primera porción del colon o intestino grueso. Esta importante capacidad de absorción es posible porque el intestino delgado (de alrededor de 6 m de largo) posee numerosos pliegues mucosales, proyecciones diminutas de la superficie luminal denominadas *vellosidades* y proyecciones microscópicas en las células mucosas conocidas como *microvellosidades*, que en conjunto aumentan en gran medida la superficie secretora y de absorción a un estimado de 200 m². La absorción tiene lugar por difusión pasiva para algunas sustancias y por transporte activo para otras. Además, el intestino delgado secreta de manera activa electrólitos y otros productos metabólicos. El intestino grueso (de alrededor de 1.5 m de largo) tiene dos funciones principales: reabsorción de agua, en la que los 1.5 L de líquido recibidos por el ciego se reducen a 100 a 300 ml de heces, y el almacenamiento de heces antes de la defecación. En la figura 26-1 se muestran de manera gráfica las estructuras abdominales que constituyen el tracto alimentario.

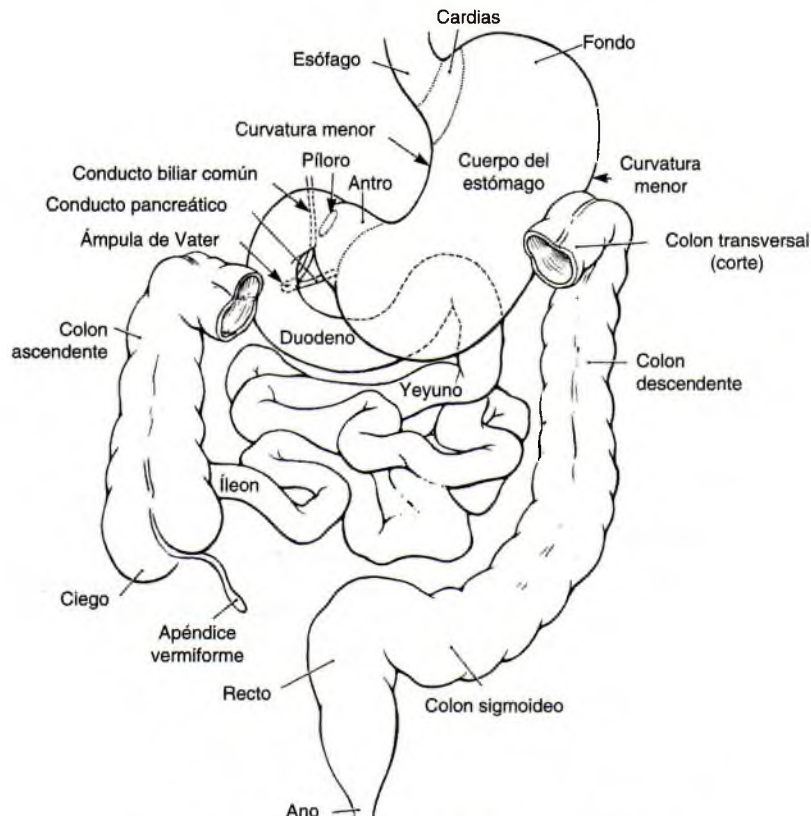


FIGURA 26-1. Estructuras abdominales del tracto alimentario.

ESTUDIO DE CASO 26-1

Un hombre de 34 años de edad se sometió a evaluación diagnóstica, con queja de dolor epigástrico de dos años de duración, descrito de manera diversa como corrosivo o quemante. Se le diagnosticó úlcera peptídica duodenal hace 18 meses; en aquel momento, la terapia de antiácidos y la revisión de la dieta proporcionaron alivio considerable de los síntomas. En fecha reciente, el dolor se volvió más persistente y despertaba al paciente entre cuatro y seis veces cada noche. Los estudios radiológicos revelaron un cráter de la úlcera de 2.5 cm en la primera porción del duodeno y una úlcera de 0.5 cm en el antro del estómago. Los electrolitos séricos fueron normales. La hemoglobina fue de 8.3 g/dl con índices de células sanguíneas rojas normales. El recuento sanguíneo de células blancas fue de de 13 100. El análisis

gástrico reveló 640 ml de secreción en la hora basal, con un gasto ácido de 38 meq, y 780 ml de secreción en la prueba de estimulación de pentagastrina de una hora, con un gasto ácido de 48 meq.

Preguntas

1. ¿Cuál es la enfermedad probable?
2. Ante los datos existentes, ¿cuál otra prueba sería diagnóstica para esta enfermedad?
3. ¿Cuál es la explicación de la disminución de hemoglobina y el aumento del recuento de células sanguíneas blancas?

ASPECTOS CLINICOPATOLÓGICOS DE LA FUNCIÓN INTESTINAL

Las pruebas de la química clínica de la función intestinal se centran casi por completo en la evaluación de la absorción y sus alteraciones en varios estados de enfermedad. Como se analiza en el capítulo 25, *Función pancreática*, las enfermedades del páncreas exocrino y del tracto biliar también llegan a causar malabsorción. Las enfermedades intestinales que desencadenan el síndrome de malabsorción son muy variadas en cuanto a su etiología, patogénesis y gravedad. Estas enfermedades y trastornos intestinales incluyen esprue tropical y no tropical o celiaco, enfermedad de Whipple, enfermedad de Crohn, linfoma intestinal primario, resección del intestino delgado, limfangiectasia intestinal, isquemia, amiloidosis y giardiasis. Además del síndrome de malabsorción, que en condiciones normales causa alteración en la absorción de grasas, proteínas, carbohidratos y otras sustancias, también se observan estados específicos de malabsorción (p. ej., deficiencia adquirida de lactasa, lo que impide la absorción normal de lactosa, y síndrome de Hartnup, una afección genética que implica el transporte intestinal deficiente de fenilalanina y leucina).

PRUEBAS DE LA FUNCIÓN INTESTINAL

Prueba de tolerancia a la lactosa¹⁰

Los disacáridos, la lactasa (que fracciona la lactosa en glucosa y galactosa) y la sucrosa (que fracciona la sucrosa en glucosa y fructosa) se producen por las células mucosas del intestino delgado. Las deficiencias congénitas de estas enzimas son raras, pero en adultos suelen encontrarse deficiencias adquiridas de la lactasa. Los pacientes afectados experimentan molestia abdominal, calambres y diarrea después de ingerir leche o productos lácteos. Cerca del 10 a 20% de caucásicos estadounidenses y 75% de los afroestadounidenses padecen esta afección.

La prueba de la tolerancia a la lactosa se empleaba para establecer este diagnóstico, pero la prueba está sujeta a muchos resultados falsos positivos y falsos negativos. Se le ha reemplazado en gran medida por la prueba de respiración de hidrógeno.

Prueba de absorción de la D-xilosa^{11,12}

La D-xilosa es un azúcar pentosa que, en condiciones normales, no se encuentra presente en la sangre en cantidad significativa. Al igual que con otros monosacáridos, los azúcares pentosas son absorbidos sin alteración en el intestino delgado proximal y no requieren la intervención de las enzimas líticas pancreáticas. Por tanto, la capacidad para absorber D-xilosa es valiosa en la diferenciación de la malabsorción de etiología intestinal de aquella por insuficiencia pancreática. Debido a que sólo alrededor de la mitad de la D-xilosa administrada por vía oral se metaboliza o se pierde por acción de las bacterias intestinales, cantidades importantes se excretan sin cambio en la orina. Algunos protocolos han usado la medición de sólo la D-xilosa excretada por la orina durante las cinco horas siguientes a la ingestión de una dosis de 25 g por un adulto en ayunas (0.5 g/kg en niños). Aun con función renal normal, a menudo ocurren resultados falsos positivos y falsos negativos. Las concentraciones sanguíneas medidas una o más veces después de la ingestión de D-xilosa (p. ej., a 30 min, 1 h, 2 h) mejoran en gran medida la confiabilidad diagnóstica de la prueba. En algunos protocolos se utilizan dosis más pequeñas de D-xilosa para evitar calambres abdominales, hipermotilidad intestinal y diarrea osmótica, que aparecen con frecuencia en la dosis de 25 g.

Prueba de la D-xilosa

Después de la ingestión de una solución especificada de D-xilosa, se obtienen las muestras sanguíneas y se recolecta la orina por un período de cinco horas para determinar el grado de absorción de la D-xilosa. La concentración de la D-xilosa se determina por calentamiento de supernates

libres de proteínas de orina y plasma para convertir xilosa a furfural, que luego reacciona con la p-bromoanilina para formar un producto rosa, con una absorbancia medida a 520 nm. La tiourea se añade como antioxidante para prevenir la formación de cromógenos interferentes. Después del ayuno nocturno, el paciente evacua y bebe una solución de D-xilosa: 25 g en 250 ml de agua en adultos y 0.5 g/kg en niños, o la dosis que se establezca. El paciente ingiere una cantidad equivalente de agua durante la próxima hora. No se tomará ningún alimento o líquido adicional hasta que se complete la prueba. La orina se recolecta a las cinco horas después de la ingestión de D-xilosa. Se recolecta una muestra sanguínea en oxalato de potasio a las dos horas (por lo general, se elige una hora en niños).

Las concentraciones sanguíneas normales de D-xilosa en relación con decremento en la excreción de orina sugieren deterioro de la función renal o recolección de orina incompleta. La terapia con aspirina disminuye la excreción renal de la D-xilosa, en tanto la indometacina reduce la absorción intestinal. Después de la ingestión de una dosis de 25 g de D-xilosa, los adultos sanos deben excretar cuando menos 4 g en el período de cinco horas. En lactantes y niños, la excreción después de una dosis de 0.5 g/kg para varias edades expresada como porcentajes de dosis ingerida se muestra en el cuadro 26-1. La concentración sanguínea en adultos sanos varía de manera amplia, pero si es menor a 25 mg/dl a las dos horas se le considerará anormal después de la dosis de 25 g. Con la dosis de 0.5 g/kg, los lactantes menores de 6 meses de edad mostrarán una concentración sanguínea de cuando menos 15 mg/dl a una hora, en tanto los mayores de 6 meses y niños alcanzarán cuando menos 30 mg/dl.^{5,11}

Carotenoides séricos

Los carotenoides son varios pigmentos de color amarillo a naranja o púrpura que se distribuyen de manera extensa en el tejido animal. Son sintetizados por muchas plantas e imprimen color amarillo a algunos vegetales y frutas. Los principales carotenoides en el suero humano son licopeno; xantofila; y beta-caroteno, el precursor principal de la vitamina A en seres humanos. Al ser solubles en grasa, los carotenoides se absorben en el intestino delgado en relación con lípidos. Por lo general, la malabsorción de lípidos da como resultado una concentración sérica de carotenoides más baja que el rango de referencia de 50 a 250 mg/dl. La inanición, idiosincrasias dietéticas y fiebre

causan, también, disminución de las concentraciones séricas. La prueba no distingue entre las diversas etiologías de la malabsorción.

Análisis de la grasa fecal

Como se analizó en el capítulo 25, *Función pancreática*, el incremento en la pérdida de grasa fecal, o estatorrea, constituye una manifestación integral del síndrome de malabsorción general. Sin embargo, la presencia de estatorrea y la documentación de su gravedad no son útiles en la distinción entre las diversas etiologías de malabsorción, con excepción de que la estatorrea grave rara vez se origina por obstrucción biliar.

Otras pruebas de malabsorción intestinal

Deficiencia de numerosos analitos ocurren en relación con malabsorción intestinal. Por lo general, la medición de estos analitos es valiosa, no tanto para confirmar el diagnóstico de malabsorción, sino para determinar la magnitud de deficiencia nutritiva y, por tanto, la necesidad de terapia de reemplazo. La disminución del apetito y la ingesta dietética suele ser más graves en pacientes que padecen malabsorción con etiología intestinal. El desgaste corporal o caquexia tal vez sean graves. A menudo, debido a que la pérdida de albúmina en el lumen intestinal y la disminución de ingesta dietética de proteína acompañan la reducción de la absorción de oligopéptidos y aminoácidos, ocurre equilibrio de nitrógeno negativo junto con disminución de proteína y albúmina totales en suero. Una albúmina sérica de menos de 2.5 g/dl es mucho más característica de enfermedad intestinal que de enfermedad pancreática. En relación con enfermedad grave del intestino delgado, ocurren deficiencias de las vitaminas A, D, E y K solubles en grasa. La deficiencia de vitamina K, a su vez, causa deterioro de los factores de coagulación II (protrombina), VII (proconvertina), IX (componente tromboplastina del plasma) y X (factor Stuart-Prower) dependientes de la vitamina K, lo que se refleja en el tiempo de protrombina anormal y pruebas de tiempo de tromboplastina parcial.

En presencia de enfermedad grave del intestino delgado, como esprue tropical o celiaco, llega a aparecer malabsorción de folato y vitamina B₁₂, en tanto la anemia megaloblástica es más bien frecuente y de cierta utilidad en distinción entre enfermedad intestinal y pancreática. Por lo general, la absorción de hierro disminuye. Además, la tendencia a valores de hierro sérico bajos tal vez se agrave por pérdida sanguínea intestinal. La absorción intestinal de calcio a menudo disminuye como resultado de la unión del calcio por ácidos grasos sin absorber, y la deficiencia de vitamina D y disminución del magnesio sérico. Debido a que la absorción y el metabolismo de sodio, potasio y agua también pudieran estar dañados en forma importante, las concentraciones séricas de sodio y potasio se reducen y sobreviene deshidratación. El deterioro en la absorción de carbohidratos en presencia de enfermedades intestinales, como esprue, ocasiona disminución hacia las curvas de concentración sanguínea horizontales en las pruebas de tolerancia a la glucosa, lactosa y sucrosa.

CUADRO 26-1. RESULTADOS DE LA D-XILOSA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS^{2,4}

EDAD	RANGO DE REFERENCIA
Menor de 6 meses	11 a 33%
6 a 12 meses	20 a 32%
1 a 3 años	20 a 42%
3a 10 años	25 a 45%
Mayor de 10 años	25 a 50%

ESTUDIO DE CASO 26-2

Una mujer de 26 años apareció en la clínica de pacientes externos con molestia abdominal, diarrea y pérdida de peso no intencional de 8 kg durante los últimos dos a tres años. Ella informa un período similar de cinco a seis años de dolor abdominal y diarrea en la niñez, pero en esencia desapareció alrededor de los 12 a 13 años de edad. Ahora tiene entre tres y cinco movimientos intestinales diarios, que describe como voluminosos, fétidos y fluctuantes. La mujer presentó un peso de 48 kg y estatura de 1.70 m. Nunca se había sometido a procedimientos quirúrgicos. El examen físico reveló turgor deficiente de la piel, palidez general y abdomen protuberante. Los valores de laboratorio clínico anormales incluyeron los que se muestran en el cuadro 26-2.1 del estudio de caso.

El examen fecal no reveló óvulos ni parásitos, en tanto el cultivo bacteriológico no mostró patógenos.

Preguntas

1. ¿Cuál es el proceso de enfermedad?
2. ¿Cuál es la probable etiología en este caso?
3. ¿Cuál es la causa de las pruebas de coagulación anormales?
4. ¿Cuál es la probable causa principal de la anemia, y cuáles son otras posibles causas contribuyentes?

CUADRO DE ESTUDIO DE CASO 26-2.1.
RESULTADOS DE LABORATORIO

ANALITO	RESULTADO
Hemoglobina	8.1 g/dl
Hematócrito	30%
RSC	$4.1 \times 106/\mu\text{l}$
Sodio sérico	134 meq/L
Potasio	3.4 meq/L
Carotenoides séricos	14 $\mu\text{g/dl}$
Grasa fecal	22 g/24 h
Prueba de absorción de D-xilosa (dosis de 25 g)	Excreción de cinco horas de 1.3 g y concentración sanguínea a las dos horas de 8 mg/dl
Tiempo de protrombina	15.8 segundos (12 a 14 s)
Tiempo de tromboplastina parcial activado	56 segundos (30 a 45 s)

RESUMEN

La secreción gástrica ocurre en respuesta a varios estímulos. El análisis gástrico se realiza para detectar la hipersecreción característica del síndrome de Zollinger-Ellison. La medición de las concentraciones de gastrina plasmática también se utiliza en el diagnóstico del síndrome de Zollinger-Ellison. La digestión es una función predominante del intestino delgado. Las pruebas de química clínica de la función intestinal se centran casi por completo en

la evaluación de la absorción y sus alteraciones en diversos estados de enfermedad. Entre las enfermedades y los trastornos intestinales se incluyen enfermedad de Whipple, enfermedad de Crohn, esprue, amiloidosis y giardiasis. Además, existen síndrome o estados de malabsorción graves (p. ej., deficiencia adquirida de lactosa y síndrome de Hartnup). Las pruebas de la función intestinal incluyen la prueba de la D-xilosa, carotenoides séricos y análisis de grasa fecal.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Cuál de las siguientes pruebas es sólo de la capacidad de absorción del intestino?
 - a) Prueba de tolerancia a la lactosa.
 - b) Prueba de la D-xilosa.
 - c) Grasa fecal (recolección de 72 h).
 - d) Carotenoides séricos.
 - e) Albúmina sérica.
2. En condiciones normales, la cantidad más pequeña de D-xilosa se absorbe por pacientes:
 - a) Menores de 1 año de edad.
 - b) De entre 1 y 3 años de edad.
 - c) De entre 3 y 5 años de edad.
 - d) De entre 5 y 10 años de edad.
 - e) Adultos.

3. En una prueba de acidez gástrica, un paciente produce 50 ml de líquido gástrico. Una alícuota de 5 ml de este líquido requiere 10 ml de 0.1 N NaOH para titular a un pH de 7.0. Calcule el gasto ácido en miliequivalentes (meq).
 - a) 2.
 - b) 4.
 - c) 6.
 - d) 8.
 - e) 10.
4. Los resultados de la pregunta anterior podrían encontrarse en los siguientes casos, EXCEPTO en:
 - a) Síndrome de Zollinger-Ellison.
 - b) Úlcera péptica.
 - c) Estimulación previa con pentagastrina.
 - d) Anemia perniciosa.
 - e) Una persona sana.
5. ¿En cuál de los siguientes casos podrían aumentar las concentraciones de gastrina?
 - a) Úlceración péptica.
 - b) Síndrome de Zollinger-Ellison.
 - c) Aclorhidria.
 - d) Amilosis.
6. Las concentraciones sanguíneas normales de D-xilosa, con disminución de la excreción de D-xilosa en orina, sugieren:
 - a) Recolección de orina incompleta.
 - b) Afección de la función renal.
 - c) Intolerancia a la lactosa.
 - d) a y b.
7. Una albúmina sérica menor de 2.5 g/dl sería más indicativa de:
 - a) Enfermedad intestinal.
 - b) Pancreatitis.
 - c) Úlcera péptica.
 - d) Carcinoma pancreático.
8. Con respecto a las pruebas secretorias basales y máximas de ácido gástrico, la úlcera péptica por lo general se relaciona con:
 - a) Aumento en el volumen secretor para las pruebas basal y máxima.
 - b) Volumen secretor normal y gasto ácido.
 - c) Disminución del volumen secretor para las pruebas basal y máxima.
 - d) Ninguna de las anteriores.

REFERENCIAS

1. Schubert ML, Shamburek RD. Control of acid secretion. *Gastroenterol Clin North Am* 1990;19(1):1-25.
2. Hung PD, Schubert ML, Mihas AA. Zollinger-Ellison syndrome. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2003;6(2):163-170.
3. Metz DC, Starr JA. A retrospective study of the usefulness of acid secretory testing. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14(1):103-111.
4. Hirschowitz BI, Simmons J, Mohnen J. Long-term lansoprazole control of gastric acid and pepsin secretion in ZE and non-ZE hypersecretors: a prospective 10-year study. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15(11):1795-1806.
5. Rosenfeld L. Gastric tubes, meals, acid, and analysis: rise and decline. *Clin Chem* 1997;43(5):837-842.
6. Berger AC, Gibril F, Venzon DJ, et al. Prognostic value of initial fasting serum gastrin levels in patients with Zollinger-Ellison syndrome. *J Clin Oncol* 2001;19(12):3051-3057.
7. Cadiot G, Mignon M. Diagnostic and therapeutic criteria in patients with Zollinger-Ellison syndrome and multiple endocrine neoplasia type 1. *J Intern Med* 1998;243(6):489-494.
8. Hung PD, Schubert ML, Mihas AA. Zollinger-Ellison syndrome. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2003;6(2):163-170.
9. Metz DC, Buchanan M, Purich E, Fein S. A randomized controlled crossover study comparing synthetic porcine and human secretins

with biologically derived porcine secretin to diagnose Zollinger-Ellison syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15(5):669-676.

10. Korpela R, Peuhkuri K, Poussa T. Comparison of a portable breath hydrogen analyser (Micro H2) with a Quintron MicroLyzer in measuring lactose maldigestion, and the evaluation of a Micro H2 for diagnosing hypolactasia. *Scand J Clin Lab Invest* 1998;58(3):217-224.
11. Kuno C, Watanabe J, Yuasa H. Comparative assessment of D-xylose absorption between small intestine and large intestine. *J Pharm Pharmacol* 1997;49(1): 26-29.
12. Hamanaka Y, Oka M, Suzuki T, et al. Oral absorption tests: absorption site of each substrate. *Nutrition* 1998;14(1):7-10.

LECTURAS RECOMENDADAS

- Chey WD, Chey WY. Tests of gastric and exocrine pancreatic function and absorption. In: Yamada T, Alpers DH, Laine L, et al, eds. *Textbook of Gastroenterology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:2924-2937.
- Feldman M. Gastric secretion. In: Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH, eds. *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Diseases: Pathophysiology, Diagnosis, Management*, 7th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2002:715-731.

Análisis de los líquidos corporales

Frank A. Sedor

CAPÍTULO

27

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- LÍQUIDO AMNIÓTICO
- LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO
- SUDOR
- LÍQUIDO SINOVIAL
- LÍQUIDOS SEROSOS
 - Líquido pleural
 - Líquido pericárdico
 - Líquido peritoneal
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS
- LECTURAS RECOMENDADAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Identificar las fuentes de los líquidos amniótico, cefalorraquídeo, sinovial, pleural, pericárdico y peritoneal, y sudor.
- Describir el propósito fisiológico de los líquidos amniótico, cefalorraquídeo, sinovial, pleural, pericárdico y peritoneal, y sudor.
- Establecer la utilidad clínica de las pruebas de los líquidos amniótico, cefalorraquídeo, sinovial, pleural, pericárdico y peritoneal, y sudor.
- Interpretar el estado del paciente, considerando los resultados de un índice de estabilidad de la espuma, índice L/E y prueba del sudor.
- Diferenciar entre un trasudado y un exudado.

TÉRMINOS CLAVE

Amniocentesis
Ascitis
Efusión
Exudado
Hipoglucorraquia

Índice L/E
Líquido amniótico
Líquido pericárdico
Líquido peritoneal
Líquido pleural

Líquido sérico
Líquido sinovial
Otorrea
Rinorrea

Síndrome del dolor respiratorio
Toracentesis
Trasudado

En este capítulo se trata de dar a conocer al lector varios líquidos que a menudo se analizan en el laboratorio de química clínica. En términos generales, se pone énfasis en la fuente, el propósito fisiológico y la utilidad clínica de las mediciones de laboratorio para cada uno de estos líquidos corporales.

LÍQUIDO AMNIÓTICO

El saco amniótico proporciona un ambiente cerrado para el desarrollo fetal. Este saco posee doble cubierta como resultado de la fusión de las membranas amniótica (interna) y coriónica (externa) en una fase inicial del desarrollo fetal. El feto está suspendido en el *líquido amniótico* (LA) dentro del saco. El LA proporciona un medio amortiguador para el feto y sirve como matriz para el influjo y eflujo de los componentes.

Obviamente, la madre será la última fuente fisiológica de LA. Dependiendo del intervalo del período de gestación, el líquido se deriva de diferentes fuentes. Al comienzo del embarazo, cierta secreción materna a través del amnios contribuye al volumen. Poco después de la formación de la placenta, el embrión y la fusión de membranas, el LA se produce en gran medida por transudación a través de la piel fetal. En la última mitad del embarazo, la piel se vuelve mucho menos impermeable, y la micción fetal, o urinación, se convierte en la principal fuente de volumen. El destino del líquido también varía de acuerdo con el período de gestación. Se presume que ocurre un intercambio bidireccional a través de las membranas y en la placenta. Del mismo modo, durante las primeras etapas del embarazo, la piel fetal está implicada. En la segunda mitad del embarazo, el mecanismo de deglución fetal constituye el principal destino del LA. Existe un equilibrio dinámico establecido entre la producción y la degradación. La micción y deglución fetales mantienen este equilibrio. La deglución continua conserva el contacto íntimo del LA con el tracto gastrointestinal fetal, la cavidad bucal y el árbol broncotraqueal. Este contacto se evidencia por el material desprendido del feto que proporciona “la ventana” al desarrollo y las fases funcionales fetales.

Las células encontradas en el líquido se originan con el feto, y el contenido químico refleja la deglución y eliminación continuas de líquido. Se obtiene una muestra de líquido por *amniocentesis* transabdominal (perforación del saco amniótico), que se realiza bajo condiciones asépticas. Antes de tratar de obtener líquido, las posiciones de la placenta, el feto y las bolsas de líquido se visualizan mediante ultrasonografía. La aspiración de cualquier material distinto al líquido tal vez conduzca a conclusiones erróneas, así como posible daño al feto.

Se realizan amniocentesis y análisis subsiguiente del LA para la prueba de *a)* enfermedades congénitas, *b)* defectos en el tubo neural, *c)* enfermedad hemolítica, *d)* edad gestacional y *e)* desarrollo pulmonar fetal. El primero, diagnóstico de anormalidad genética, se logra por cultivo celular. El líquido obtenido entre las semanas 14 y 20 de embarazo se recolecta para células de origen fetal. Las células se cultivan, se recolectan para análisis cromosómico y se

lisan, de modo que es necesario determinar los contenidos enzimáticos para la valoración en busca de defectos metabólicos. Este procedimiento ha sido reemplazado en gran medida por el uso del muestreo de vello coriónico (MVC) y análisis citogénico. Es posible que el MVC plantee un riesgo para el feto, en tanto la amniocentesis del primer trimestre quizá proporcione una muestra con menos sustancias de interferencia.

Al principio la valoración de los defectos del tubo neural (DTN) se realiza mediante suero maternal. Originalmente se pensaba que la presencia de concentraciones elevadas de α -fetoproteína (AFP) indicaba DTN, como espina bífida y anencefalia. Además, la elevación de la AFP sérica materna se relaciona de manera estrecha con hernias abdominales dentro del cordón umbilical, higroma cístico y resultados deficientes en el embarazo. La AFP sérica materna baja se relaciona con incremento en la incidencia de síndrome de Down y otros aneuploides. Por lo general, se considera que el protocolo para la comprobación de AFP incluye: *a)* AFP sérica materna, a menudo con examen de hCG, estríol no conjugado e inhibina; *b)* repetición, si es que es positivo; *c)* ultrasonido diagnóstico; y *d)* amniocentesis para confirmación. La interpretación de la prueba de AFP sérica materna es compleja, ya que se trata de una función de la edad, la raza, el peso, la edad gestacional y el nivel de nutrición.

La prueba de la AFP del líquido amniótico (AFPLA) constituye el procedimiento confirmatorio. La AFP es un producto primario del saco vitelino fetal y, después, del hígado fetal. Se libera en la circulación fetal y se presume que entra al LA por trasudación. La entrada en la circulación materna podría darse por traspaso de la placenta o a partir del LA. Si hubiera un defecto abierto (p. ej., espina bífida) que causara un incremento en la AFPLA, habría un aumento concomitante en la AFP sérica materna. Bajo condiciones normales, la AFPLA se eliminaría por deglución y metabolismo fetal. Una mayor presencia sobrecarga este mecanismo, lo que produce elevación de la AFPLA. A menudo se realiza examen de la proteína por medios inmunológicos. La falta de tratamiento de una presencia positiva y la ausencia de 100% de especificidad aumenta la necesidad de cuidado extremo en el análisis. Las preocupaciones sociales y clínicas establecen que se practiquen los niveles más elevados de control de calidad.

Esta preocupación generó la necesidad de una segunda prueba para confirmar DTN y defectos de la pared abdominal. El método empleado es el análisis de una acetilcolinesterasa (ACE) específica para el sistema nervioso central (SNC). El DTN permite el paso directo, o menos difícil, de la ACE al LA. El análisis de la ACE específica del SNC en el LA ofrece entonces un grado de confirmación para la AFPLA. Los métodos usados para la ACE del SNC incluyen los enzimáticos, inmunológicos y electroforéticos con inhibición. Estos últimos abarcan el uso de acetiltiocolina como sustrato y BW284C51, un inhibidor específico del SNC, para diferenciar la pseudocolinesterasa sérica de la ACE específica del SNC.

El análisis del LA para valorar enfermedad hemolítica en el recién nacido (eritroblastosis fetal) fue el primer

procedimiento de laboratorio reconocido realizado en el LA. La enfermedad hemolítica del recién nacido es un síndrome del feto que se produce por la incompatibilidad de ABO de la sangre materna y fetal. Los anticuerpos maternos a los eritrocitos fetales causan una reacción hemolítica con gravedad variable. Los productos resultantes de la degradación de la hemoglobina, sobre todo bilirrubina, aparecen en el LA y proporciona una medida de la gravedad de la reacción de incompatibilidad.

El método utilizado con mayor frecuencia es una tomografía espectrofotométrica directa de LA diluido, con cálculo posterior de la cantidad de bilirrubina relativa. Por lo general, se informa la absorbancia debida a la bilirrubina, en lugar de la concentración de bilirrubina. El método con-

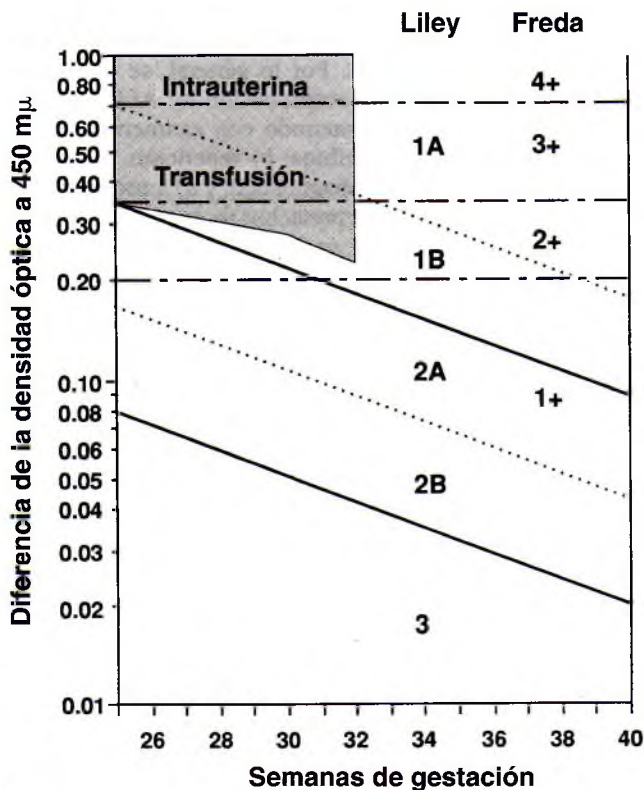


FIGURA 27-1. Valoración de la prognosis fetal. Método de Liley: 1A, sobre la línea punteada, condición urgente, parto o transfusión inmediata; 1B, entre las líneas punteada y continua, hemoglobina >8 g/100 ml, parto o transfusión (área sombreada) urgente; 2A, entre líneas continua y punteada, hemoglobina de 8 a 10 g/100 ml, parto de 36 a 37 semanas; 2B, entre líneas punteada y continua, hemoglobina de 11 a 13.9 g/100 ml, parto de 37 a 39 semanas; 3, debajo de línea continua, sin anemia, parto a término.

Método de Freda: 4+, arriba de la línea horizontal superior, muerte fetal inminente, parto o transfusión inmediata; 3+, entre líneas horizontales superior y media, feto en riesgo, muerte en tres semanas, parto o transfusión lo más pronto posible; 2+, entre líneas horizontales media e inferior, supervivencia fetal durante cuando menos 7 a 10 días, repetir la prueba, posible indicación de transfusión; 1+, debajo de la línea horizontal inferior, feto sin peligro inmediato de muerte. (Modificada de Robertson JG, Evaluation of the reported methods of interpreting spectrophotometric tracings of amniotic fluid in rhesus isoimmunization, Am J Obstet Gynecol, 1966;95:120.)

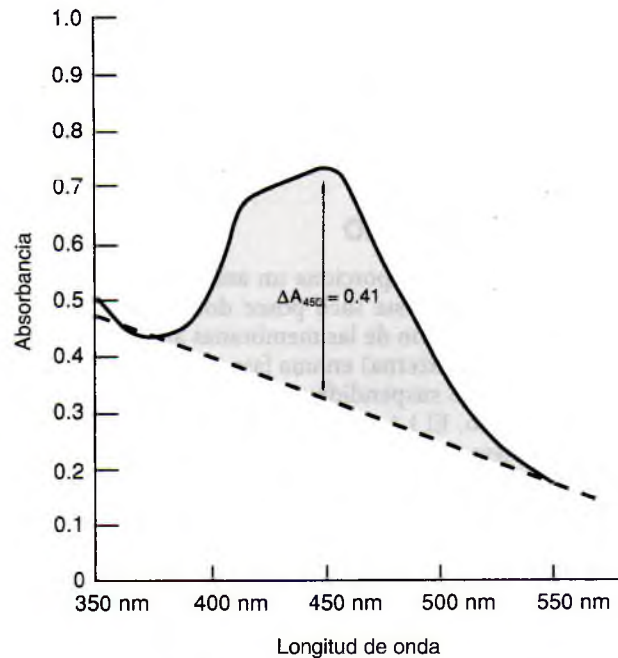


FIGURA 27-2. $\Delta A_{450 \text{ nm}}$ de la tomografía de la bilirrubina del LA.

siste en análisis del LA de 700 a 350 nm contra un blanco de agua. Las absorbancias resultantes se utilizan de manera diferente para obtener la información necesaria. El método habitual, de Liley,¹ requiere el registro de las observaciones a intervalos de 5 nm contra la longitud de onda, en papel semilogarítmico. Se crea una línea basal de 550 a 350 nm. El cambio a 450 nm se produce por la bilirrubina.

La interpretación del espectro se realizará con cuidado. Es posible tomar una decisión de tratamiento con base en el grado de hemólisis y la edad gestacional. Las opciones de tratamiento más bien limitadas son parto inmediato, transfusión intrauterina u observación. La transfusión se lleva a cabo a través de la arteria umbilical y se titula para el hematocrito deseado. Se han propuesto varios algoritmos para ayudar a tomar una decisión (fig. 27-1). En la figura 27-2 se muestra un ejemplo de una tomografía de bilirrubina sencilla. La mayor parte de las interferencias frecuentes son orina materna (a partir de la interdicción de la vejiga), sangre fetal o materna y meconio (material fecal fetal). Aunque la luz no interfiere por sí misma, se deben mantener los resguardos contra la exposición a la luz, en especial la luz del Sol, antes del análisis. Es posible que la luz degrade la bilirrubina presente, lo que produce subestimación de la gravedad de la enfermedad hemolítica.

En la figura 27-3 se muestran ejemplos de interferencias, en comparación con una muestra normal. Cada laboratorio debe recopilar su propio catálogo de ejemplos reales para el análisis espectrofotométrico. La presencia de sangre se identifica por absorbancias de Soret de hemoglobina a 410-415 nm. La presencia de orina se identifica por la curva ancha y confirmada por análisis de creatinina, urea y proteína. La presencia de meconio se establece por el color claramente verdoso y la curva de absorbancia llana.

En el tratamiento del embarazo, es importante conocer la edad gestacional. A menudo se utilizan resultados de laboratorio en la evaluación de la edad. La aclaración de un analito para reflejar la edad gestacional dio como resultado la catalogación de todos los componentes conocidos en suero. Cuatro parámetros se utilizan con cierto grado de frecuencia: creatinina, urea, ácido úrico y osmolalidad. Se piensa que la creatinina refleja masa muscular fetal; la urea, proteína; el ácido úrico, nucleoproteínas; y la osmolalidad, una combinación de todas ellas. El problema del uso de estos parámetros es el amplio rango de concentración para edades gestacionales determinadas. Los rangos son tan amplios que ocurre traslape importante, lo que conduce a la imposibilidad de realizar predicciones precisas. En la práctica, la creatinina es el parámetro usado. Se asume que un líquido con un valor de 2 g/dl es maduro. Nótese que esto no es efectivo en aberraciones del volumen de LA (p. ej., oligohidramnios o volumen del LA pequeño). La ultrasonografía se ha vuelto la mejor herramienta para estimar el daño fetal y la edad gestacional.

La principal razón para la prueba del LA es la necesidad de evaluar la madurez pulmonar fetal. Todos los sistemas orgánicos están en riesgo de ser prematuros, pero el estado de los pulmones fetales constituye una prioridad desde una perspectiva clínica. La disponibilidad de pruebas de laboratorio que proporcionen una indicación de la madurez también ha impulsado este énfasis. Como resultado, se pregunta al laboratorio si se reflejan suficientes fosfolípidos específicos en el LA para prevenir atelectasia (colapso alveolar), en caso de que se dé a luz al feto. Este aspecto es importante al contemplar el parto pretérmino debido a

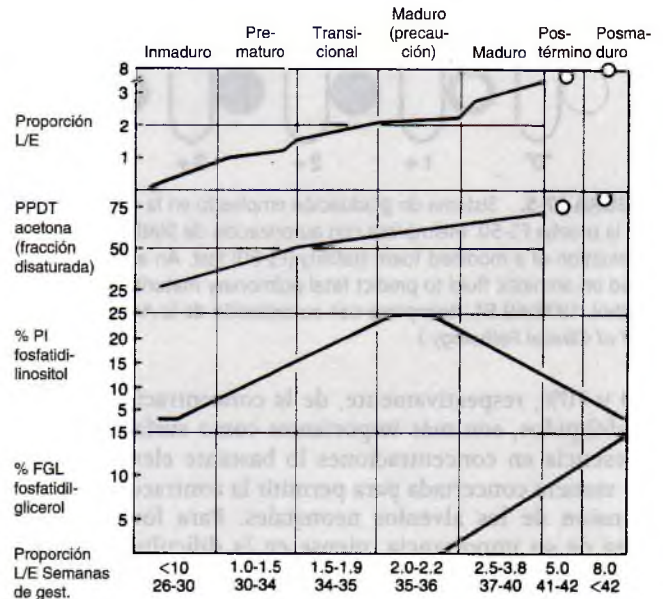


FIGURA 27-4. Formulario utilizado para informar el perfil pulmonar. Las cuatro determinaciones se registran en la ordenada y las semanas de gestación en la abscisa (así como el índice L/E como un "estándar interno"). Cuando se registran, caen con elevada frecuencia en una referencia de coordenadas determinada que luego identifica el estado de desarrollo de los pulmones según se muestra en la parte superior del formulario. La designación de "maduro (precaución)" se refiere a pacientes distintas a aquellas con diabetes que es posible que den a luz, si fuera necesario en ese momento; si la paciente tiene diabetes, dará a luz con seguridad cuando los valores caen en la referencia de coordenadas de "maduro". (Reimpresa con autorización de Kulovich MV, Hallman MB, Gluck L, The lung profile I. Normal pregnancy. Am J Obstet Gynecol, 1979;135:57. Copyright © 1977 por los miembros del equipo rector de la Universidad de California.)

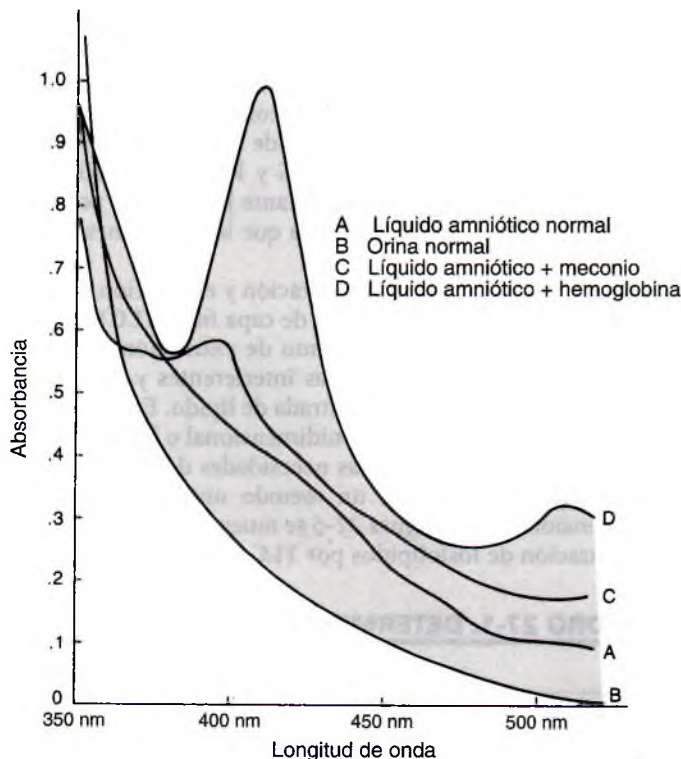


FIGURA 27-3. Tomografías de la absorbancia del líquido amniótico.

otros factores de riesgo en el embarazo, como preeclampsia o rotura prematura de las membranas. Se deben sopesar los factores de riesgo para el feto o la madre en comparación con las intervenciones, como retraso en el parto, o con las terapias posparto en riesgo, como terapia con surfactante exógeno, ventilación de alta frecuencia u oxigenación de la membrana extracorporea.

En ocasiones, el colapso alveolar en el pulmón neonatal ocurre en la transición al aire como fuente de oxígeno al nacer si no están presentes la cantidad y el tipo de fosfolípido (surfactante) apropiados. Al trastorno resultante, con grado de gravedad variable, se le denomina *síndrome de angustia respiratoria*. Se le conoce, también, como *enfermedad de la membrana hialina* debido a la membrana hialina encontrada en los pulmones afectados. La maduración pulmonar es una función de diferenciación, que comienza cerca de la semana 24 del embarazo, de las células epiteliales alveolares dentro de células tipo I y II. Las células tipo I se equipan para el intercambio de gas, en tanto las células tipo II se vuelven productoras del surfactante. A medida que los pulmones maduran, ocurre un aumento en la concentración de fosfolípidos, en particular los compuestos fosfatidilglicerol y lecitina, sobre todo dipalmitoilfosfatidilcolina² (fig. 27-4). Estos dos compuestos, presentes en

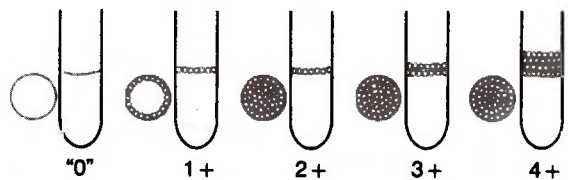


FIGURA 27-5. Sistema de graduación empleado en la evaluación de la prueba FS-50. (Reimpresa con autorización de Statland et al., Evaluation of a modified foam stability [FS-50] test. An assay performed on amniotic fluid to predict fetal pulmonary maturity, *Am J Clin Pathol*, 1978;69:51. Reimpreso con autorización de la *American Journal of Clinical Pathology*.)

10 y 70%, respectivamente, de la concentración total de fosfolípidos, son más importantes como surfactantes. Su presencia en concentraciones lo bastante elevadas actúa de manera concertada para permitir la contracción y reexpansión de los alvéolos neonatales. Para formarse una idea de su importancia, piense en la dificultad de inflar un globo nuevo de juguete en comparación con otro que ha sido inflado de manera parcial. Para el recién nacido, la cantidad normal de surfactante apropiado permite la contracción de los alvéolos sin colapso. La siguiente inspiración es la diferencia entre un globo inflado de manera parcial en comparación con uno nuevo desinflado. La cantidad insuficiente de surfactante permite que los alvéolos colapsen, lo que requiere una gran proporción de energía para reexpandir los alvéolos en la inspiración. Esto no sólo crea una demanda extrema de energía en un recién nacido, sino que es probable que también cause daño físico a los alvéolos con cada colapso. El daño tal vez conduzca a deposición "hialina", o a que el recién nacido no tenga la fuerza para continuar la inspiración a costa de la energía. El resultado final en ambos casos tal vez sea fatal.

Los métodos para la evaluación del estado pulmonar fetal se dividen en análisis funcionales y bioquímicos. Los primeros proporcionan una medida física directa del LA en un esfuerzo por evaluar la capacidad del agente surfactante para disminuir la tensión superficial. Entre los ejemplos de este grupo se encuentran la tensión superficial, la polarización de la fluorescencia y el índice de estabilidad de la espuma. Estas pruebas reflejan la concentración bruta de agentes surfactantes más que las concentraciones de fosfolípidos específicos. A este último grupo pertenecen los análisis que cuantifican dipalmitoilfosfatidilcolina (la lecitina principal), fosfatidilglicerol, todos o la mayor parte de los fosfolípidos y el índice clásico entre lecitinas y esfingomielinas (*índice L/E*). Cada grupo de pruebas tiene sus defensores y menciones extensas en la literatura. En todas se trata de indicar los cambios más importantes en las concentraciones de fosfolípidos que ocurren alrededor de las 36 semanas de gestación y establecen la maduración pulmonar fetal (fig. 27-5). Con todas las pruebas, es necesaria la centrifugación del LA para eliminar sedimentos.

La fuerza excesiva (cualquiera mayor a la necesaria para eliminar los sedimentos) tal vez cambie el perfil de los lípidos al hacer que los lípidos presentes se fraccionen como resultado de la fuerza centrifuga. La diferencia en proporciones observada a 1 000 en comparación con 3 000 g llega

a alterar de manera radical la interpretación clínica. Antes de la adopción de un método para el análisis del LA, se debe adoptar y cumplir de forma estricta un protocolo para la separación centrifuga que incluya la fuerza relativa (no revoluciones por minuto) y la duración de la centrifugación.

Al parecer el índice de estabilidad de la espuma (IEE),³ una variante de la "prueba de la burbuja" original de Clement,⁴ es aceptable como análisis rápido, económico e informativo. Esta prueba cualitativa dependiente de la técnica requiere sólo equipo común. Se basa en la capacidad del agente surfactante para generar una tensión superficial más baja que la de una solución etanol-agua de 0.47 de fracción molar. Si se encuentra presente suficiente surfactante, permanece un anillo estable de burbujas de espuma en la interfaz aire-líquido. A medida que el surfactante aumenta (la probabilidad de madurez pulmonar fetal se eleva), se requiere una fracción mol más grande de etanol para sobrepasar la tensión superficial controlada por el surfactante. La fracción mol más elevada usada en tanto aún se mantiene un anillo estable de burbujas en la interfaz aire-líquido se informa como el IEE (cuadro 27-1). La prueba depende de la técnica y es posible que se encuentre sesgada por contaminación de cualquier tipo en el LA (p. ej., contaminación de sangre o meconio). La interpretación de los patrones de burbuja de IEE es difícil y depende de la técnica. Los resultados varían entre laboratorios clínicos. En la mayor parte de éstos se ha encontrado que un IEE de 0.47 o 0.48 representa un estado de madurez límite. Resulta imperativo determinar los intervalos de referencia específicos del laboratorio. Los valores mayores al límite indican un aumento en la probabilidad de madurez.

Se puso énfasis en las pruebas cuantitativas sobre todo por el trabajo de Gluck.⁵ Los fosfolípidos de importancia son el fosfatidilglicerol (PG), la fosfatidilcolina (FC, lecitina) y la esfingomielina (EP). Las cantidades relativas de PG y FC aumentan en gran medida con la madurez pulmonar, mientras que la concentración de EP es relativamente constante. Los incrementos en PG y PC corresponden a cantidades más grandes de surfactante producidas por las células alveolares tipo II a medida que los pulmones fetales maduran.

La técnica clásica para la separación y evaluación de los lípidos implica la cromatografía de capa fina (TLC) de un extracto del LA. El procedimiento de extracción elimina la mayor parte de las sustancias interferentes y da como resultado una solución concentrada de lípido. En las prácticas actuales se utiliza TLC unidimensional o bidimensional para la identificación. Las necesidades del laboratorio determinan si se efectúa un método unidimensional o bidimensional. En la figura 27-6 se muestra un ejemplo de la separación de fosfolípidos por TLC unidimensional.⁶

CUADRO 27-1. DETERMINACIÓN DEL IEE

	TUBO 1	TUBO 2	TUBO 3
Vol. LA	0.50	0.50	0.50
Vol. 95% EtOH	0.51	0.53	0.55
IEE	0.47	0.48	0.49

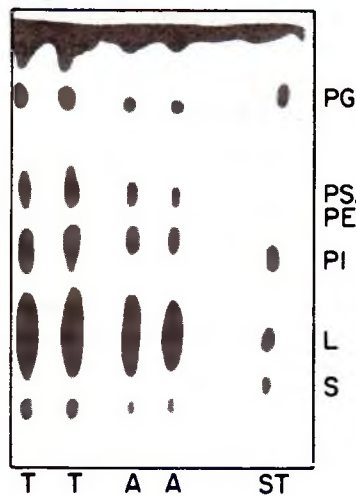


FIGURA 27-6. Cromatografía de capa fina de fosfolípidos del líquido amniótico. Se muestran fosfolípidos estándar (ST), extracto total (T) y compuestos precipitables en acetona (A) en el líquido amniótico. Los estándares de fosfolípidos contienen, por litro, 2 g de lecitina y P1, por cada uno; 1 g de PG y esfingomielina, por cada uno; y 0.3 g de PS y PE, por cada uno. Se obtuvo manchado de 10 ml del estándar. (Reimpresión con autorización de Tsai MY y Marshall JG, Phosphatidylglycerol in 261 samples of amniotic fluid. Clin Chem 25[5]:683. Copyright 1979 American Association for Clinical Chemistry.)

El valor decisivo clásico para determinar madurez está representado por un índice L/E de 2. La presencia de PG es un marcador adicional. Al principio se pensaba que el PG indicaba madurez, pero informes posteriores modificaron esto. Por lo general, es necesaria una concentración de PG inicial de cuando menos 3%. Esto también podría depender del método. Sin embargo, siempre hay excepciones y aspectos secundarios. Es importante recordar que el índice L/E clásica mide lecitina en comparación con esfingomielina totales. Algunos métodos incluyen oxidación selectiva y eliminación de los fosfolípidos insaturados, de modo que es posible obtener una medición directa de la dipalmitoilfosfatidilcolina. Resulta difícil comparar estos análisis en forma empírica.

Aún existen informes opuestos sobre los valores de decisión para las mediciones de fosfolípidos cuando se aplican a ciertas patologías, en particular diabetes. En los primeros informes se sugería que la diabetes causaba ciertas tensiones que requerían un índice L/E mayor de 2 y un PG mayor que 6% para ser comparable con una situación no diabética. Se desconoce si los informes reflejaban la dificultad en el control de la diabetes o un efecto real en la madurez fetal. Al parecer en los informes más recientes se coincide en que, en la diabetes, la interpretación del índice L/E está intacta, pero la fracción de lecitina tal vez presente una menor proporción de las especies dipalmitoil de la habitual.

ESTUDIO DE CASO 27-1

Una mujer de 26 años de edad, embarazada por primera vez, se presentó en la sala de urgencias con posible trabajo de parto. Su presión sanguínea fue 180/110 mmHg, y temperatura de 99.6°F. Sus antecedentes revelaron una mujer ansiosa, con embarazo de duración desconocida, que nunca había visto a un médico. Admitió un aumento rápido de peso durante las últimas dos semanas, pero afirma que se había sentido bien hasta entonces. En fecha reciente, experimentó debilidad y episodios de vértigo. El urinalisis fue importante para la glucosa 3+ y proteína. La hematología mostró una baja concentración de hemoglobina y recuento de plaquetas moderadamente bajo, pero los valores de leucocitos fueron normales. En el panel químico se encontró Na, 132 mmol/L; K, 3.0 mmol/L; Cl, 100 mmol/L; CO₂, 29 mmol/L; NUS, 7 mg/dl; creatinina, 0.5 mg/dl; y glucosa, 351 mg/dl. Se tomó la decisión de ingresarla y realizar varias pruebas más. Se obtuvieron los siguientes resultados de laboratorio (límite superior de intervalo de referencia dado):

Después de 24 h de descanso en cama, la PS de la paciente descendió a 140/90, y las contracciones descendieron.

Índice L/E	=	1.8 con FG = 2%
Creatinina LA	=	1.5
IEE	=	0.47
AST	=	40 (35)
ALT	=	40 (35)
ALP	=	250 (100)
Mg ²⁺	=	1.6 (2.2)
Ca ²⁺	=	9.0 (10.5)
PO ₄	=	4.0 (4.3)
Alb	=	3.2 (5.0)

Preguntas

1. ¿Los resultados de laboratorio indican un embarazo normal?
2. Comente sobre la madurez del feto.

Debido a que el análisis del LA para un índice L/E es dependiente de la técnica, resulta absolutamente obligatorio que el laboratorio evalúe por completo la metodología usada. Es más importante relacionar la metodología con el entorno clínico particular en el desarrollo de intervalos interpretativos. No es raro observar un grado de madurez con un índice L/E nominal de 2.0 ± 0.3 en un hospital, en comparación con 2.2 ± 0.2 en otro centro a través del mismo método. Es necesaria una cooperación estrecha con el personal médico en la definición de los rangos que se emplearán.

La aplicación de la técnica de polarización fluorescente para el LA proporciona otro tipo de medición. Este procedimiento, según se utiliza en un polarímetro comercial con sistema reactivo completo (Abbott Laboratories), ofrece una prueba realizada con rapidez (menos de una hora) sobre un analizador versátil que es relativamente independiente de la técnica. Su uso se ha extendido tanto que se ha sugerido como examen inicial en una amplia gama de pruebas.⁷ El método empleado se basa en la distribución de una tinta fluorescente sintética semejante a la lecitina entre agregados de fosfolípidos y albúmina. La tinta relacionada con los agregados de fosfolípidos disminuye la polarización; con la albúmina, la polarización aumenta. A la polarización total se le compara con un conjunto de estándares lipídico: albúmina para producir un valor de menor unidad. A medida que el pulmón fetal madura, la cantidad de surfactante (fosfolípido) se incrementa y, por tanto, la polarización se ve afectada. El uso de este sistema es amplio, en parte, por la accesibilidad de todos los laboratorios, la sencillez del procedimiento analítico y la consistencia en la interpretación de resultados. En fecha reciente, se informó sobre un protocolo para la interpretación basado en la edad gestacional.⁸

El valor de pronóstico se ve influido por patologías sanguíneas o del meconio (lípidos) o fetales, que causan alteración de las concentraciones de albúmina, como anomalías del tracto urinario. Además, si el LA es centrifugado, no filtrado, el valor de lípidos se altera, por lo que la polarización disminuye.

Otra medición funcional propuesta en fecha reciente es la cuantificación de cuerpos lamelares. Estos paquetes de surfactante, liberados por las células tipo 2, son casi del tamaño de las plaquetas y, por tanto, se cuantificarán con el canal de plaquetas de un analizador de hematología. Se sugieren valores tentativos de un LA sin contaminación a 30 000 a 50 000 "equivalentes de plaquetas". Aún continúa la investigación para validar el análisis. Se desarrolló un protocolo estandarizado en un esfuerzo por hacer que el examen sea transferible entre laboratorios.⁹

Los intervalos de referencia, o puntos de corte, son fijos para embarazos "normales". Todas las pruebas muestran una eficacia razonable para excluir inmadurez. Sin embargo, tienen fallas en los índices de falsos negativos; de manera específica, cuando se relacionan con partos en los que no se desarrolló síndrome de angustia respiratoria, aunque se predijera que existiría con base en un resultado inmaduro. Se recomiendan dos estupendas reseñas para conocer análisis sobre las pruebas de madurez pulmonar

y cuándo deben usarse, así como los efectos de trastornos como la hipertensión inducida por el embarazo.^{10,11}

LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

El líquido cefalorraquídeo (LCR) es el líquido que ocupa los espacios del SNC. Como tal, rodea todas las facetas del cerebro y de la médula espinal. Estos espacios son continuos y, por tanto, reflejan todos los aspectos del SNC. El LCR realiza cuando menos cuatro funciones principales: a) soporte físico y protección, b) método para excreción, c) provisión de un ambiente químico controlado y d) transporte intracerebral y extracerebral (fig. 27-7).

La función principal y más obvia del LCR es como colchón flotante para el cerebro. El cerebro más denso flota en el líquido menos denso, lo que permite el movimiento dentro del cráneo. La importancia se demuestra por el resultado de un golpe a la cabeza. El choque inicial se transfiere al cerebro completo, en lugar de infligir daño a un área. Tal vez resulte dañado el lado opuesto al golpe, lo que depende de la fuerza impartida.

La segunda función principal del LCR es el mantenimiento de una matriz química flagrante constante para el SNC. Los componentes séricos llegan a variar en gran medida, pero los valores de los constituyentes del LCR se mantienen dentro de límites estrechos.

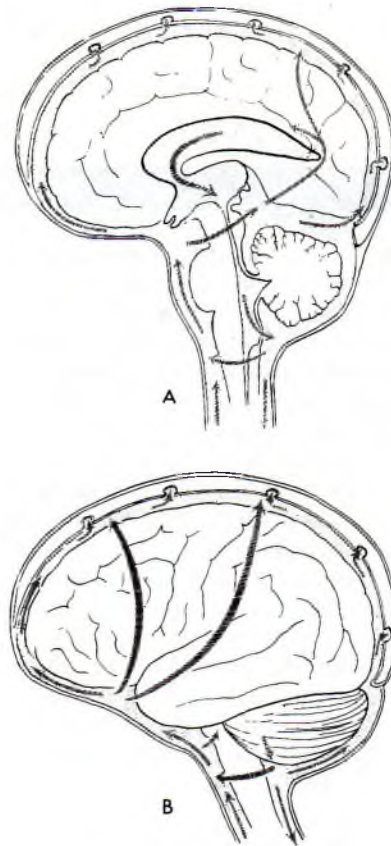


FIGURA 27-7. Vías principales del LCR. (A) Vista sagital; (B) vista lateral. (Reimpresión con autorización de Milhorat TH, *Hidrocephalus and the Cerebrospinal Fluid*, Baltimore: Williams & Wilkins, 1972:25.)

La función excretora no está bien definida, pero se presume que es efectiva, en especial en estados patológicos. Debido a que no hay un sistema linfático en el cerebro, sólo están disponibles dos vías para la eliminación de los desechos: intercambio capilar y excreción por medio del LCR. La función de transporte se describe como una tarea neuroendocrina. El LCR participa en la distribución de las hormonas hipofisarias dentro del cerebro y la eliminación de hormonas del cerebro a la sangre.

El volumen total del LCR es de alrededor de 150 ml, o cerca de 8% del volumen total de la cavidad del SNC. El líquido se forma sobre todo en el plexo coroideo de manera profunda dentro del cerebro y por las células ependimarias que cubren a los ventrículos.

El LCR se forma a un índice promedio de alrededor de 0.4 ml/min, o 500 ml/día. La formación es resultado de la ultrafiltración selectiva del plasma y la secreción activa por las membranas epiteliales. La absorción del LCR ocurre en bolsillas externas en la dura a las que se les denomina *vellosidades aracnoideas*, y el LCR drena en los senos venosos de la dura. Otra de las funciones de las vellosidades es la eliminación de materia particulada, como restos celulares. La reabsorción, al igual que la formación, es selectiva y específica. Obviamente, si se mantiene un volumen constante a un índice de formación de 500 ml/día, la resorción es constante.

Las muestras de LCR se obtienen por perforación lumbar, por lo general en el interespacio vertebral L3-L4 o más abajo, a través de técnica aséptica. Al líquido obtenido se le suele separar en tres alícuotas: a) para química y serología, b) para bacteriología y c) para microscopía. Es muy importante recordar que esta matriz es de volumen limitado y se debe analizar de manera inmediata. Cualquier muestra remanente se preservará debido a su disponibilidad limitada. El orden de los tubos refleja el orden supuesto para la minimalización de interferencia a partir de la técnica de la recolección menos óptima, con el tubo 3 presumiblemente menos contaminado por células de tejido intermedio.

La investigación de laboratorio del LCR está indicada en casos de sospecha de infección del SNC, enfermedad desmielinizante, malignidad y hemorragia en el SNC. A lo largo de la historia, se ha realizado antes de los procedimientos radiológicos como melografía, pero la utilidad diagnóstica en estos casos es bastante pequeña. Al igual que con todas las muestras del paciente que ingresan al laboratorio, el examen visual de la muestra es la primera observación, y a menudo la más importante, que se realiza. El LCR, cuando es normal, es claro, incoloro y libre de grumos y de sangre. Las diferencias a partir de estos estándares indican una patología probable y ameritan examen adicional. Por lo general, los líquidos turbios requieren examen microscópico, en tanto un color amarillo a café o rojizo indica sangre.

Las dos razones más habituales para encontrar pigmentos de sangre y hemoglobina en el LCR son la extracción traumática y la hemorragia subaracnoidea. La primera consiste en la presencia de sangre o derivados debido a la interdicción de los vasos sanguíneos durante la perforación lumbar. La hemorragia se origina por una avería en la barrera del SNC y el sistema circulatorio debido, por

ejemplo, a traumatismo. Es obvio que esta última es seria. Ambas se diferencian a través de observación y, tal vez, mediante pruebas. Un color rojo brillante y descenso en la cantidad de eritrocitos cuando se extrae la muestra del líquido indican extracción traumática. Los pigmentos de avería, xantocromía o hemoglobina, señalan que la lisis y el metabolismo de los eritrocitos ya ocurrieron, cuando menos dos horas antes. Después de excluir una extracción traumática previa o hiperbilirrubina (>20 mg/dl), la xantocromía indicaría hemorragia.

El análisis bioquímico (químico) del LCR ha conducido a recopilaciones del ámbito de los posibles constituyentes. Sin embargo, en la práctica clínica, se reduce la cantidad de indicadores útiles. Las pruebas de interés son glucosa, proteína (total y específica), lactato, lactato deshidrogenasa, glutamina y los parámetros acidobásicos. Los utilizados con mayor frecuencia son la glucosa y proteína. Antes de cualquier análisis, se debe centrifugar el líquido para evitar la contaminación por elementos celulares. Se ha sugerido la enzima lactato deshidrogenasa como marcador de tumor, pero es relativamente no específica. Ésta también se eleva en presencia de infección bacteriana, aunque otros parámetros son más específicos. La concentración de glutamina debe reflejar la cifra de amoníacos del SNC eliminados por la formación de glutamina a partir de glutamato. Se elevaría en caso de encefalopatía hepática por síndrome de Reye. A la prueba se le ha reemplazado en gran medida por las relativas facilidad y simplicidad de las determinaciones confiables de amoníaco plasmático. El establecimiento de los parámetros acidobásicos específicos obtenidos a través de un instrumento de sangre-gas es pertinente debido al ambiente vital del LCR y al efecto sobre el control de la respiración. La falta de capacidad amortiguadora del LCR y los requerimientos rigurosos para la integridad de la muestra en los procedimientos de recolección y análisis propician que el uso rutinario de esta serie de pruebas sea impráctico.

Las pruebas que han sido más confiables desde el punto de vista diagnóstico y accesibles en lo analítico son aquellas para glucosa, proteína total y proteínas específicas del LCR. La glucosa ingresa al líquido espinal sobre todo por un transporte promotor cuando se compara con un transporte pasivo (difusional) o uno activo (dependiente de energía); es llevada a través de la membrana epitelial por una especie de portador estereoespecífico. El mecanismo del portador es el responsable del transporte de materiales insolubles en lípidos a través de la membrana en el LCR. Por lo general, éste es un proceso "descendente" consistente con un gradiente de concentración. La concentración de la glucosa del LCR es alrededor de dos terceras partes de la plasmática.

Debido a que una concentración de glucosa del LCR aislada tal vez resulte engañosa, se recomienda la obtención de una muestra de plasma al mismo tiempo, de modo que las concentraciones de glucosa del plasma y LCR se evalúen en conjunto. A la glucosa del LCR normal se le considera mayor a 45 mg/dl (2.5 mmol/L). El aumento de las concentraciones de glucosa no es informativo desde el punto de vista clínico, ya que por lo general sólo proporciona confirmación de hiperglucemia. Esta generalidad debe ser atenuada a través de dos factores: a) el equilibrio

después de la carga de glucosa suele requerir entre 3 y 4 h; y *b*) con el aumento de las concentraciones de glucosa sanguínea, la glucosa del LCR se eleva, pero no de manera proporcional. Lo primero es importante en casos de comidas ingeridas en un momento cercano a la obtención de la muestra. Lo segundo resulta trascendente debido a que implica que el índice de glucosa plasmática/LCR disminuye a medida que ocurre hiperglucemia primaria.

La disminución del índice de glucosa plasmática/LCR a medida que aumenta la glucosa plasmática es consistente con un proceso del portador saturable. No sería raro que el índice fuera de 0.4:0.6 con concentraciones de glucosa en plasma masivos (mayores de 600 mg/dl), pero un valor de glucosa del LCR de 80 mg/dl, con concentración plasmática de 300 mg/dl, es importante desde el punto de vista clínico y ameritaría preocupación.

La reducción de las concentraciones de glucosa del LCR (*hipoglucorraquia*) tal vez sea resultado de: *a*) alteración en el transporte mediado por el portador de glucosa en el LCR, *b*) metabolismo activo de la glucosa por células u organismos, o *c*) aumento del metabolismo por el SNC. El mecanismo de la disminución del transporte aún se encuentra bajo intenso debate, pero se especula que es la causa en la meningitis tuberculosa y sarcoidosis. Las meningitis aguda purulenta, amebiana, fúngica y trichinótica son ejemplos de consumo por organismos, en tanto la neoplasia meníngea difusa y el tumor cerebral son ejemplos de consumo por tejido del SNC. Por lo general, el consumo de glucosa se acompaña por un aumento en la concentración de lactato debido a la glucólisis anaeróbica por organismos o tejido cerebral. Se ha sugerido un incremento en el lactato con valor de glucosa normal a disminuido como indicador accesible oportuno de meningitis bacteriana en comparación con viral.¹² El análisis de glucosa y lactato en el LCR se logra de manera sencilla mediante técnicas empleadas para plasma y suero. Es importante que la provisión para el análisis de glucosa o lactato en el LCR sea inmediata o que la muestra se conserve con un antiglicolítico, como el ion fluoruro.

Las concentraciones de proteína en el LCR reflejan la ultrafiltración selectiva de la barrera epitelial del LCR y su capacidad secretoria. Toda la proteína que se suele encontrar en el plasma se localiza en el LCR, excepto a cifras muy disminuidas. La proteína total es de alrededor de 0.5%, o $1/_{200}$, que la del plasma. Las concentraciones de proteína específica en LCR no son proporcionales con los valores plasmáticos debido a la especificidad del proceso de ultrafiltración. La correlación se lleva a cabo de mejor manera a través del uso de índices hidrodinámicos de las especies de proteína en lugar del peso molecular. Debido a la relación de las proteínas del LCR con el suero, el análisis de suero acompañará al análisis de proteína del LCR específico. El decremento en la concentración de la proteína total del LCR se origina por: *a*) disminución de la diálisis del plasma; *b*) aumento de la pérdida de proteína (p. ej., eliminación de volúmenes excesivos de LCR); o *c*) filtración del LCR por una fisura en la dura, otorrea o rinorrea. La última razón es la más frecuente. La fisura en la dura ocurre como resultado de perforación lumbar anterior o traumatismo grave. La *otorrea* y *rinorrea* hacen referencia

a la filtración de LCR del oído o hacia la nariz, respectivamente. La identificación de la fuente de dicha filtración se lleva a cabo de manera más óptima a través de un análisis para τ -transferrina, una proteína única del LCR.

El incremento de la concentración de proteína total en el LCR constituye un indicador no específico útil de los estados patológicos. Los aumentos se generan por: *a*) lisis de sangre contaminada por extracción traumática, *b*) incremento en la permeabilidad de la membrana epitelial, *c*) elevación de la producción por tejido del SNC, *d*) obstrucción o *e*) disminución en el índice de eliminación. La contaminación de la sangre es importante debido al índice en la concentración de 200:1. Es posible que la presencia de cualquier cantidad de sangre eleve las concentraciones de proteína en el LCR. La membrana epitelial se vuelve más permeable por infección bacteriana o fúngica o hemorragia cerebral, en vista de que un aumento en la producción de SNC ocurre en la panencefalitis esclerosante subcutánea (PEES) o esclerosis múltiple (EM). Además, existen combinaciones de permeabilidad y producción, como las enfermedades colágeno-vasculares. Un proceso obstructivo, como tumor o absceso, también genera un incremento en la proteína. La última causa mencionada del aumento de las concentraciones de proteína total del LCR, la disminución de la absorción, es posible en teoría, pero no se ha demostrado.

Se obtiene información más sensible desde el punto de vista diagnóstico a través del análisis de las fracciones de proteína presentes. Se requiere una comparación con los patrones séricos para obtener conclusiones precisas. En condiciones normales, la prealbúmina y una forma única de la transferrina (τ -proteína) se encuentran presentes en el LCR en una concentración más elevada que en el suero. Aunque es posible determinar las proteínas respectivas tanto en suero como en LCR, las proteínas de mayor interés son la albúmina y la inmunoglobulina G (IgG). Debido a que la albúmina se produce sólo en el hígado, su presencia en el LCR ocurrirá mediante transporte de membrana. Sin embargo, tal vez surja IgG por síntesis local de células plasmáticas dentro del LCR. Luego se utiliza la medición de la albúmina en suero y LCR para normalizar los valores de la IgG de cada matriz con el objetivo de determinar la fuente de la IgG. Este índice IgG-albúmina contribuye de manera primordial al diagnóstico de enfermedades de desmielinización, como esclerosis múltiple y PEES. La EM es la enfermedad desmielinizante inflamatoria más común del SNC.

$$\frac{\text{IgG del LCR/IgG sérica}}{\text{Albúmina del LCR/albúmina sérica}} = \text{índice del LCR}$$

Normal=0.5

(Ec. 27-1)

La elevación de la proteína sérica causa incrementos en los valores del LCR debido a permeabilidad. Sin embargo, el aumento en la IgG del LCR, sin la elevación concomitante de la albúmina del LCR, sugiere producción local (esclerosis múltiple o PEES). Se observan incrementos en la permeabilidad y producción en presencia de meningitis bacteriana. Los métodos para analizar las concentraciones de IgG y albúmina son los mismos que para el suero, pero se optimizan para los valores más bajos encontrados.

ESTUDIO DE CASO 27-2

Un hombre de 32 años de edad tuvo buena salud hasta hace más o menos un año, cuando ingresó en un programa acelerado de programación de computadoras. Durante el último año, comenzó a notar vista borrosa episódica, vértigo leve y dolor de cabeza. El hombre atribuyó las manifestaciones de pérdida sensorial en sus manos y sentimiento de debilidad después del ejercicio físico al hecho de “estar fuera de forma”. Decidió visitar a su médico después de un ataque de visión borrosa acompañado por sensación de parálisis, seguida por sensación de alfileres y agujas en su pierna izquierda. El examen óptico fue negativo. El examen neurológico condujo a la realización de extracción espinal para obtener hallazgos de laboratorio y mielografía. Esta última fue negativa. Los resultados del laboratorio fueron los siguientes:

LCR	=	Líquido claro e incoloro, al parecer libre de residuos; el cultivo no producen crecimiento
WBC	=	Normal
Glucosa	=	60 mg/dl (plasma = 80 mg/dl)
Índice IgG/Alb	=	1.7
IgG		Bandas oligoclonales presentes

Preguntas

1. ¿Cuál es la importancia de la proteína de LCR normal y el índice IgG/Alb variante?
2. ¿Cuál patología es consistente con estos resultados?

Por lo general, el aumento de las concentraciones de proteína del LCR o la sospecha clínica indica la necesidad de separación electroforética de las proteínas respectivas. A veces, esta separación demuestra bandas múltiples de la banda de IgG. A esta observación se le conoce como *proteínas oligoclonales* (una pequeña cantidad de clones de la IgG del mismo tipo celular con propiedades electroforéticas casi idénticas). Esta ocurrencia suele relacionarse con enfermedades inflamatorias y esclerosis múltiple o PEES. Estos tipos de trastornos estimularían las células inmuno-competentes. El reconocimiento de un patrón oligoclonal reemplaza el informe de concentraciones de proteína normales y es causa de preocupación si en la separación de suero correspondiente no se demuestran bandas idénticas.

Otra proteína a la que se le considera específica para esclerosis múltiple es la proteína básica de mielina (MBP). En los primeros informes se sugirió elevada especificidad, pero la MBP también se ha detectado en trastornos no desmielinizantes y no siempre se observa en aquellos que sí lo son. Algunos utilizan las concentraciones de la MBP para vigilar la terapia de la esclerosis múltiple. Las directrices internacionales actuales para el diagnóstico de EM reconocen tanto un índice de IgG elevado y la presencia de diferentes bandas oligoclonales del LCR en el suero como evidencia de apoyo.

SUDOR

Las glándulas de sudor ecrinas comunes actúan en la regulación de la temperatura del cuerpo. Están innervadas por las fibras del nervio colinérgico y constituyen un tipo de glándula exocrina. Se ha analizado el sudor por sus diversos contenidos inorgánicos y orgánicos pero, con una excepción notable, no está demostrado que sea un modelo útil desde el punto de vista clínico. Esa excepción es el análisis de sudor para determinar las concentraciones de cloruro y sodio en el diagnóstico de fibrosis quística (FQ). La prueba de sudor es la herramienta individual de diag-

nóstico más aceptada para la identificación clínica de esta enfermedad. En condiciones normales, la parte inferior enrollada de la glándula del sudor secreta un “presudor” bajo estimulación colinérgica. A medida que el presudor atraviesa la parte conductora de la glándula que pasa por la dermis, se absorben varios constituyentes. En la FQ, los electrolitos, sobre todo los iones de cloruro y sodio, se reabsorben de manera inadecuada debido a una mutación en el gen regulador de la conductancia de transmembrana de la fibrosis quística (RTFQ), que controla un canal de cloruro regulado por la AMP cíclica.

La FQ (mucoviscidosis) es una enfermedad recesiva autosómica hereditaria que afecta las glándulas exocrinas, y causa anomalías en la secreción de electrolitos y mucosidad. Esta exocrinopatía se presenta sólo en el estado homocigo. En Estados Unidos, se calcula una frecuencia del estado del portador (heterocigo) de 1 por cada 20. La enfermedad afecta sobre todo a individuos caucásicos. El índice observado de expresión clasifica a la FQ como la enfermedad hereditaria letal más frecuente en Estados Unidos, con fallecimiento que ocurre por lo general en la tercera década. La causa primaria de la muerte es neumonía, secundaria a la secreción espesa y anormalmente viscosa en los pulmones. Estas secreciones espesas causan obstrucción de las microvías aéreas, lo que predispone al paciente con FQ a episodios repetidos de neumonía. La tercera parte de la triada diagnóstica es la insuficiencia pancreática. Una vez más, secreciones anormalmente viscosas obstruyen los conductos pancreáticos. Esta ostensible obstrucción causa acumulación y autoactivación de las enzimas pancreáticas. Luego las enzimas causan destrucción del tejido pancreático exocrino.

Los algoritmos diagnósticos para FQ aún dependen de electrolitos de sudor anormales, defectos pancreáticos o bronquiales y antecedentes familiares. Se ha propuesto el uso de la tripsina inmunorreactiva sanguínea, un producto pancreático, como método para la valoración del recién

nacido y coadyuvante diagnóstico. El área en rápido desarrollo de la genética molecular proporciona la metodología definitiva. Al defecto del gen causante de la FQ se le localizó en el cromosoma 7, y se obtuvieron las “huellas digitales” de DNA de las mutaciones más frecuentes que causan FQ. Se anticipa que en la próxima década, el análisis de DNA directo catalogará todas las mutaciones, y ofrecerá la evaluación y el diagnóstico definitivos. Aunque se informa que existe una forma de FQ con cloruro de sudor normal, la prueba de cloruro de sudor aún constituye la herramienta de laboratorio más accesible para la detección de FQ.¹³

Las glándulas del sudor, aunque afectadas en su secreción, permanecen intactas desde el punto estructural por la FQ. El análisis del sudor tanto para sodio como para cloruro es válido pero, a lo largo de la historia, el cloruro fue y es el elemento principal, lo que conlleva al uso de la prueba de cloruro del sudor. Debido a su importancia, la *Cystic Fibrosis Foundation* de Estados Unidos sugirió un método estándar. Éste se basa en el método de iontoforesis de nitrato de pilocarpina de Gibson y Cooke.¹⁴ La pilocarpina es un fármaco semejante a los colinérgicos usada para estimular las glándulas del sudor. El sudor se absorbe en una almohadilla de gasa durante el procedimiento. Hay otras pruebas (p. ej., osmolalidad y conductividad) que reflejan las concentraciones de sodio y cloruro, pero la prueba de cloruro del sudor sigue siendo el método de referencia.

Después de recolectar el sudor por iontoforesis, se lleva a cabo el análisis de cloruro y sodio. Se han sugerido muchos métodos, todos dependientes de los requerimientos del laboratorio. Por lo general, el sudor se filtra en un volumen conocido de agua destilada y se analiza para cloruro (clorímetro) y sodio (fotometría de flama). En términos generales, a los valores superiores a 60 mmol/L se les considera positivos para ambos iones.

Aunque se suele reconocer un valor de 60 mmol/L por la prueba cuantitativa iontoforética de pilocarpina, es importante tomar en cuenta varios factores en la interpretación. No sólo existirá variación analítica respecto a los valores extremos, también ocurrirá en el establecimiento un área epidemiológica de límite. Con esto en mente, el rango de 45 a 65 mmol/L para el cloruro sería más apropiado en la determinación de la necesidad de repetición. Se deben considerar otras variables. Por lo general, la edad aumenta el límite, a tal grado que es cada vez más difícil clasificar a los adultos. Obviamente, el estado de hidratación del paciente también afecta las concentraciones de sudor. Debido a que el procedimiento completo es exigente desde el punto de vista técnico, se desarrollará experiencia en su uso antes de que la prueba se encuentre disponible en clínica. Existe una descripción completa de la recolección y el análisis del sudor, que incluye las justificaciones del procedimiento.

LÍQUIDO SINOVIAL

Las articulaciones se clasifican en móviles e inmóviles. Las móviles contienen una cavidad que está encerrada por una cápsula; la cubierta interna de la cápsula es la membrana sinovial. Esta cavidad contiene *líquido sinovial*, que se forma por ultrafiltración del plasma a través de la membrana sinovial. La membrana también secreta una mucoproteína

rica en ácido hialurónico en el dializado, lo que hace que el líquido sinovial sea viscoso. La membrana se compone de tres tipos de células diferentes: las células tipo A son ricas en vacuolas y lisosomas y funcionan como fagocitos; las células tipo B son ricas en retículo endoplásmico rugoso y se presume que tienen una función secretoria; y las células tipo C al parecer son un híbrido de los tipos A y B en aspecto y función. Se supone que el líquido sinovial funciona como lubricante para las articulaciones y como medio de transporte para la liberación de nutrientes y la eliminación de desechos celulares. El volumen de líquido encontrado en una articulación grande, como la rodilla, rara vez sobrepasa los 2 ml. El líquido normal es claro, incoloro a amarillo pálido, viscoso y no coagulante. Las variaciones son indicativas de situaciones patológicas.

La recolección de una muestra se logra mediante artrocentesis de la articulación bajo condiciones asépticas. Se debe preservar la muestra de inmediato con heparina para cultivo, con ácido etilendiaminotetracético (EDTA) para análisis microscópico o con fluoruro para análisis de glucosa. El examen microscópico es el más provechoso en importancia diagnóstica. Aunque se han determinado muchos analitos desde el punto de vista químico, la proporción entre líquido sinovial y glucosa plasmática (normalmente, 0.9:1) sigue siendo la más útil. Se observan disminuciones en la proporción en presencia de trastornos inflamatorios (p. ej., gota, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico) y purulentos (artritis bacteriana, viral). Los métodos estándar para el análisis de la glucosa son aplicables.

LÍQUIDOS SEROSOS

Los pulmones, el corazón y la cavidad abdominal están rodeados por sacos de células simples, membranosos y de doble capa permeables a los componentes del suero. Cuando el suero se dializa a través de estas membranas, al líquido que se forma se le denomina *líquido seroso*; de manera específica, el líquido pleural (pulmón), pericárdico (corazón) y peritoneal (abdominal).

Imagine los sacos como un globo que contiene una cantidad pequeña de agua. Al colocar un balón de fútbol americano dentro del globo, éste expulsa el aire residual hasta que sólo queda agua (fig. 27-8). El agua se extiende

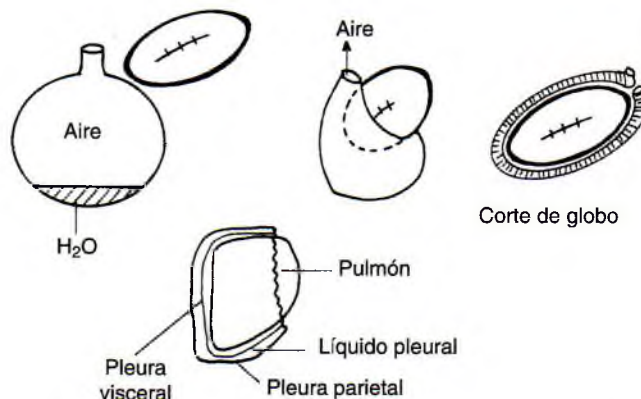


FIGURA 27-8. Ejemplo de la formación del líquido seroso.

para llenar el “espacio potencial de doble capa de globo” resultante. Las membranas serosas son análogas al globo; los órganos internos, al balón de fútbol americano. El saco pleural (pulmón) es continuo al hilio del árbol bronquial; el pericardio, a los vasos principales; y el peritoneo, alrededor de cada órgano. Todos son expandibles y presentan “espacios potenciales” para la recolección de líquido o gases. La formación de los líquidos serosos es un proceso continuo controlado por la presión hidrostática de la circulación sistémica y el mantenimiento de la presión oncótica debida a la proteína. Por lo general, el espacio potencial se encuentra lleno; es decir, no hay gas presente. El líquido reduce o elimina la fricción causada por la expansión y contracción de los órganos protegidos. Un trastorno en el equilibrio dinámico que causa un aumento en el líquido constituye un estado anormal. A un incremento en el volumen del líquido se le denomina *efusión*.

Líquido pleural

La capa externa del saco pleural, la capa parietal, es asistida por la circulación sistémica; la interna, la capa visceral, por la circulación bronquial. En esencia, el líquido pleural consta de líquido intersticial de la circulación sistémica. En condiciones normales, hay 3 a 20 ml de líquido pleural en el espacio pleural. El líquido sale por drenaje en los linfáticos de la pleura visceral y la circulación visceral. Cualquier alteración en el índice de formación o eliminación del líquido pleural afecta el volumen, lo que causa una efusión. Es necesario entonces clasificar la naturaleza de la efusión por análisis del líquido pleural. El líquido se remueve del espacio pleural por aguja y se inyecta después de la visualización por radiología. A este procedimiento se le denomina *toracentesis*; al líquido se le conoce como *líquido de la toracentesis*, o *líquido pleural*. Las alícuotas del líquido preservadas de manera específica se utilizan para pruebas futuras como las siguientes: *a*) heparinizada para cultivo, *b*) EDTA para microscopía, *c*) sodio fluorescente (NaF) para glucosa y lactato y *d*) sin tratar para prueba bioquímica adicional.

La clasificación del líquido como trasudado o exudado es crucial. Los *trasudados* son secundarios a patología remota (no pleural) e indican que el tratamiento se comenzará en otra ubicación. Un *exudado* indica afección primaria de la pleura y el pulmón, como infección, y demanda atención inmediata. Por ejemplo, cualquier trastorno mecánico en la formación de líquido (p. ej., hipoproteinemias que causa disminución de la presión oncótica) incrementaría el volumen del líquido pleural. Esto sería un proceso trasudativo. Un proceso exudativo sería la obstrucción del drenaje linfático como resultado de malignidad, como linfoma (cuadro 27-2). Luego se requiere prueba adicional, incluyendo química, microscópica y cultivo, para identificar la etiología.

La asignación de líquido a la categoría de trasudado o exudado se basaba en la concentración proteica del líquido. Este criterio se reemplazó por el uso de una serie de proporciones líquido/plasma (L/P) conocidos como criterios de Light. En forma específica, si el L/P para proteína total

CUADRO 27-2. CAUSAS DE LAS EFUSIONES PLEURALES

TRASUDATIVA	EXUDATIVA
Insuficiencia cardíaca congestiva ^a	Neumonía bacteriana ^a
Síndrome nefrótico	Tuberculosis
Hipoproteinemias	Absceso pulmonar
Cirrosis hepática	Malignidad (obstrucción linfática)
Insuficiencia renal crónica	Infección viral/fúngica
	Infarto pulmonar
	Pleuresía
	Malignidad pulmonar
	Linfoma
	Mesotelioma pleural

^aCausa más frecuente.

es mayor de 0.5, la proporción para lactato deshidrogenasa (LD) será mayor de 0.6, o si el intervalo de referencia de la proporción LD de líquido pleural/LD sérica de límite superior es mayor de 0.67, el líquido será un exudado. Por lo general, una proporción albúmina sérica-albúmina de líquido pleural (gradiente de albúmina ≥ 1.2) indica trasudados. Sin embargo, este criterio identifica de manera errónea alrededor de 10% de los casos, en particular insuficiencia cardíaca congestiva. La caracterización adicional del exudado por el laboratorio clínico tal vez incluya análisis para glucosa, lactato, amilasa, triglicérido o pH. Una disminución en glucosa (incremento en lactato) sugeriría infección o inflamación. Un aumento en amilasa comparado con el del suero sugiere pancreatitis. La elevación exagerada de las concentraciones de triglicéridos ($2-10 \times$ suero) podrían indicar quilotórax. El uso de mediciones de pH, realizadas como una determinación de la cifra de sangre-gas, ha ganado popularidad. De manera escueta, el pH menor de 7.2 sugiere infección; el pH mayor de 7.4, malignidad. Las metodologías para estos análisis son las mismas que las que se emplean para los constituyentes del suero y la sangre, por lo que son factibles en el laboratorio clínico.

Líquido pericárdico

La relación del pericardio, *líquido pericárdico*, con el corazón es similar a aquella con los pulmones. Los mecanismos de formación y drenaje son los mismos. Sin embargo, el muestreo pericárdico y el análisis de laboratorio son raros.

Líquido peritoneal

Las preguntas clínicas que suelen plantearse son las siguientes: *a*) ¿qué está causando ascitis? *b*) ¿está presente la infección? *c*) ¿Existe riesgo para la infección?¹⁶

El exceso de líquido (>50 ml) en la cavidad peritoneal indica enfermedad. A dicho exceso se le denomina *ascitis*; y al líquido, *líquido ascítico*. El proceso de obtención de las muestras de este líquido por aspiración con aguja es la *paracentesis*. Por lo general, el líquido se visualiza por ultrasonido para confirmar su presencia y volumen antes de realizar la paracentesis.

En teoría, el mismo mecanismo que causa efusiones serosas en otros espacios potenciales funciona para la cavidad peritoneal. De modo específico, una alteración en el índice de diálisis secundaria a una patología remota primaria es un trasudado, en comparación con una patología primaria de la membrana peritoneal (exudado). Los diversos factores que se aplican a este gran espacio, que incluyen la función renal, tienden a empañar la distinción. La causa más frecuente de ascitis con un peritoneo normal es la hipertensión portal. Las obstrucciones al flujo hepático, como la cirrosis, insuficiencia cardíaca congestiva e hipoalbuminemia por cualquier causa, demuestran la incidencia más elevada.

Las causas exudativas de ascitis son sobre todo cáncer ovárico metastásico y peritonitis infectiva. La diferenciación entre ambas es análoga a las mediciones de proteína y LD descritas para el líquido pleural. Sin embargo, la capacidad para la diferenciación constituye un reto. El gradiente de albúmina suero/ascitis (GASA, o albúmina sérica-albúmina del líquido) de 1.1 g/dl o más, usado para indicar hipertensión portal, representa la medición más aceptada. Una cifra de neutrófilos mayor de $0.5 \times 10^9/L$ indica peritonitis.

RESUMEN

Además del suero y el plasma, el laboratorio de química analítica a menudo analiza otros líquidos corporales, como el LA, LCR, sudor, líquido sinovial y líquidos serosos. El LA proporciona un medio de amortiguación para el desarrollo fetal.

Se realizan amniocentesis y análisis subsiguiente del LA en la prueba para enfermedad congénita, defectos del tubo neural, enfermedad hemolítica, edad gestacional y desarrollo pulmonar fetal. El LCR es un líquido que ocupa los espacios del SNC, que incluye el cerebro y la médula espinal.

Las funciones del LCR incluyen soporte y la protección físicos, método de excreción, provisión de un ambiente químico controlado y transporte intracerebral y extracerebral. El volumen total del LCR es de alrededor de 150 ml.

Las muestras de LCR se obtienen por perforación lumbar. La investigación de laboratorio del LCR está indicada para casos de sospecha de infección en el SNC, enfermedad desmielinizante, malignidad y hemorragia en el SNC. Las pruebas más confiables desde el punto de vista diagnóstico y accesibles desde una perspectiva analítica son aquellas para la glucosa, proteína total y proteínas específicas del SNC. El sudor es un producto de las glándulas de sudor ecrinas comunes, que participan en la regulación de la temperatura corporal. La prueba de sudor es la herramienta diagnóstica más aceptada para la FQ. Dentro de la articulación movable, se encuentra una cavidad rellena con líquido sinovial, que se forma mediante ultrafiltración del plasma a través de la membrana sinovial. El líquido normal es claro, incoloro a amarillo pálido, viscoso y no coagulante. Algunas variaciones son indicativas de trastornos patológicos. La recolección de este líquido se realiza por artrocentesis. Los pulmones, el corazón y la cavidad abdominal están rodeados por un saco de doble capa, células simples y membranoso, que es permeable a los constituyentes del suero.

El líquido que se forma cuando el suero se dializa a través de esas membranas es el líquido seroso; en especial, los líquidos pleural (pulmón), pericárdico (corazón) y peritoneal (abdominal). La formación de líquido seroso es un proceso continuo que se controla por presión hidrostática de la circulación sistémica y mantenimiento de la presión oncótica debido a la proteína. Bajo condiciones normales, hay 3 a 20 ml de líquido pleural en el espacio pleural. A la extracción del líquido se le denomina toracentesis. La relación del pericardio y del líquido pericárdico con el corazón es similar a la que mantiene con los pulmones; el muestreo pericárdico en el laboratorio es raro. Un exceso de líquido en la cavidad peritoneal indica enfermedad. A ésta se le denomina ascitis. Al líquido se le conoce como líquido ascítico y se obtiene por un procedimiento denominado paracentesis.

PREGUNTAS DE REPASO

- Las pruebas de laboratorio para la evaluación de la madurez del pulmón fetal se basan en:
 - Diferenciación de productos de neumocitos tipo I.
 - Producción de acetilcolinesterasa.
 - Producción de AFP.
 - Productos de neumocitos tipo II.
 - Presencia de meconio.
- El líquido amniótico:
 - Provee amortiguación para el feto.
 - Es una mezcla de líquidos maternos y fetales.
 - Se valora por cateterización umbilical.
 - a y b.
 - a, b y c.
- Los recuentos de cuerpos lamelares reflejan:
 - Recuento de plaquetas del feto.
 - Recuento de plaquetas de la madre.
 - Recuento de meconio del feto.
 - Paquetes de fosfolípidos surfactantes.
 - Todos los anteriores.
- Con frecuencia, se observa sangre en el LCR después de:
 - Administración de verde de indocianina.
 - Extracción traumática.
 - Anemia hemolítica.
 - Perforación lumbar.
 - pH bajo.

5. La glucosa del LCR se mide para determinar:
 - a) Eficiencia del transporte.
 - b) Diabetes.
 - c) Extracción traumática.
 - d) Hemocromatosis.
 - e) Infección.
6. El incremento en la proteína del LCR es patognomónico por:
 - a) Esclerosis múltiple.
 - b) Enfermedad vascular del colágeno.
 - c) Infección fúngica.
 - d) Todas las anteriores.
 - e) Ninguna de las anteriores.
7. La FQ se caracteriza por:
 - a) Concentraciones de cloruro en sudor elevadas.
 - b) Expresión homociga de un rasgo recesivo autosómico.
 - c) Insuficiencia pancreática.
 - d) Todas las anteriores.
 - e) Sólo a y c.
8. El líquido sinovial:
 - a) Se forma por ultrafiltración del plasma.
 - b) Lubrica los neumocitos.
 - c) Es rico en ácido hialurónico.
 - d) Todas las anteriores.
 - e) Sólo a y c.
9. Los fluidos serosos:
 - a) Se derivan del suero.
 - b) Proporcionan lubricación y protección.
 - c) Llenan el espacio potencial.
 - d) Todas las anteriores.
 - e) Sólo a y b.
10. El trasudado del líquido pleural:
 - a) Refleja afección primaria de la pleura.
 - b) Se caracteriza por incremento en la proporción LD L/P.
 - c) Se caracteriza por incremento en la proporción glucosa L/P.
 - d) Se caracteriza por una proporción proteína total L/P de 0.5.
 - e) Todas las anteriores.
11. El análisis del líquido de la paracentesis se realiza para:
 - a) Determinar la causa de la presencia del líquido.
 - b) Evaluar el riesgo de infección.
 - c) Determinar la afección pulmonar.
 - d) Todas las anteriores.
 - e) a y b.
12. La causa más frecuente de ascitis es:
 - a) Hipertensión portal.
 - b) Retorno venoso.
 - c) Diferenciación celular parietal.
 - d) Infección ecrina.
 - e) Filtración celular tipo A.

REFERENCIAS

1. Liley AW. Liquor amni analysis in the management of the pregnancy complicated by rhesus sensitization. *Am J Obstet Gynecol* 1961;82:1359.
2. Kulovich MV, Hallman MB, Gluck L. The lung profile. I. Normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1979;135:57.
3. Statland BE, Freer DE. Evaluation of two assays of functional surfactant in amniotic fluid: surface-tension lowering ability and the foam stability index test. *Clin Chem* 1979;25:1770.
4. Clements JA, Platakier ACG, Tierney DF, et al. Assessment of the risk of the respiratory distress syndrome by a rapid test for surfactant in amniotic fluid. *N Engl J Med* 1972;286:1077.
5. Gluck L, Kulovich MV, Borer RC Jr, et al. Diagnosis of the respiratory distress syndrome by amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol* 1971;109:440.
6. Tsai MY, Marshall JG. Phosphatidylglycerol in 261 samples of amniotic fluid from normal and diabetic pregnancies, as measured by one-dimensional thin layer chromatography. *Clin Chem* 1979;25:682.
7. Herbert WNP, Chapman JF, Schnoor MM. Role of the TDX FLM assay in fetal lung maturity. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:808.
8. Kaplan LA, Chapman JT et al. Prediction of respiratory distress syndrome using the Abbot FLM II amniotic fluid assay. *Clin Chem Acta* 2002;326:61-68.
9. Neerhof ME, Dohnal JC, Ashwood ER, et al. Lamellar body counts: a consensus on protocol. *Obstet Gynecol* 2001;97(2):318-320.
10. Assessment of Fetal Lung Maturity. ACOG Educational Bulletin, No. 230, November 1996.
11. Field NT, Gilbert WM. Current status of amniotic fluid tests of fetal lung maturity. *Clin Obstet Gynecol* 1977;40(2):366-386.
12. Bailey EM, Domenico P, Cunha BA. Bacterial or viral meningitis. *Postgrad Med* 1990;88:217.
13. Highsmith WE, Burch L, Zhou Z, et al. A novel mutation in the cystic fibrosis gene in patients with pulmonary disease but normal sweat chloride concentrations. *N Engl J Med* 1994;331:974.
14. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics* 1959;23:545.
15. NCCLS. Sweat testing: Sample collection and quantitative analysis approved guidelines. NCCLS Document C34-A2. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2000.
16. Habeeb, KS, Herrera, JL. Management of ascites: paracentesis as a guide. *Postgrad Med* 1997;101(1):191-2, 195-200.

LECTURAS RECOMENDADAS

- American Society of Human Genetics. Policy statement for maternal serum alpha-fetoprotein screening programs and quality control for laboratories performing maternal serum and amniotic fluid alpha-fetoprotein assays. *Am J Hum Genet* 1987;40:75.
- Brown LM, Duck-Chong CG. Methods of evaluating fetal lung maturity. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1982;17(1):85.
- Committee for a Study of Evaluation of Testing for Cystic Fibrosis. Report. *J Pediatr* 1976;88(4):711.
- Davson H. Physiology of the Cerebrospinal Fluid. London: Churchill, 1967.
- Fairweather DVI, Eskes TKAB, eds. Amniotic Fluid Research and Clinical Application, 2nd ed. New York: Excerpta Medica, 1978.

- Freeman JA, Beeler MF, eds. *Laboratory Medicine/Urinalysis and Medical Microscopy*, 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1983.
- Freer DE, Statland BE. Measurement of amniotic fluid surfactant. *Clin Chem* 1981;27:1629.
- Guyton AC. *Textbook of Medical Physiology*, 5th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1976.
- Halsted JA, Halsted CH, eds. *The Laboratory in Clinical Medicine*, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1981.
- Health and Public Policy Committee, American College of Physicians. Diagnostic thoracentesis and pleural biopsy in pleural effusions. *Ann Intern Med* 1985;103:799.
- Platt PN. Examination of synovial fluid in the role of the laboratory in rheumatology. *Clin Rheum Dis* 1983;9(1):51.
- Queenan JT, ed. *Modern Management of the Rh Problem*, 2nd ed. Hagerstown, MD: Harper & Row, 1977.
- Rocco VK, Ware AJ. Cirrhotic ascites. *Ann Intern Med* 1986;105:573.
- Rodriguez EM, van Wimersma Greidanus TB. Cerebrospinal fluid and peptide hormones. In: *Frontiers of Hormone Research*. New York: S Karger, 1982:9.
- Russell JC, Cooper CC, Ketchum CH, et al. Multicenter evaluation of TDX test for assessing fetal lung maturity. *Clin Chem* 1989;35:1005.
- Teloh HA. Clinical pathology of synovial fluid. *Ann Clin Lab Sci* 1975;5(4):282.
- Webster HL. Laboratory diagnosis of cystic fibrosis. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1983;18(4):313.
- Wiswell TE, Mediola J Jr. Respiratory distress syndrome in the newborn: innovative therapies. *Am Fam Physician* 1993;47:407.
- Wood JH, ed. *Neurobiology of the Cerebrospinal Fluid*, Vol 2. New York: Plenum Press, 1983.

Áreas de especialidad de la química clínica

Monitoreo de fármacos terapéuticos

David P. Thorne

CAPÍTULO

28

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- VÍAS DE ADMINISTRACIÓN
- ABSORCIÓN
- FÁRMACOS LIBRES EN COMPARACIÓN CON COMBINADOS
- DISTRIBUCIÓN DEL FÁRMACO
- ELIMINACIÓN DE FÁRMACOS
 - Eliminación metabólica
 - Eliminación renal
- FARMACOCINÉTICA
- RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA
- FÁRMACOS CARDIOACTIVOS
 - Digoxina
 - Lidocaína
 - Quinidina
 - Procainamida
 - Disopramida
- ANTIBIÓTICOS
 - Aminoglucósidos
 - Vancomicina
- FÁRMACOS ANTIEPILEPTICOS
 - Fenobarbital
 - Fenitoína
- Ácido valproico
- Carbamacepina
- Etosuximida
- FÁRMACOS PSICOACTIVOS
 - Litio
 - Antidepresivos tricíclicos
- BRONCODILATADORES
 - Teofilina
- FÁRMACOS INMUNOSUPRESIVOS
 - Ciclosporina
 - Tacrólimo
- ANTINEOPLÁSICOS
 - Metotrexato
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS
- LECTURAS RECOMENDADAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Establecer las características de un fármaco que hacen que el monitoreo de un fármaco terapéutico sea esencial.
- Identificar los factores que influyen en la absorción de un fármaco administrado por vía oral.
- Relacionar los factores que influyen en el grado de eliminación de un fármaco.
- Definir la distribución del fármaco y los factores que influyen en ella.
- Calcular el volumen de distribución, la constante de eliminación y la vida media de un fármaco.
- Relacionar la concentración de un fármaco circulante con los parámetros de farmacocinética.
- Mencionar la categoría terapéutica de cada uno de los fármacos descritos en este capítulo.
- Describir las principales toxicidades de los fármacos que se analizan en este capítulo.
- Identificar las características de los fármacos presentados en este capítulo que llegan a influir en la concentración sérica del fármaco.

TÉRMINOS CLAVE

Absorción del fármaco
Concentración máxima del fármaco

Distribución del fármaco
Eliminación del fármaco
Farmacocinética

Monitoreo del fármaco terapéutico
Rango terapéutico

Valores depresivos del fármaco

El *monitoreo de fármacos terapéuticos* (MFT) implica el análisis, la valoración y la evaluación de las concentraciones circulantes de los fármacos en suero, plasma o sangre entera. El propósito de estas acciones es asegurar que una dosificación determinada de un fármaco produzca un beneficio terapéutico máximo y efectos tóxicos adversos mínimos.^{1,2} En la mayor parte de las terapias con fármacos, los regímenes de dosificación se establecen para que sean seguros y efectivos en la mayoría de la población, por lo que no se requiere el MFT. Sin embargo, con ciertos fármacos, la correlación entre la dosis y los efectos terapéuticos o los resultados tóxicos es escasa y se vuelve difícil predecir cuál dosis hay que utilizar. En estas situaciones, tal vez funcione el ensayo y error, junto con la observación directa. Por ejemplo, si la dosis estándar de un fármaco no manifiesta un beneficio terapéutico y el aumento de la dosificación proporciona beneficio sin efectos tóxicos, se debe realizar el ajuste apropiado de la dosis. Por desgracia, es posible que este sistema resulte inapropiado en todas las situaciones. Si la sobredosis o dosis insuficiente produce consecuencias graves al paciente, el ensayo y error no está justificado. En este último caso, el MFT basado en correlaciones sólidas entre concentraciones circulantes del fármaco y beneficio terapéutico o efectos tóxicos adversos contribuye a la determinación de un régimen de dosificación apropiado. Desde el punto de vista estadístico, la dosis estándar se deriva a partir de observaciones en una población sana.² Los estados de enfermedad llegan a producir alteración de las condiciones fisiológicas, en las que la dosis estándar no produce la concentración esperada en la circulación.³ En estos casos, está justificada la individualización de un régimen de dosificación.⁴ Una vez más, el MFT proporciona una base para el establecimiento de un régimen de dosificación racional para ajustar situaciones individuales.⁵

A continuación se muestran las indicaciones habituales para el MFT:

- Las consecuencias de la sobredosis o dosis deficiente son importantes.
- Hay una pequeña diferencia entre una dosis terapéutica y una tóxica.
- Existe una pobre relación entre la dosis de un fármaco y las concentraciones circulantes, pero buena correlación entre las concentraciones circulantes y los efectos terapéuticos o tóxicos.
- Hay un cambio en el estado fisiológico del paciente que quizá afecte de manera impredecible las concentraciones circulatorias del fármaco.
- Ocurre o puede ocurrir una interacción del fármaco.
- El MFT contribuye al monitoreo del cumplimiento del paciente.

Una característica común de todos los aspectos del MFT es la evaluación cuantitativa de las concentraciones circulantes de los fármacos. Cuando se realiza en el contexto clínico, proporciona una base para la solución racional de problemas y optimización de los resultados del paciente.⁶ Este proceso requiere que se tomen en cuenta varios factores clave, como la vía de administración, el índice de absorción, la distribución del fármaco dentro del cuerpo y el grado de eliminación (fig. 28-1). Este capítulo comienza con un análisis de estos factores, y la manera en que influyen en la concentración

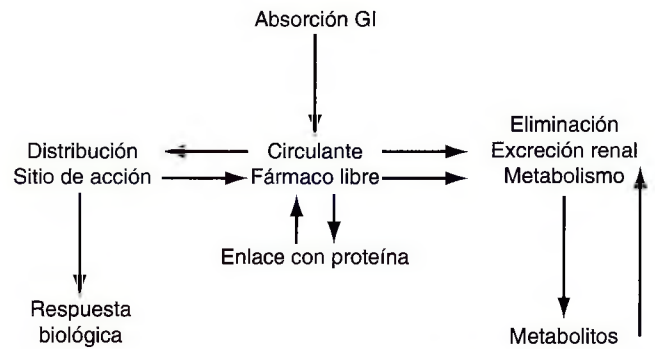


FIGURA 28-1. Panorama de los factores que influyen en la concentración circulante de un fármaco administrado por vía oral. GI, gastrointestinal.

circulante de un fármaco. En el resto del capítulo se estudian fármacos seleccionados que suelen estar sujetos al MFT.

VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

Para que un fármaco exprese un beneficio terapéutico, es necesario que se encuentre en una concentración apropiada en su sitio de acción. La medición de la concentración del fármaco en el sitio de acción sería ideal. Por desgracia, en la mayor parte de los fármacos, no es posible realizar esto. El sistema circulatorio ofrece una ruta conveniente para liberar de manera eficaz la mayor parte de los fármacos en su sitio de acción. El objetivo de casi todos los regímenes terapéuticos es adquirir una concentración sanguínea, plasmática o sérica, a la que se le correlaciona con una concentración efectiva en el sitio de acción. Los fármacos se administran por diversas vías. Cada una de ellas presenta diferentes características que influyen en las concentraciones circulantes. Es posible inyectar los fármacos directamente en la circulación (intravenosa, IV), en los músculos (intramuscular, IM) o justo debajo de la piel (subcutánea, SC). Además, se inhalan o absorben a través de la piel (transcutánea). La administración rectal (supositorio) se utiliza con frecuencia en niños y en situaciones en las que no es posible la administración oral. Esta última es la vía de administración más frecuente. El enfoque del presente análisis gira en torno a la administración oral e IV.

ABSORCIÓN

En los fármacos administrados por vía oral, la eficiencia de la *absorción* del tracto gastrointestinal depende de muchos factores. La formulación del fármaco es un aspecto clave. Las tabletas y cápsulas requieren disolución antes de absorberlas. La absorción de las soluciones líquidas tiende a ser más rápida. Algunos fármacos están sujetos a la asimilación por mecanismos de transporte destinados a los constituyentes dietéticos. Sin embargo, la mayor parte se absorbe por difusión pasiva. Este proceso requiere que el fármaco se encuentre en un estado hidrofóbico (no ionizado). Debido a la acidez gástrica, los ácidos débiles se absorben de manera eficiente en el estómago. Las bases débiles se absorben preferentemente en el intestino, donde el pH es más neutral. En la mayor parte de los fármacos, la absorción a partir del tracto gastrointestinal ocurre de

manera predecible en gente sana. Sin embargo, los cambios en la motilidad intestinal, el pH, la inflamación, así como los alimentos u otros fármacos, modifican de manera importante las características de absorción.⁷ En estos casos, el uso del MFT tal vez contribuya al establecimiento de un régimen de dosificación eficaz.

Todas las sustancias, incluyendo los fármacos, absorbidos del intestino (excepto el recto), ingresan al sistema portal hepático. En este sistema, toda la sangre del tracto gastrointestinal viaja a través del hígado antes de entrar en la circulación general. Ciertos fármacos están sujetos a asimilación y metabolismo hepático importantes durante este paso a través del hígado. A este proceso se le conoce como *metabolismo de primer paso*.⁸

En ciertos fármacos, existe un amplio grado de variación en estos procesos, incluso dentro de una población normal. Además, muchas de las características de absorción de un fármaco llegan a cambiar con la edad, el embarazo o los trastornos patológicos. En estos casos, quizá resulte difícil la predicción de la concentración circulante final de una dosis oral estándar. Sin embargo, con el uso del MFT, es posible determinar regímenes de dosificación oral efectivos.

FÁRMACOS LIBRES EN COMPARACIÓN CON COMBINADOS

La mayor parte de los fármacos en la circulación están sujetos a la combinación con componentes del suero. Aunque es posible que se formen muchas especies, en su mayor parte se trata de complejos de fármaco y proteína. Un aspecto importante necesario para comprender la dinámica del fármaco es que sólo la fracción libre interactúa con su sitio de acción y ocasiona una respuesta biológica. La fracción libre es la que mejor se correlaciona con los efectos terapéuticos y toxicológicos de un fármaco. En muchos medicamentos, el porcentaje libre depende de parámetros fisiológicos y bioquímicos. A una dosis estándar, el contenido total en plasma tal vez se encuentre dentro del *rango terapéutico*, pero el paciente experimenta efectos tóxicos adversos (fracción libre elevada) o no obtiene un beneficio terapéutico (fracción libre baja). Esto llega a ocurrir como resultado de cambios en el contenido proteico en suero. En ocasiones aparecen cambios en las proteínas combinadas con suero en presencia de inflamación, malignidades, embarazo, enfermedad hepática, síndrome nefrítico y desnutrición. El porcentaje libre tal vez se vea influido por la concentración de sustancias que compiten por los sitios de unión, que tal vez sean otros fármacos o sustancias endógenas, como urea, bilirrubina u hormonas. Se debe tomar en cuenta las mediciones de fármaco libre en aquellos medicamentos que están combinados en gran medida con proteína, y en los que los signos químicos son inconsistentes con las concentraciones totales del fármaco.

DISTRIBUCIÓN DEL FÁRMACO

La fracción libre de los fármacos circulantes está sujeta a difusión fuera de la vascularidad en los espacios intersticiales e intracelulares. La capacidad para abandonar la circulación depende bastante de la solubilidad lipídica del fármaco. Los fármacos que son muy hidrofóbicos atraviesan con facilidad las membranas celulares y se dividen en los compartimientos lipídicos, como las células adiposas y nerviosas. Los fármacos

que son polares pero no ionizados atraviesan, también, las membranas celulares pero no se aíslan dentro de los compartimientos lipídicos. Las especies ionizadas se difunden fuera de la vascularidad, pero con lentitud. El volumen del índice de distribución (V_d) se utiliza para describir las características de distribución de un fármaco. Desde el punto de vista matemático, esto se expresa de la siguiente manera:

$$V_d = D/C_t \quad (\text{Ec. 28-1})$$

donde: V_d = volumen de distribución (en litros)

D = dosis inyectada (miligramos [mg] o gramos [g]),

C = concentración en plasma (mg/L o g/L)

Los fármacos que son hidrofílicos llegan a presentar una V_d grande. Las sustancias que están ionizadas o se combinan de manera primordial en el plasma tienen valores de V_d pequeños.

ELIMINACIÓN DE FÁRMACOS

Los fármacos se eliminan del cuerpo por varios mecanismos. Más allá del mecanismo de eliminación, los decrementos en la concentración sérica de la mayor parte de los fármacos a menudo ocurre como un proceso de primer orden (índice exponencial de pérdida). Esto implica que el índice de cambio en la concentración del fármaco con el tiempo varía de manera continua en relación con la concentración del fármaco. La eliminación de primer orden obedece a la siguiente ecuación general:

$$\Delta C/\Delta T = -kC \quad (\text{Ec. 28-2})$$

Esta ecuación define la manera en que el cambio en la concentración por unidad de tiempo ($\Delta C/\Delta T$) se relaciona directamente con la concentración del fármaco (C) y la constante (k). El valor de k es un factor de proporcionalidad simple que describe el cambio de porcentaje (negativo debido a que disminuye) por unidad de tiempo; a menudo se le denomina *constante de eliminación* o *índice de eliminación*. La solución gráfica a esta ecuación es una función exponencial que declina de la manera curvilínea prevista, con aproximación asintótica a cero (fig. 28-2). En la gráfica que se muestra en la figura 28-2 se ilustra un índice rápido de cambio a concentraciones elevadas del fármaco e índices lentos de cambio a concentraciones bajas del fármaco. Su registro en las dimensiones semilogarítmicas (fig. 28-3) llega a hacer lineal esta función.

El metabolismo hepático o la filtración renal, o una combinación de ambos, eliminan la mayor parte de los fármacos. En ciertos medicamentos, la eliminación por estas vías es bastante variable. Además, los cambios funcionales en estos órganos tal vez ocasionen modificaciones en el índice de eliminación. En estas situaciones, la información con respecto al índice de eliminación y el cálculo de la concentración circulante de un fármaco después de un período determinado constituyen factores importantes en el establecimiento de un régimen de dosificación efectivo y seguro. La ecuación 28-2 y las figuras 28-2 y 28-3 son útiles en la determinación del índice de eliminación y la concentración de un fármaco después de un período determinado. En la siguiente ecuación se ilustra la manera en que se usa la ecuación.

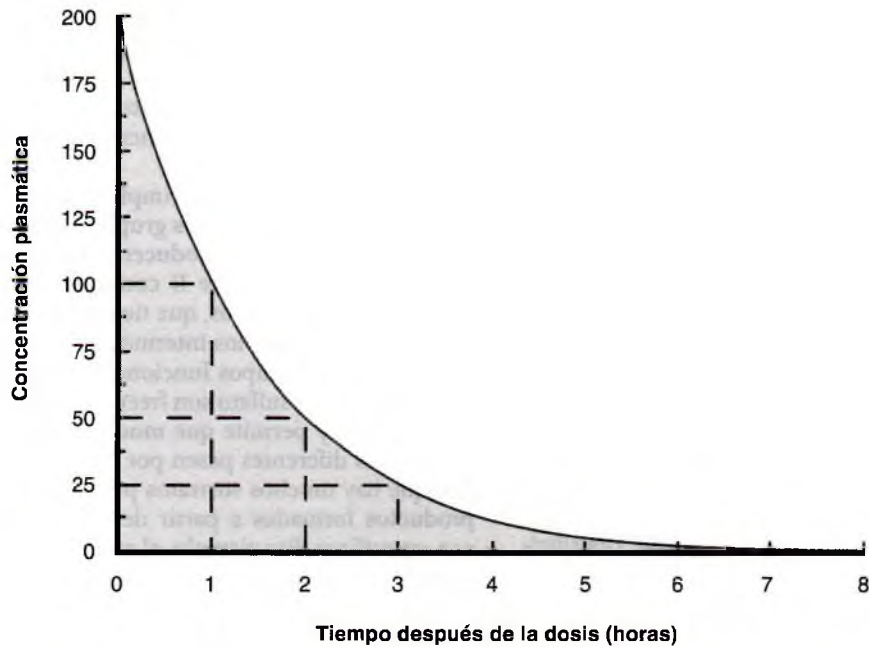


FIGURA 28-2. Eliminación de primer orden del fármaco. En esta gráfica se demuestra el índice exponencial de pérdida en una escala lineal. Las líneas punteadas son representativas de la vida media.

La integración de la ecuación 28-2 produce lo siguiente:

$$C_T = C_0 e^{-kT} \quad (\text{Ec. 28-3})$$

donde: C_0 = la concentración inicial del fármaco,
 C_T = la concentración del fármaco después del período determinado (T),
 k = la constante de eliminación, y
 T = el período evaluado.

Esta es la forma más útil de la ecuación de eliminación. A partir de ella, es posible calcular la constante de eliminación o, si se conoce el valor de k , determinar la cantidad de fármaco que se presentará después de un período determinado.

Por ejemplo:

La concentración de la gentamicina es de 10 $\mu\text{g/ml}$ a las 12:00.
 A las 16:00, la concentración de la gentamicina es de 6 $\mu\text{g/ml}$.

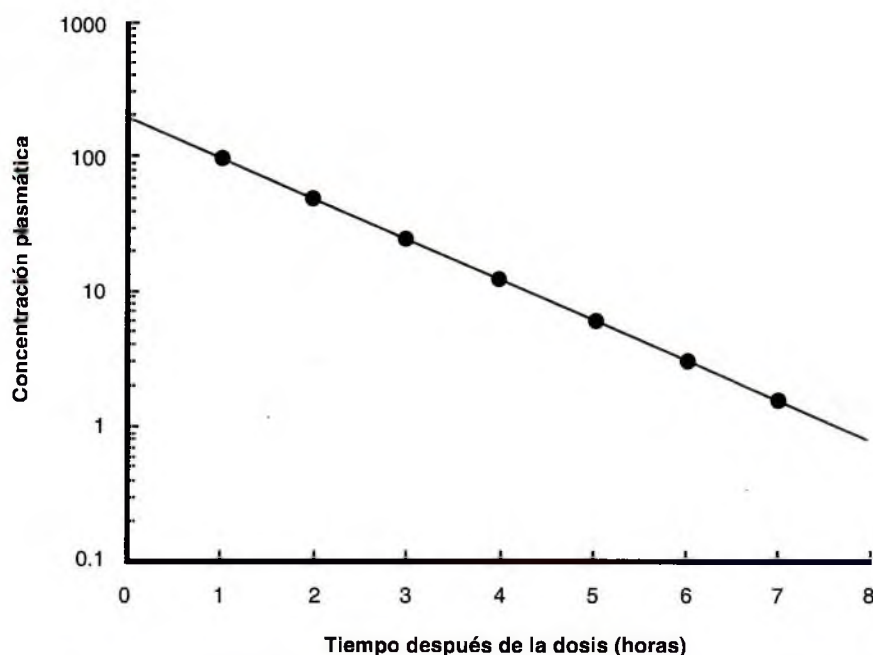


FIGURA 28-3. Registro semilogarítmico del índice exponencial de eliminación del fármaco. La pendiente de esta gráfica es igual al índice de eliminación (k).

¿Cuál es la constante de eliminación (k) para la gentamicina en este paciente?

A través de la ecuación 28-3:

$$C_0 = 10$$

$$C_t = 6$$

$$T = 4 \text{ horas}$$

Al sustituir estos valores en la ecuación, se obtiene:

$$6 = 10 e^{-k (4 \text{ horas})}$$

Al dividir ambos lados entre 10, se obtiene:

$$0.6 = e^{-k (4 \text{ horas})}$$

Para eliminar el signo exponencial, se toma el logaritmo natural de ambos lados:

$$\ln 0.6 = -k (4 \text{ horas})$$

Resolviendo el logaritmo natural:

$$-0.51 = -k (4 \text{ horas})$$

Multiplicando por -1 :

$$0.51 = k (4 \text{ horas})$$

Dividiendo ambos lados entre 4 horas:

$$0.13/h = k$$

Este valor calculado para k indica que el paciente está eliminando 13% de gentamicina sérica por hora.

En este mismo paciente el mismo día, ¿cuál sería la concentración en suero prevista de gentamicina a media noche (24:00)?

Para C_0 , es posible utilizar el valor de las 12:00 o de las 16:00, siempre y cuando se use el valor de tiempo correspondiente adecuado. En este ejemplo, se utiliza el valor de las 16:00 de 6 $\mu\text{g/ml}$.

$$C_0 = 6 \mu\text{g/ml}$$

$$T = 8 \text{ horas}$$

$$k = 0.13/h$$

Sustituyendo en la ecuación 28-3:

$$C_T = 6 e^{-0.13/hora (8 \text{ horas})}$$

Resolviendo para el exponente:

$$C_T = 6 e^{-1.04}$$

Nótese que la unidad de tiempo (horas) se ha cancelado. Al resolver el exponente:

$$C_T = 6 (0.35)$$

$$C_T = 2.1 \mu\text{g/ml}$$

Nótese que se llevaron a cabo las unidades de concentración.

Aunque la constante de eliminación (k) es un valor útil, no es la nomenclatura habitual en el entorno clínico. En cambio, se utiliza el término *vida media*. Ésta representa el tiempo necesario para que la concentración en suero disminuya a la mitad. Es posible determinarla de manera gráfica (fig. 28-2) o por conversión de la constante de eliminación (k) a la vida media ($T_{1/2}$) a través de la fórmula de la ecuación 28-4. De estos dos métodos, el cálculo proporciona una manera fácil y precisa para determinar la vida media.

$$T_{1/2} = 0.693/k \quad (\text{Ec. 28-4})$$

Eliminación metabólica

Los xenobióticos son sustancias que no suelen encontrarse dentro de los sistemas humanos, aunque llegan a introducirse por vías bioquímicas destinadas a sustancias endógenas. La mayor parte de los fármacos son xenobióticos. Existen muchos caminos bioquímicos potenciales por los que avanzan los fármacos. La vía bioquímica responsable de una gran parte del metabolismo del fármaco es el sistema de la oxidasa de función mixta (OFM) hepática.

La función básica de este sistema implica la captación de sustancias hidrófobas y, a través de una serie de reacciones enzimáticas, su conversión en sustancias solubles en agua. Luego estos productos son bombeados en la bilis o liberados en la circulación general, donde se eliminan por filtración renal.

Existen muchas enzimas implicadas en el sistema OFM. Éstas suelen dividirse en dos grupos o fases funcionales. Las reacciones de la fase I producen intermediarios reactivos. Las reacciones de la fase II conjugan grupos funcionales con estos sitios reactivos, que tienen productos solubles en agua. Es posible que los intermediarios reactivos se conjuguen con varios grupos funcionales: la glutatona, la glicina, el fosfato y el sulfato son frecuentes. El sistema OFM no es específico y permite que muchas sustancias endógenas y exógenas diferentes pasen por estas series de reacciones. Aunque hay muchos sustratos potenciales en esta ruta, los productos formados a partir de una sustancia individual son específicos. Por ejemplo, el acetaminofeno es un sustrato para OFM y siempre forma un conjugado de glutatona. Además, si el grupo de conjugación para un fármaco determinado se reduce, los productos de la fase aún se generan. En esta situación, la acumulación de los productos de la fase I llegan a ocasionar efectos tóxicos adversos.

Además, resulta notable que el sistema OFM es inducible. Esto se observa como un aumento en la síntesis y la actividad de las enzimas de índice limitante dentro de esta ruta. Los inductores más frecuentes son xenobióticos, que son sustratos en esta vía. Ciertos fármacos estimulan su propio índice de eliminación. Debido a la variabilidad biológica en el grado de inducción, el MFT tal vez contribuya, una vez más, al establecimiento de un régimen de dosificación apropiado.

Puesto que muchos sustratos potenciales ingresan al sistema OFM, ocurren muchas interacciones fármaco-fármaco en este camino.⁹ Llegan a presentarse interacciones competitivas y no competitivas. Esto ocasiona alteración en los índices de eliminación de los fármacos implicados.¹⁰ En la mayor parte de los casos, el grado de alteración es imprevisible. El valor de MFT vuelve a ser evidente.

Parte de este análisis es que los cambios en el estado hepático quizá originen modificaciones en la concentración de los fármacos circulantes eliminados por esta ruta.¹¹ Por lo general, la inducción del sistema OFM produce una eliminación acelerada y menor vida media correspondiente. Por el contrario, el estado de enfermedad hepática caracterizado por pérdida de tejido funcional tal vez ocasione índices de eliminación más lentos y vidas medias correspondientes más largas.⁸ En estas situaciones, el MFT contribuye al ajuste de la dosificación.

En algunos fármacos, hay variación importante en el índice de metabolismo hepático y no hepático del fármaco dentro de una población normal. Esto da como resultado un índice de eliminación bastante variable, incluso en ausencia de enfermedad. El establecimiento de regímenes de dosificación para estos fármacos es, en muchos casos, asistido por el uso de MFT. Con el empleo de la genética molecular, ahora es posible identificar variantes genéticas frecuentes de algunas rutas metabolizantes de fármacos.¹²

La identificación de estos individuos es útil en el establecimiento de un régimen de dosificación individualizado.

Eliminación renal

La fracción libre plasmática de fármacos de origen o sus metabolitos está sujeta a filtración glomerular o secreción renal, o ambas.¹³ En aquellos fármacos no secretados o sujetos a reabsorción, el índice de eliminación del fármaco libre se relaciona directamente con la tasa de eliminación de la creatinina. La disminución de la tasa de filtración glomerular ocasiona aumento en la vida media y en la concentración séricas. Los antibióticos aminoglucósidos y la ciclosporina son ejemplos de fármacos con este comportamiento.

FARMACOCINÉTICA

La *farmacocinética* es el modelo matemático de la concentración del fármaco en la circulación. Este proceso contribuye al establecimiento o la modificación de un régimen de dosificación. Se toman en cuenta todos los factores que determinan la concentración de un fármaco en suero y su índice de cambio. Muchos factores ya estudiados en este mismo capítulo se incluirán en este campo de estudio. En la figura 28-3 se muestra una gráfica idealizada de la eliminación después de un bolo IV. Se asume que no hay distribución de este fármaco. Un medicamento que se distribuye fuera del espacio vascular produciría una gráfica de eliminación como la que se muestra en la figura 28-4. El índice rápido de cambio que se observa inmediatamente después del bolo IV inicial es resultado de la distribución y eliminación. Sólo es posible determinar el índice de eliminación (k) después de que se completa la distribución. En la figura 28-5 aparece una gráfica de concentración en sue-

ro como se observaría después de la administración oral de un fármaco. A medida que el fármaco absorbido ingresa a la circulación, está sujeto a la distribución y eliminación simultáneas. Las concentraciones en suero se elevan cuando el índice de absorción sobrepasa la distribución y eliminación. La concentración disminuye cuando el índice de eliminación y distribución excede la absorción. El índice de eliminación sólo se determina después de que se completan la absorción y la distribución.

La mayor parte de los fármacos no se administran como un simple bolo, sino que se liberan de manera fija (p. ej., una vez cada ocho horas). Con este tipo de administración, la concentración del fármaco en suero oscila entre un valor máximo (*concentración pico del fármaco*) y uno mínimo (*concentración de depresión del fármaco*). El objetivo de un régimen de dosificación múltiple es lograr un valor mínimo que se encuentre en el rango terapéutico y un máximo que no esté en el rango tóxico. La evaluación de esta función oscilante no se realiza inmediatamente después del inicio de un régimen de dosificación establecido. Se requieren alrededor de siete dosis antes de que se adquiera una oscilación fija. En la figura 28-6 se demuestra la base de esta cantidad (siete dosis).

Después de la primera dosis oral, ocurren la absorción y distribución, seguidas sólo por la eliminación. Antes de que la concentración del fármaco disminuya de manera importante, se administra la segunda dosis. El valor máximo de la segunda dosis se agrega al que permanece de la primera dosis. Debido a que la eliminación es de primer orden, la concentración elevada produce un mayor índice de eliminación. De la tercera a la séptima dosis programadas tienen el mismo efecto, lo que aumenta la concentración en suero y la tasa de eliminación. Para el final de la séptima dosis, la cantidad de fármaco administrado en una sola dosis es

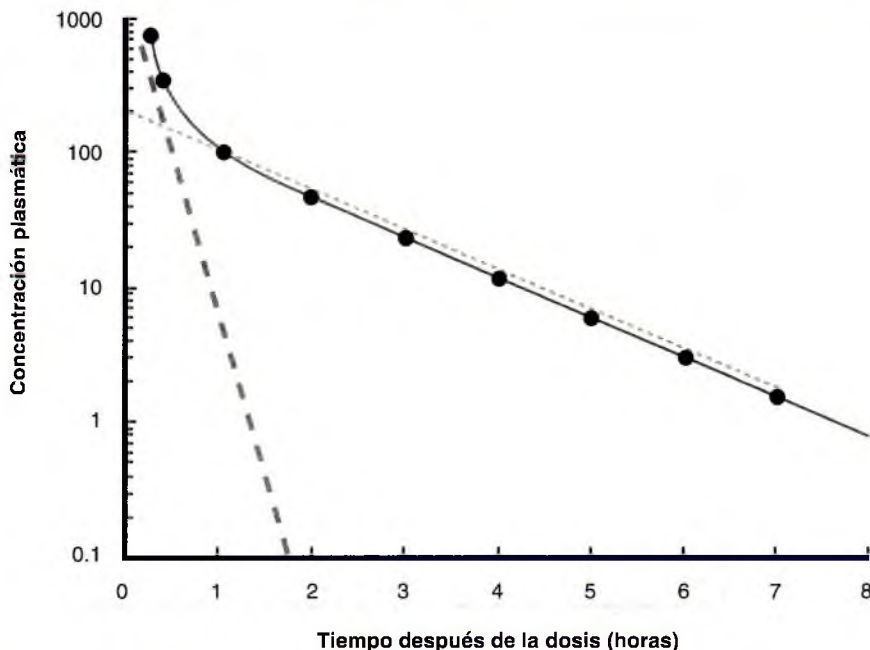


FIGURA 28-4. Registro semilogarítmico de eliminación de un fármaco sujeto a la distribución. El índice de eliminación inicial se ve influido por la distribución (línea punteada gruesa) y el índice de eliminación terminal (línea punteada delgada). Después de que se completa la distribución (1.5 h), la eliminación es de primer orden.

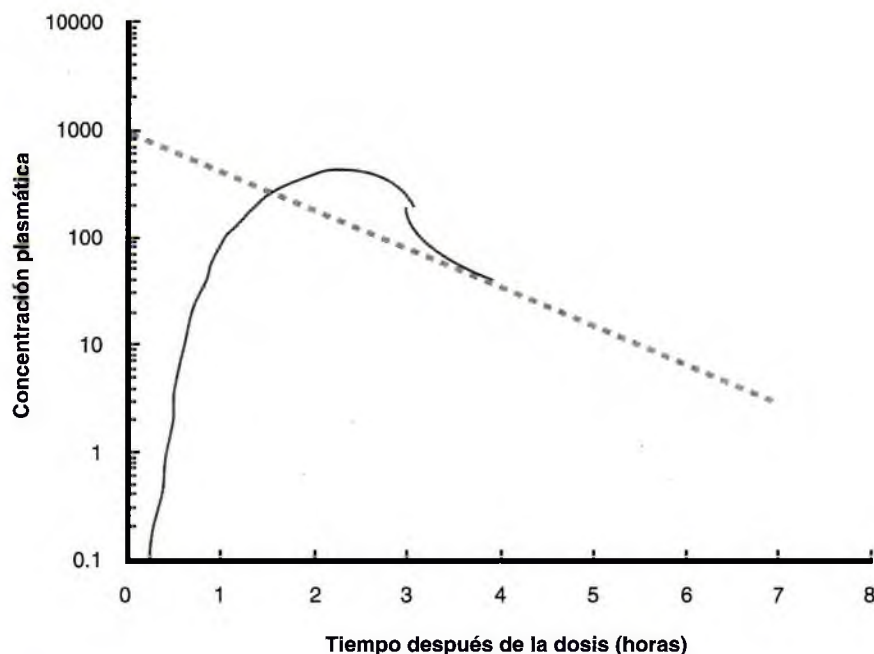


FIGURA 28-5. Concentración en plasma de un fármaco después de la administración oral. Luego de la administración oral en el momento 0, la concentración en suero se incrementa (*línea continua*) después de un período breve. Las concentraciones en plasma alcanzan su cifra máxima cuando el índice de eliminación y distribución sobrepasa la tasa de absorción. La eliminación de primer orden (*línea punteada*) ocurre cuando se completan la absorción y distribución.

igual a la cantidad eliminada durante el período de dosificación. Para este momento, se establece el estado estable y se evalúan las concentraciones máxima y mínima.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

La programación de la recolección de la muestra es el factor individual más importante en el MFT. En términos generales, las concentraciones mínimas para la mayor parte de los fármacos se registran a la derecha antes de la próxima dosis; las concentraciones máximas se registran una hora después

de la dosis administrada por vía oral. Esta regla general siempre se utiliza en el contexto clínico de la situación. Un fármaco empleado con frecuencia que es la excepción a esta regla es la digoxina. En los fármacos que se absorben de manera lenta, tal vez se requieran varias horas antes de evaluar las concentraciones del fármaco. En todas las situaciones, se realizarán las determinaciones en suero sólo después de lograr el estado fijo.

El suero o plasma es la muestra de elección para la determinación de las concentraciones circulantes de la mayor parte de los fármacos. Se debe tener cuidado de utilizar el

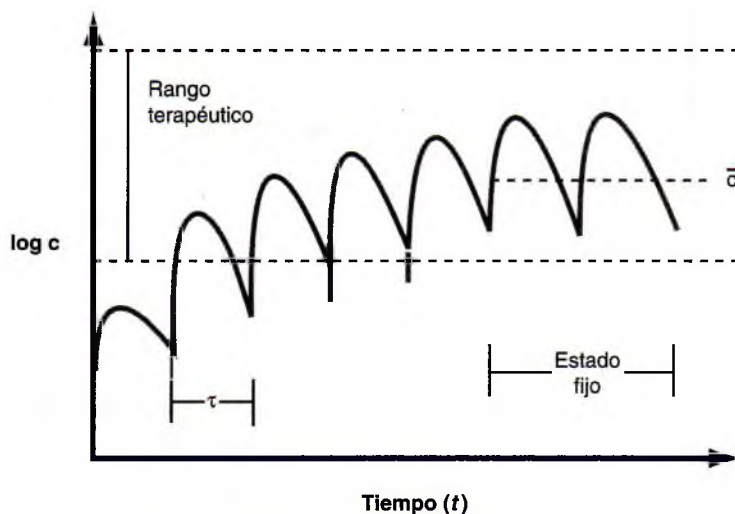


FIGURA 28-6. Cinética de estado fijo en un régimen de dosificación múltiple. El carácter τ indica el intervalo de dosificación. Las dosis iguales en este intervalo alcanzan estado fijo después de seis o siete intervalos de dosificación. \bar{c} significa concentración del fármaco.

recipiente adecuado cuando se recolecten estas muestras. Algunos fármacos muestran tendencia a ser absorbidos en el gel de ciertos tubos de recolección separadores de suero. Es necesario seguir las recomendaciones del vendedor cuando este efecto sea posible. De lo contrario, tal vez se produzcan valores bajos falsos. El plasma heparinizado es adecuado en la mayor parte de los análisis de fármacos. Los anticoagulantes unidos al calcio agregan varios aniones y cationes que llegan a interferir con el análisis o causar que un fármaco se distribuya de manera diferente entre las células y el plasma. Como resultado, el plasma de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), citrado y oxalatado no suele ser una muestra aceptable.

FÁRMACOS CARDIOACTIVOS

Muchos trastornos cardíacos se tratan con fármacos. De éstos, sólo algunos requieren MFT.¹⁴ Los glucósidos cardíacos y los antiarrítmicos son dos clases de fármacos en que la valoración de la concentración sérica contribuye en las decisiones con respecto a su régimen de dosificación.¹⁵

Digoxina

La digoxina es un glucósido cardíaco utilizado en el tratamiento de insuficiencia cardíaca congestiva.¹⁶ Funciona por inhibición de la membrana $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$. Esto origina una disminución del potasio intracelular, lo que da como resultado aumento del calcio intracelular en los miocitos cardíacos. La elevación de calcio mejora la

contractilidad cardíaca (efecto inotrópico). Este efecto se observa en el rango de la concentración sérica de 0.8 a 2 ng/ml. Las concentraciones de suero más elevadas (3 ng/ml) disminuyen el índice de despolarización ventricular. Aunque es posible utilizar este valor para el control de la taquicardia ventricular, se realiza con poca frecuencia debido a los efectos tóxicos adversos que se vuelven evidentes a concentraciones séricas mayores de 2 ng/ml. La toxicidad de la digoxina afecta muchos órganos y tipos de células. Son habituales la náusea, el vómito y los trastornos visuales. Los efectos cardíacos, como las contracciones ventriculares prematuras (CVP) y la obstrucción del nodo auriculo-ventricular, también son frecuentes.

La absorción de la digoxina administrada por vía oral es variable. Se ve influida por factores dietéticos, movilidad gastrointestinal y la formulación del fármaco. En la circulación, alrededor de 25% está unida a proteínas. La forma no enlazada (libre) de la digoxina en suero se aísla dentro de las células musculares. En equilibrio, la concentración tisular es de 15 a 30 veces mayor que en plasma. La eliminación de la digoxina ocurre sobre todo por filtración renal de la forma libre en el plasma. El resto se metaboliza en diversos productos por el hígado. La vida media de la digoxina plasmática es de 38 horas en un adulto promedio. El factor de mayor contribución a la vida media es la liberación lenta de digoxina en tejido hacia la circulación.

Debido a la absorción gastrointestinal variable de la digoxina, el establecimiento de un régimen de dosificación a menudo requiere la valoración de las concentraciones séricas después del inicio de la dosificación para

ESTUDIO DE CASO 28-1

Un paciente con insuficiencia cardíaca congestiva ha sido tratado con digoxina durante varios años con buenos resultados. Los registros de laboratorio indican que las concentraciones de digoxina máximas semianuales se mantuvieron dentro del rango terapéutico. Este paciente desarrolló en fecha reciente insuficiencia renal, por lo que se realizaron pruebas para admisión hospitalaria. En el cuadro 28-1.1 de estudio de caso se muestran resultados de laboratorio de suero y orina seleccionados. Aunque la digoxina es elevada, el médico indica que el paciente no muestra señales o síntomas de toxicidad.

Preguntas

1. Si estos resultados se obtuvieron de una muestra aleatoria, ¿de qué manera el tiempo transcurrido desde la última dosis afecta la interpretación de los resultados de la digoxina?
2. Además del tiempo, ¿qué factores adicionales deben tomarse en cuenta al interpretar los resultados de digoxina?
3. ¿Qué prueba de laboratorio adicional ayudaría a la interpretación de este caso?

CUADRO 28-1.1 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DEL LABORATORIO

PRUEBA	RESULTADO	RANGO DE REFERENCIA
Sodio	129	135 a 145 meq/L
Potasio	5.5	3.5 a 5 meq/L
Cloruro	113	97 a 107 meq/L
pH sanguíneo	7.25	7.35 a 7.45
TCO ₂	16	21 a 31 mmol/L
Nitrógeno de urea	180	5 a 20 mg/dl
Creatinina	4.5	0.6 a 1 mg/dl
Osmolalidad	275	282 a 300 mOsm/kg
Digoxina	2.5	0.9 a 2 ng/ml

asegurar que se logren concentraciones séricas efectivas y no tóxicas.¹⁷ Además, es posible que los cambios en el índice de filtración glomerular ejerzan un efecto dramático en la concentración en suero. En pacientes con enfermedad renal, es necesario realizar ajustes de dosificación frecuentes, en conjunto con las concentraciones séricas. Las acciones y toxicidades terapéuticas de la digoxina son afectadas por la concentración de los electrolitos en suero. El potasio y magnesio séricos bajos potencian las acciones de la digoxina. En estas condiciones, quizá se requiera el ajuste de las concentraciones séricas bajo el rango terapéutico para evitar toxicidad. El estado tiroideo influye, también, en las acciones de la digoxina. Los pacientes hipertiroides muestran resistencia a las acciones de la digoxina; los pacientes hipotiroideos son más sensibles.

La programación de la evaluación de los valores máximos de digoxina es crucial. En un adulto promedio, las concentraciones séricas alcanzan su cifra máxima entre dos y tres horas después de la dosis oral. Sin embargo, la captación dentro del tejido constituye un proceso relativamente lento. Como resultado, las concentraciones séricas máximas no se correlacionan con las concentraciones tisulares. Se ha establecido que la concentración sérica ocho horas después de una dosis administrada por vía oral se correlaciona con la concentración tisular, por lo que los valores máximos se suelen evaluar en ese momento. Las cifras máximas obtenidas antes de este período son engañosas y no son válidas.

El inmunoanálisis se utiliza para medir la concentración de la digoxina total en suero. Con la mayor parte de los análisis comerciales, la reactividad cruzada con metabolitos hepáticos es mínima. Sin embargo, los recién nacidos, las mujeres embarazadas y los pacientes con uremia o enfermedad hepática de etapa terminal producen una sustancia endógena que reacciona en forma cruzada con los anticuerpos usados para medir la digoxina sérica.¹⁸ En pacientes con estas sustancias inmunorreactivas semejantes a la digoxina, son frecuentes las concentraciones falsamente elevadas.

Lidocaína

La lidocaína se utiliza para corregir la arritmia ventricular y prevenir la fibrilación ventricular. Esto es importante sobre todo en pacientes con infarto al miocardio agudo. La lidocaína no se administra por vía oral debido a la eliminación hepática casi completa del fármaco absorbido (metabolismo de primer paso). Por lo general, la lidocaína se libera por infusión intravenosa continua después de una carga de dosis. Por tanto, las concentraciones en plasma permanecen relativamente constantes durante la administración. Las razones primarias para el monitoreo de la concentración de lidocaína plasmática son asegurar que se encuentra en el rango terapéutico de 1.5-4 µg/ml y evitar toxicidad, que aparece justo por arriba del rango terapéutico. La lidocaína plasmática en el rango de 4 a 8 µg/ml está relacionada con depresión del sistema nervioso central. Las concentraciones plasmáticas mayores de 8 µg/ml se vinculan con ataques y disminuciones graves en la presión sanguínea y en el ritmo cardíaco. La lidocaína se elimina principalmente por metabolismo hepático. La concentración de lidocaína plasmática depende del índice de administración y de la tasa de eliminación hepática.

Los cambios en la función renal tienen poco efecto en la lidocaína plasmática. El producto principal del metabolismo hepático de la lidocaína es el monoetilglicinexidilo (MEGX). Aunque esta sustancia tiene poca actividad terapéutica, su toxicidad se agrega al fármaco de origen. Al evaluar posibles reacciones tóxicas, se debe tomar en cuenta la suma de la lidocaína y el MEGX. Es posible valorar la lidocaína y el MEGX mediante cromatografía o inmunoanálisis. Además, muchos inmunoanálisis de lidocaína también miden el MEGX. Consulte la descripción del método inserto en el empaque o el manual del operador.

Quinidina

La quinidina es un fármaco que se produce de manera natural. Se utiliza para tratar varias situaciones de arritmia cardíaca.¹⁹ Las dos formulaciones más frecuentes son el sulfato de quinidina y el gluconato de quinidina. La administración oral es la forma de liberación más habitual. La absorción gastrointestinal es completa y rápida para el sulfato. Las concentraciones séricas máximas se alcanzan alrededor de dos horas después de una dosis oral del sulfato. El gluconato es una formulación de liberación lenta. La concentración sérica máxima se obtiene cuatro a cinco horas después de una dosis oral. Los efectos tóxicos adversos predominantes de la quinidina son náusea, vómito y molestia abdominal. Llega a observarse toxicidad cardiovascular, como las CVP, a dos veces el límite superior del rango terapéutico. En la mayor parte de los casos, el monitoreo de la quinidina sólo implica determinación del valor mínimo para asegurar que se encuentra dentro del rango terapéutico. La valoración de la concentración máxima se lleva a cabo sólo cuando existen síntomas de toxicidad. Debido a su lento índice de absorción, los valores mínimos de gluconato por lo general se registran una hora después de la última dosis.

La quinidina absorbida está unida en alrededor de 70% a proteínas séricas. La mayor parte se elimina por metabolismo hepático. La inducción de este sistema, como por barbitúricos, aumenta el índice de eliminación. El deterioro de este sistema, como se observa en la enfermedad hepática de etapa terminal, tal vez prolongue la vida media del fármaco. Es posible determinar la concentración de quinidina plasmática por cromatografía o inmunoanálisis.

Procainamida

Al igual que la quinidina, la procainamida se utiliza para tratar arritmia cardíaca. La administración oral es la más frecuente. La absorción gastrointestinal es rápida y completa. Las concentraciones plasmáticas máximas ocurren en alrededor de una hora. La procainamida está unida en alrededor de 20% con proteínas plasmáticas. Se elimina por una combinación de filtración renal y metabolismo hepático. La N-acetil procainamida (NAPA) es un metabolito hepático del fármaco de origen, con actividad antiarrítmica similar a la procainamida. Para determinar el potencial antiarrítmico total de este fármaco, hay que tomar en cuenta el medicamento de origen y este metabolito. La alteración en la función renal o hepática tal vez conduzca a aumento de la concentración sérica del fármaco de origen y sus metabolitos.

ESTUDIO DE CASO 28-2

Un paciente recibe procainamida para el tratamiento de arritmia cardíaca. Una dosis intravenosa produce una concentración en suero de 6.0 µg/ml. El rango terapéutico para la procainamida es de 4 a 8 µg/ml, y su vida media es de cuatro horas. Otra dosis equivalente se proporciona como bolo intravenoso cuatro horas después de la dosis inicial. Esto origina una concentración en suero de 7.5 µg/ml.

Preguntas

1. ¿La concentración sérica después de la segunda dosis parece apropiada? De no ser así, ¿cuál sería la concentración sérica esperada en este momento?
2. ¿Qué factores influirían en el índice de eliminación de este fármaco?

El aumento de la concentración da como resultado depresión miocárdica y arritmia.²⁰ Tanto la procainamida como su metabolito activo se miden por inmunoanálisis.

Disopiramida

La disopiramida es otro fármaco empleado para tratar arritmias cardíacas. Con frecuencia se le utiliza como sustituto de la quinidina cuando los efectos adversos de ésta son excesivos. Se administra más a menudo como preparación oral. La absorción gastrointestinal es completa y rápida. Se une a varias proteínas plasmáticas. La unión es bastante variable entre individuos, y su concentración depende de lo siguiente: a medida que se elevan las concentraciones séricas, también lo hace el porcentaje libre. Como resultado, es difícil correlacionar la concentración sérica total con el beneficio terapéutico y la toxicidad. En la mayoría de los pacientes, se observa que las concentraciones séricas totales en el rango de 3 a 5 µm/L son efectivas y no tóxicas. Sin embargo, en la interpretación de los resultados de la disopiramida se debe tomar en cuenta la perspectiva clínica. Las toxicidades primarias de la disopiramida dependen de la dosis. Tal vez aparezcan efectos anticolinérgicos, como boca seca y estreñimiento, a concentraciones séricas mayores de 4.5 µm/L. Por lo general, los efectos cardíacos, como la bradicardia y la obstrucción del nodo auriculoventricular, se presentan a concentraciones séricas mayores de 10 µm/L. El mecanismo primordial de eliminación de disopiramida es por filtración renal y, en menor proporción, por metabolismo hepático. En situaciones con índice de filtración glomerular bajo, la vida media se prolonga y los valores en suero aumentan. La concentración de disopiramida plasmática se determinará por cromatografía o inmunoensayo.

ANTIBIÓTICOS²¹

Aminoglucósidos

Los aminoglucósidos son un grupo de antibióticos relacionados desde el punto de vista químico que se utilizan para el tratamiento de infecciones con bacterias gramnegativas que son resistentes a antibióticos menos tóxicos. Existen muchos agentes individuales dentro de esta clasificación. Los encontrados con mayor frecuencia en clínica son la gentamicina, la tobramicina, la amikacina y la kanamicina.²²

Todos comparten un mecanismo común de acción, pero su efectividad contra las diferentes cepas de bacterias es variable. Además, comparten nefrotoxicidad y ototoxicidad. Los efectos ototóxicos implican rotura del coclear del oído interno y de las membranas vestibulares, lo que ocasiona daño auricular y en el equilibrio.²³ Estos efectos son irreversibles. Tal vez se observen efectos acumulativos con la exposición repetida a concentraciones elevadas. La nefrotoxicidad constituye, también, una preocupación importante. Los aminoglucósidos afectan la función de los túbulos proximales del riñón, lo que es posible que desencadene un desequilibrio electrolítico y tal vez proteinuria. Por lo general, estos efectos son reversibles. Sin embargo, la exposición prolongada a concentraciones elevadas produce necrosis de estas células e insuficiencia renal subsiguiente. Se consideran concentraciones tóxicas a cualquier valor sobre el rango terapéutico.

Debido a que los aminoglucósidos no se absorben de manera adecuada del tracto gastrointestinal, la administración se limita a la vía IV o IM, por lo que estos fármacos no se utilizan en clínicas de pacientes externos. Los aminoglucósidos se eliminan por filtración renal. En pacientes con afección de la función renal, se debe realizar los ajustes apropiados con base en las concentraciones en suero. La cromatografía y el inmunoanálisis son los métodos primarios empleados para las determinaciones de aminoglucósidos.

Vancomicina

La vancomicina es un antibiótico glucopéptido que es efectivo contra cocos y bacilos grampositivos. Debido a su deficiente absorción oral, la vancomicina se administra por infusión IV. A diferencia de otros fármacos, aún no se establece con firmeza una relación clara entre la concentración sérica y los efectos adversos tóxicos. En efecto, muchos de los efectos tóxicos ocurren en el rango terapéutico (5 a 10 µm/L). Las principales toxicidades de la vancomicina son síndrome del hombre rojo, nefrotoxicidad y ototoxicidad. El síndrome del hombre rojo se caracteriza por sonrojado eritémico de las extremidades. Los efectos renales y auditivos son similares a los de los aminoglucósidos. Al parecer los efectos nefróticos ocurren con mayor frecuencia a concentraciones mínimas que son mayores de 10 µm/L. El efecto ototóxico sobreviene más a menudo

cuando las concentraciones séricas máximas sobrepasan los 40 µm/L. Debido a que la vancomicina tiene una fase de distribución prolongada, en la mayor parte de los casos sólo se vigilan los valores mínimos para asegurar que la concentración del fármaco en el suero se encuentre dentro del rango terapéutico.²⁴ La vancomicina se elimina sobre todo por filtración y excreción renales. Se valora por métodos de inmunoanálisis y cromatográficos.

FÁRMACOS ANTIEPILEPTICOS

La epilepsia, las convulsiones y los ataques son trastornos neurológicos frecuentes. Debido a que estos fármacos se utilizan como profilácticos, a los rangos terapéuticos se les considera directrices a seguir. Las concentraciones efectivas se determinan como el valor que funciona con efectos adversos aceptables o sin ellos.²⁵ La mayor parte de los fármacos antiepilepticos se evalúan por inmunoanálisis o por cromatografía.

Fenobarbital

El fenobarbital es un barbitúrico que controla de manera efectiva varios tipos de ataques. La absorción del fenobarbital oral es lenta pero completa. En la mayoría de los pacientes, la concentración sérica máxima se alcanza alrededor de 10 h después de una dosis oral. El fenobarbital circulante está unido a 50%. Se elimina de manera primordial por metabolismo hepático. Sin embargo, la filtración renal también es importante. Con la función renal y hepática afectadas, el índice de eliminación disminuye. La vida media del fenobarbital sérico es de 70 a 100 h. Debido a su lenta absorción y vida media larga, las concentraciones en suero no cambian en forma importante en un intervalo de dosificación. Por tanto, a menudo sólo se elevan los valores mínimos, a menos que se sospeche de toxicidad. Los efectos tóxicos adversos del fenobarbital incluyen adormecimiento, fatiga, depresión y capacidad mental reducida.

La eliminación del fenobarbital ocurre a través del sistema OFM hepático. Hay que destacar que también se trata de un potente inductor de este sistema. Después del

inicio de la terapia, por lo general se requiere ajuste de la dosis después de completar el período de inducción. En la mayoría de los individuos, esto sucede entre 10 y 15 días después de la primera dosis.

La *primidona* es una proforma del fenobarbital. Después de la absorción de una dosis oral, este fármaco se convierte con rapidez a su forma activa, el fenobarbital. La primidona se utiliza en lugar del fenobarbital cuando es necesario establecer con rapidez la cinética de estado fijo. La primidona se absorbe con rapidez y se convierte al fármaco activo. Es necesario medir tanto la primidona como el fenobarbital para evaluar la cantidad potencial total de este último en la circulación.

Fenitoína

La fenitoína (Dilantin) se utiliza para tratar problemas de ataques. Además, se emplea como agente profiláctico de corto plazo en presencia de lesión cerebral para prevenir la pérdida de tejido funcional. La fenitoína se administra principalmente como preparación oral. La absorción gastrointestinal es variable y, algunas veces, incompleta. La fenitoína circulante tiene un grado alto, pero variable, de unión con proteínas (87 a 97%). Al igual que la mayor parte de los fármacos, la fracción no enlazada (libre) es la porción con actividad biológica de la concentración sérica total. Es posible que ocurra reducción de la unión con proteína con anemia, hipoalbuminemia y otros fármacos. Se observa toxicidad cuando la concentración sérica total del fármaco se encuentra dentro del rango terapéutico. La principal toxicidad de la fenitoína consiste en la producción de ataques. En pacientes que reciben tratamiento con fenitoína, los ataques tal vez se originen por concentraciones subterapéuticas o tóxicas. Los efectos adversos adicionales de la fenitoína incluyen hirsutismo, hiperplasia gingival y deficiencia de vitamina D y de folato. La fenitoína se elimina sólo por metabolismo hepático. A concentraciones terapéuticas, esta vía de eliminación tal vez se sature (cinética de orden 0). Por tanto, los cambios relativamente pequeños en la dosificación o eliminación tal vez produzcan efectos drásticos en la concentración plasmática.

ESTUDIO DE CASO 28-3

Un niño, que ha recibido tratamiento para problemas de ataques con fenitoína oral durante varios años con buenos resultados, sufrió diarrea grave en las últimas dos semanas. Después de esto, el paciente tuvo un ataque epiléptico. La evaluación de la fenitoína sérica al momento del ataque reveló un valor bajo. La dosis se aumentó hasta que la concentración sérica estuvo dentro del rango terapéutico. La diarrea se resolvió. Varios días después, el paciente presentó otro ataque.

Preguntas

1. ¿Cuál es la causa más probable de la fenitoína sérica baja inicial?
2. ¿La determinación de la fenitoína sérica libre ayudaría a resolver la causa del ataque inicial?
3. ¿Cuáles otros análisis, además de la determinación de la fenitoína, en suero serían útiles en esta situación?
4. ¿Cuál es la causa más probable del ataque después de que se resolvió la diarrea?

En la mayoría de los pacientes, las concentraciones séricas totales de 10 a 20 g/ml son efectivas. Sin embargo, en muchas situaciones, se debe individualizar el rango efectivo de la concentración sérica total para ajustarse a la situación clínica. El rango terapéutico para la fenitoína sérica libre es de 1 a 2 µg/ml. Éste se correlaciona de manera adecuada con las acciones farmacológicas de este fármaco. En pacientes con alteración de la unión proteica sérica, la determinación de la fracción libre contribuye al ajuste de la dosificación.

La *fosfenitoína* es una proforma inyectable de fenitoína que se metaboliza con rapidez en suero, con liberación del fármaco de origen.²⁶ Se requieren alrededor de 75 min para que esta conversión tenga lugar. La mayor parte de los inmunoanálisis para la fenitoína no detectan esta proforma. De este modo, las concentraciones máximas sólo se evaluarán después de completar la conversión al fármaco activo.

Ácido valproico

El ácido valproico se utiliza para el tratamiento del pequeño mal y ataques de ausencia.²⁷ Se administra como preparación oral. La absorción gastrointestinal es rápida y completa. El ácido valproico circulante se encuentra bastante unido a proteínas (93%). El porcentaje enlazado disminuye en presencia de insuficiencia renal, en enfermedad hepática tardía y con otros fármacos que llegan a competir por su sitio de unión. Se elimina por metabolismo hepático. El rango terapéutico del ácido valproico es relativamente amplio (50 a 120 µg/ml). La determinación de la concentración sérica se realiza sobre todo para asegurar que no se presenten valores tóxicos (más de 120 µg/ml). La náusea, el letargo y el aumento de peso son los efectos adversos más habituales. La pancreatitis, hiperamonemia y alucinaciones se relacionan con cifras séricas elevadas (más que 200 µg/ml). En ocasiones ocurre disfunción hepática en algunos pacientes, incluso a concentraciones séricas terapéuticas, por lo que se debe verificar con frecuencia los indicadores hepáticos durante los primeros seis meses después del comienzo de la terapia. Muchos factores influyen en la fracción no enlazada (libre) de ácido valproico sérico total. Por tanto, la determinación de la fracción libre proporciona un índice más confiable de las concentraciones terapéuticas y tóxicas.

Carbamacepina

La carbamacepina es un tratamiento efectivo en varios trastornos de ataques. Debido a sus importantes efectos tóxicos adversos, se utiliza con menor frecuencia, excepto cuando los pacientes no responden a otros fármacos. Administrada por vía oral, se absorbe con alto grado de variabilidad. La carbamacepina circulante está unida con proteínas en un 70 a 80%. Se elimina principalmente por metabolismo hepático. Muchas formas de disfunción hepática ocasionan la acumulación en suero. La carbamacepina es un inductor de su propio metabolismo. De este modo, se deben analizar las concentraciones plasmáticas frecuentes al comienzo de la terapia hasta que se complete el período de inducción.

La toxicidad por carbamacepina es diversa y variable. Ciertos efectos ocurren en una forma dependiente de la dosis; otros no. Existen varios efectos idiosincrásicos de la carbamacepina, que afectan a una porción de la población a concentraciones terapéuticas, como salpullidos, leucopenia, náusea, vértigo y reacciones febriles. De éstos, la leucopenia es el más grave. A menudo se realizan recuentos de leucocitos durante las primeras dos semanas de terapia para detectar este posible efecto tóxico. Durante este período, también se lleva a cabo la prueba de la función hepática. Con frecuencia se detecta disfunción hepática transitoria leve en este mismo intervalo. Los aumentos grandes y persistentes en los índices hepáticos o la leucopenia importante suelen propiciar la interrupción del fármaco. El rango terapéutico para la carbamacepina es de 4 a 12 µg/ml.²⁸ Las concentraciones plasmáticas mayores que 15 µg/ml están relacionadas con discrasias hematológicas y posible anemia aplásica.

Etosuximida

La etosuximida se utiliza para el control del ataque de pequeño mal. Se administra como preparación oral. El rango terapéutico es de 40 a 100 µg/ml. Las toxicidades relacionadas con concentraciones plasmáticas elevadas son raras, tolerables y autolimitantes. Se efectúa MFT de la etosuximida para asegurar que las concentraciones séricas se encuentren dentro del rango terapéutico.

FÁRMACOS PSICOACTIVOS

Litio

El litio es un fármaco administrado por vía oral empleado para tratar depresión maníaca (trastorno bipolar). La absorción es completa y rápida. El litio es un metal catiónico que no se une a las proteínas. La distribución es uniforme en toda el agua corporal. Se elimina de manera primordial por filtración renal y está sujeta a la reabsorción. Por lo general, la afección en la función renal ocasiona acumulación. No están bien establecidas las correlaciones entre la concentración sérica y la respuesta terapéutica. Sin embargo, las concentraciones séricas en el rango de 0.8 a 1.2 mmol/L son efectivas en una proporción grande de la población enferma. El propósito del MFT para el litio es evitar concentraciones séricas relacionadas con efectos tóxicos.²⁹ Las concentraciones séricas en el rango de 1.2 a 2 mmol/L llegan a causar apatía, letargo, dificultades del lenguaje y debilidad muscular. Las concentraciones séricas mayores de 2 mmol/L se relacionan con rigidez muscular, ataques, y posible coma. La determinación del litio sérico suele realizarse por electrodo selectivo del ion. La fotometría de emisión de flama y la absorción atómica son, también, métodos viables.

Antidepresivos tricíclicos

Los antidepresivos tricíclicos (ATC) son una clase de fármacos usados para tratar depresión, insomnio, apatía extrema y pérdida de libido. Desde una perspectiva del

laboratorio clínico, la imipramina, la amitriptilina y la doxepina son los más relevantes.²⁴ La desipramina y la nortriptilina son productos metabólicos activos de la imipramina y amitriptilina, respectivamente, por lo que también se incluirán. Los ATC son fármacos administrados por vía oral con un grado variable de absorción. En muchos pacientes, retardan el vaciado gástrico y la motilidad intestinal, lo que hace lento de manera importante su índice de absorción. Como resultado, las concentraciones máximas en suero se alcanzan en el rango de 2 a 12 horas.

Los ATC se encuentran bastante ligados a proteínas (85 a 95%). En la mayor parte de los ATC, los efectos terapéuticos no se observan en las primeras dos a cuatro semanas después del comienzo de la terapia. Las correlaciones entre la concentración en suero y los efectos terapéuticos de la mayor parte de los ATC son de moderadas a débiles. Se eliminan por metabolismo hepático. Muchos de los productos metabólicos formados tienen acciones terapéuticas. El índice del metabolismo de esos agentes es variable y se ve influido por una amplia gama de factores. Como resultado, la vida media de los ATC varía de manera importante entre los pacientes. Además, la administración secundaria de otros fármacos que se eliminan por metabolismo hepático influye en el índice de eliminación. La toxicidad de los ATC depende de la dosis. A concentraciones séricas de alrededor de dos veces el límite superior del rango terapéutico, son efectos adversos frecuentes de adormecimiento, estreñimiento, visión borrosa y pérdida de la memoria. Las concentraciones más elevadas llegan a causar ataque, arritmia cardíaca e inconsciencia.

Debido a la elevada variabilidad de la vida media y la absorción, no se evaluarán las concentraciones plasmáticas de los ATC hasta que se logre un estado fijo. En ese momento, se determina la eficacia terapéutica a partir de la evaluación clínica del paciente, en tanto la toxicidad potencial se establece por la concentración sérica. Muchos de los inmunoanálisis para los ATC utilizan anticuerpos policlonales, que presentan reacción cruzada entre los diferentes ATC y sus metabolitos. En este sistema analítico, los resultados se informan como "tríciclicos totales". En otros inmunoanálisis se emplea un paso de extracción para separar los fármacos de origen de los metabolitos. La interpretación de estos resultados después de la extracción requiere una comprensión a fondo del análisis. Los métodos cromatográficos proporcionan evaluación simultánea de los fármacos de origen y de los metabolitos, lo que proporciona una base para la interpretación inequívoca de los resultados.³⁰

BRONCODILADORES

Teofilina

La teofilina se utiliza en el tratamiento de asma y otras enfermedades pulmonares obstructivas coronarias. Es efectiva en situaciones agudas y de manera profiláctica. En ataques de asma agudos, la terapia con teofilina por lo general se inicia por vía intravenosa y después se cambia a administración oral. La teofilina oral se absorbe por completo, pero a un índice variable, que depende de la formulación del fármaco y los factores dietéticos. La teofilina absorbida

está unida a 50% con proteínas en el plasma. Se elimina por una combinación de filtración renal y metabolismo hepático. Los cambios pequeños en el contenido de proteína sérica y el índice de filtración glomerular tienen poca influencia en las concentraciones plasmáticas. La principal razón para el monitoreo de la teofilina sérica es asegurar que las concentraciones no estén en el rango tóxico, que es de 10 a 20 µg/ml. Los efectos tóxicos se observan a concentraciones séricas mayores de 20 µg/ml. Los síntomas de toxicidad incluyen náusea, vómito y diarrea. Las concentraciones séricas mayores que 30 µg/ml están relacionadas con arritmia cardíaca, ataques y un pronóstico deficiente.

FÁRMACOS INMUNOSUPRESIVOS

La medicina de trasplante es una disciplina de surgimiento rápido dentro de la medicina clínica. El laboratorio clínico desempeña muchos papeles importantes que determinan el éxito de cualquier programa de trasplante.³¹ Entre estas responsabilidades, el monitoreo de los fármacos inmunosupresivos usados para prevenir el rechazo constituye una preocupación clave. En la mayor de estos fármacos se requiere el establecimiento de regímenes de dosificación individuales para optimizar los resultados terapéuticos y reducir al máximo la toxicidad.³²

Ciclosporina

La ciclosporina es un polipéptido cíclico que tiene actividad inmunosupresora potente. Su principal uso clínico es la supresión del rechazo receptor contra injerto de órganos heterotópicos trasplantados. Se administra como una preparación oral. La absorción de la ciclosporina se encuentra en el rango 5 a 50%. Debido a su elevada variabilidad, la relación entre dosis oral y concentración sanguínea es escasa, por lo que el MFT constituye una parte importante del establecimiento de un régimen de dosificación inicial. La ciclosporina circulante se aísla en las células, incluyendo los eritrocitos. El contenido de eritrocitos depende en gran medida de la temperatura; por tanto, la evaluación de la concentración plasmática requiere control riguroso de la temperatura de la muestra. Para evitar esta variable preanalítica, la sangre entera es la muestra de elección. Se han establecido correlaciones entre las concentraciones en sangre entera y los efectos terapéuticos y tóxicos. La ciclosporina es eliminada por metabolismo hepático a productos inactivos.

Los requisitos de inmunosupresión difieren de acuerdo con el órgano trasplantado. Los trasplantes cardíacos, hepáticos y pancreáticos cuentan con los requerimientos más elevados (300 ng/ml). Las concentraciones de sangre entera en el rango de 350 a 400 ng/ml se relacionan con efectos tóxicos. Los efectos tóxicos de la ciclosporina son principalmente disfunción tubular renal y glomerular, lo que ocasiona hipertensión. Hay varios inmunoanálisis disponibles para la determinación de la concentración de ciclosporina en la sangre entera. Muchas reaccionan en forma cruzada con metabolitos inactivos. Los métodos cromatográficos están disponibles; éstos proporcionan la separación y cuantificación del fármaco de origen a partir de los metabolitos.

Tacrólimo

El tacrólimo (FK-506) es un fármaco inmunosupresivo administrado por vía oral que es 100 veces más potente que la ciclosporina. Por tanto, la dosificación es mucho menor que la de la ciclosporina.³³ El uso inicial del tacrólimo sugirió un grado bajo de toxicidad en comparación con la ciclosporina a concentraciones terapéuticas. Sin embargo, después del uso extenso en la práctica clínica, se demostró que ambos poseen grados comparables de nefrotoxicidad a concentraciones terapéuticas. A concentraciones por arriba de las terapéuticas, el tacrólimo se relaciona con formación de trombos.

Muchos aspectos de la farmacocinética del tacrólimo son similares a la ciclosporina. La captación gastrointestinal es bastante variable. Las concentraciones de sangre entera se correlacionan de buena manera con los efectos terapéuticos y tóxicos. El tacrólimo se elimina casi de manera exclusiva por metabolismo hepático. Los productos metabólicos se secretan sobre todo en la bilis. En la colestasis, se observan incrementos en el tacrólimo inmunorreactivo como resultado de reacción cruzada con varios de estos productos. Debido a la elevada potencia del tacrólimo, las concentraciones terapéuticas circulantes son bajas. Esto limita las metodologías que miden las concentraciones en la sangre entera. El método más original es HPLC/MS; sin embargo, también se encuentran disponibles varios inmunoanálisis.³⁴

ANTINEOPLÁSICOS

La valoración del beneficio terapéutico y la toxicidad de la mayor parte de los fármacos antineoplásicos no es favorecida por el MFT debido a que son difíciles de establecer las correlaciones entre la concentración plasmática y el beneficio terapéutico.³⁵ Muchos de estos agentes se metabolizan con rapidez o se incorporan en estructuras macromoleculares celulares en segundos a minutos después de su administración. Además, el rango terapéutico para muchos de estos fármacos incluye concentraciones relacionadas con efectos tóxicos. Ya que la mayor parte de los agentes antineoplásicos se administran por vía IV como un solo bolo, la dosis real liberada es más importante que las concentraciones circulantes.

Metotrexato

El metotrexato es uno de los pocos fármacos antineoplásicos en el que el MFT ofrece beneficios para un régimen terapéutico.³⁶ Está demostrado que el metotrexato en dosis elevada seguido por el rescate con leucovorina constituye una terapia eficaz para varios trastornos neoplásicos. La base de esta terapia implica el índice relativo de la mitosis de células normales en comparación con neoplásicas. En términos generales, las células neoplásicas se dividen con mayor rapidez que las normales. El metotrexato inhibe la síntesis del DNA en todas las células. Las células neoplásicas, como resultado de su rápido índice de división, tienen un mayor requerimiento de DNA y son susceptibles de privación de este componente esencial antes de las células

normales. La eficacia de la terapia con metotrexato depende de un período controlado de inhibición, que sea perjudicial de manera selectiva para las células neoplásicas. Esto se acompaña por la administración de leucovorina, lo que revierte las acciones del metotrexato a un momento específico después de la infusión del metotrexato. A esto se le conoce como *rescate con leucovorina*. La imposibilidad para detener las acciones del metotrexato ocasiona efectos citotóxicos en la mayor parte de las células. La evaluación de la concentración del metotrexato en el suero, después de que se completó el período inhibitorio, se utiliza para determinar la cantidad de leucovorina que se necesita para neutralizar muchos de los efectos tóxicos del metotrexato.

RESUMEN

El MFT es un proceso empleado para generar índices que se usan como base para el establecimiento de un régimen de fármaco racional e individualizado para asegurar resultados óptimos en los pacientes.³⁷ En la mayor parte de los fármacos, este proceso es innecesario. Los regímenes de dosificación estandarizados, que se obtienen por métodos estadísticos a partir de una población sana, proporcionan beneficio terapéutico sin toxicidad la mayor parte de las veces. Sin embargo, las dosis estandarizadas no funcionan en todas las situaciones; a continuación se muestran algunos ejemplos:

- Los fármacos que producen efectos adversos graves a dosificaciones cercanas a las que originan beneficio terapéutico. En estos casos, el ensayo y error tal vez constituye un método inapropiado para establecer un régimen de dosificación seguro y eficaz. Esto es cierto sobre todo si el fármaco se administra por vía oral y si el índice de absorción del fármaco es muy variable.
- Las dosificaciones estándar del fármaco predicen concentraciones circulantes en personas sanas promedio. En individuos con características diferentes a las mencionadas, quizá sean impredecibles la adsorción, distribución y eliminación. El monitoreo de las concentraciones en suero de estos fármacos al establecer un régimen de dosificación representa un componente importante de la terapia con dichos agentes.
- Muchos fármacos están sujetos a biotransformación (metabolismo). En la mayor parte de los fármacos, los productos de esas reacciones no son tóxicos ni activos desde el punto de vista farmacológico. Si embargo, si los productos metabólicos son activos o tóxicos, deben tomarse en cuenta.

Aunque sólo algunos fármacos prescritos suelen estar sujetos al MFT, el ámbito de este campo se está extendiendo a medida que se definen de mejor manera los efectos tóxicos, y los rangos terapéuticos se refinan aún más. Una ventaja adicional del MFT es que permite el uso seguro de fármacos que de otra forma serían inutilizables. Esto expande los fármacos disponibles para tratar la enfermedad y, en muchos casos, mejora el cuidado del paciente.³⁸

Los principios básicos del MFT, que abordan la absorción, distribución y eliminación, también se aplican a las sustancias no terapéuticas que ingresan al cuerpo.³⁹ De hecho, el uso de estos conceptos es central al estudio de los venenos.

PREGUNTAS DE REPASO

1. El fármaco X tiene una vida media ($T_{1/2}$) de dos días. La concentración a mediodía es de 10 $\mu\text{g/ml}$. ¿Cuál sería la concentración esperada del fármaco X al medio día de mañana?
 - a) 7.5 $\mu\text{g/ml}$.
 - b) 7 $\mu\text{g/ml}$.
 - c) 5 $\mu\text{g/ml}$.
 - d) 3.5 $\mu\text{g/ml}$.
2. El ácido salicílico es un componente frecuente de muchos fármacos que se venden sin receta. En un paciente que sufre de aclorhidria gástrica, ¿cuál sería la concentración en suero prevista de este fármaco después de una dosis estándar?
 - a) Más grande que la esperada.
 - b) Menor que la esperada.
 - c) Ningún cambio.
3. ¿A cuál de los siguientes fármacos se le clasificaría de manera adecuada como antiepiléptico?
 - a) Digoxina.
 - b) Disopiramida.
 - c) Cloranfenicol.
 - d) Fenitoína.
 - e) Tacrólimo.
4. De los siguientes, ¿cuál sería el momento más apropiado para la evaluación de una concentración máxima de digoxina después de la administración oral?
 - a) Inmediatamente antes de la próxima dosis.
 - b) Inmediatamente después de una dosis.
 - c) Ocho horas después de una dosis.
 - d) Tres días después de una dosis.
5. De las siguientes afirmaciones con respecto a la lidocaína, ¿cuáles son VERDADERAS?
 - a) La lidocaína sólo se administra como preparación oral.
 - b) El fenobarbital es uno de los productos del metabolismo de la lidocaína.
 - c) La toxicidad de la lidocaína está relacionada con la concentración del fármaco de origen y uno de sus metabolitos (MEGX).
 - d) Todas las anteriores son verdaderas.
 - e) Sólo a y c son verdaderas.
6. De las siguientes afirmaciones con respecto a la procainamida, ¿cuál es/son VERDADERA/S?
 - a) La procainamida es un antibiótico.
 - b) La N-acetilprocainamida es un producto activo del metabolismo de la procainamida.
 - c) La toxicidad primaria de la procainamida es la supresión de la médula ósea.
 - d) Todas las anteriores son verdaderas.
 - e) Solo a y c son verdaderas.
7. De las siguientes afirmaciones con respecto al litio, ¿cuál es/son VERDADERA/S?
 - a) El litio es un elemento.
 - b) El litio se utiliza como fármaco para tratar depresión y manía.
 - c) A la concentración de litio en suero se le evalúa con mayor frecuencia por el electrodo específico del ion.
 - d) Todas las anteriores son verdaderas.
 - e) Solo a y c son verdaderas.
8. ¿Cuál es el propósito de la determinación de las concentraciones en suero del fármacos antineoplásico metotrexato?
 - a) Asegurar que las concentraciones séricas se encuentren en el rango terapéutico.
 - b) Asegurar que las concentraciones séricas no se encuentren en el rango tóxico.
 - c) Determinar la cantidad de leucovorina necesaria para detener la acción del metotrexato.
 - d) Todas las anteriores.
 - e) Sólo a y c.
9. Soy un fármaco inmunosupresivo usado para controlar el rechazo receptor contra injerto de órganos trasplantados. La toxicidad renal es mi problema principal. Por lo general, soy analizado a través de técnicas cromatográficas con sangre entera como muestra. ¿Quién soy?
 - a) Ciclosporina.
 - b) Carbamacepina.
 - c) Tacrólimo.
 - d) Cualquiera de las anteriores.
 - e) a o c.
10. Un paciente, que recibió gentamicina en las dos últimas semanas con buenos resultados, desarrolló de manera repentina una afección renal en la que el índice de filtración glomerular desciende de manera importante. ¿Cuál sería el ajuste esperado en la dosificación en respuesta a esto?
 - a) Aumentar la dosificación.
 - b) Aumentar el intervalo entre las dosificaciones.
 - c) Coadministrar fenobarbital para estimular el metabolismo hepático.
 - d) No se requiere ajuste de la dosificación.
 - e) Interrumpir el fármaco.
11. El salicilato y la bilirrubina compiten por el mismo sitio de unión en la albúmina sérica. ¿Qué efecto tendría la ictericia prehepática sobre el salicilato?
 - a) Aumento en el índice de eliminación del salicilato.
 - b) Disminución en la respuesta farmacológica al salicilato.
 - c) Aumento en la concentración libre del salicilato.
 - d) Todas las anteriores.
 - e) Sólo a y c.

12. Un fármaco con un pequeño volumen de distribución:
 - a) Se confina a la vasculatura.
 - b) Se difunde fuera de la vasculatura hacia el espacio intersticial.
 - c) Se difunde fuera de la vasculatura hacia el espacio intracelular.
 - d) Se divide de manera selectiva en el compartimiento graso.
 - e) Se elimina con rapidez por exhalación.
13. Se inyectaron 20 mg de un fármaco por vía intravenosa. Una hora después de la inyección, se extrajo sangre y se analizó para el fármaco. La concentración en esta muestra fue de 0.4 mg/dl. ¿Cuál es el volumen de distribución de este fármaco?
 - a) 0.8 L.
 - b) 8 L.
 - c) 20 L.
 - d) 50 L.
 - e) Imposible de determinar con los datos proporcionados.
14. En su institución se introdujo un nuevo fármaco administrado por vía oral. Resulta poco claro si se requiere MFT para este fármaco. ¿Qué factores debe tomar en cuenta al plantear esta pregunta?
 - a) Consecuencias de una concentración subterapéutica en la circulación.
 - b) Gravedad de los efectos tóxicos adversos.
 - c) Previsión de las concentraciones séricas después de una dosis oral estándar.
 - d) Proximidad del rango tóxico al rango terapéutico.
 - e) Todas las anteriores.

REFERENCIAS

1. Gentry CA, Rodvold KA. How important is TDM in the prediction and avoidance of adverse reactions? *Drug Saf* 1995;12:359–363.
2. Jelliffe R. Goal-oriented, model-based drug regimens: setting individualized goals for each patient. *Ther Drug Monit* 2000;22:325–329.
3. Walson PD. Therapeutic drug monitoring in special populations. *Clin Chem* 1998;44:415–419.
4. Marshall A. Laying the foundations for personalized medicines. *Nat Biotechnol* 1997;15:954–957.
5. Schumacher GE, Barr JT. Total testing process applied to therapeutic drug monitoring: impact on patient outcomes and economics. *Clin Chem* 1998;44:370–374.
6. Tonkin AL, Bocher F. Therapeutic drug and patient outcomes: a review of the issues. *Clin Pharmacokinet* 1994;27:169–174.
7. Feldman EB. How grapefruit juice potentiates drug bioavailability. *Nutr Rev* 1997;55:398–400.
8. Kwan KC. Oral bioavailability and the first-pass effect. *Drug Metab Dispos* 1997;25:1329–1336.
9. Fraser AG. Pharmacokinetic interactions between alcohol and other drugs. *Clin Pharmacokinet* 1997;33:79–90.
10. Tucker GT. Advances in understanding drug metabolism and its contribution to variability in patient response. *Ther Drug Monit* 2000;22:110–113.
11. Huet PM, Villeneuve JP, Fenyves D. Drug elimination in chronic liver disease. *J Hepatol* 1997;26(Suppl 2):63–72.
12. Kalow W. Pharmacogenetics. *Pharmacol Rev* 1997;49:369–379.
13. Ibrahim S, Honig P, Huang SM, Gillespie W, et al. Clinical Pharmacology studies in patients with renal impairment: past experiences and regulatory perspective. *J Clin Pharmacol* 2000;40:7–10.
14. Valdes R, Jortani SA, Gheorhiade M. Standards of laboratory practice: cardiac drug monitoring. National Academy of Clinical Biochemistry. *Clin Chem* 1998;44:1096–1109.
15. Keyler DE, VanDeVoort JT, Howard JE, et al. Monitoring blood levels of selected drugs: remember to factor in many confounding variables. *Postgrad Med* 1998;103:209–212, 215–219.
16. Cohn JN. Overview of the treatment of heart failure. *Am J Cardiol* 1997;80:2L–6L.
17. Caufield JS, Gums JG, Grauer K. The serum digoxin concentration: ten questions to ask. *Am Fam Physicians* 1997;56:495–503.
18. Jortani SA, Valdes R. Digoxin and its related endogenous factors. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1997;34:225–274.
19. Grace AA, Camm AJ. Quinidine. *N Engl J Med* 1998;338:35–45.
20. Krolecki PF, Curry SC. Poisoning by sodium channel blocking agents. *Crit Care Clin* 1997;13:829–848.
21. Hammett CA, Johns T. Laboratory guidelines for monitoring antimicrobial drugs. National Academy of Clinical Biochemistry. *Clin Chem* 1998;44:1129–1140.
22. Beggs EJ, Barclay ML. Aminoglycosides: 50 years on. *Br J Clin Pharmacol* 1995;39:597–603.
23. Priuska EM, Schacht J. Mechanism and prevention of aminoglycoside ototoxicity. *Ear Nose Throat J* 1997;76:164–171.
24. Andres I, Lopex R, Pou L, et al. Vancomycin monitoring: one or two serum levels? *Ther Drug Monit* 1997;19:614–619.
25. Schwabe SK. Challenges in the clinical development of new antiepileptic drugs. *Ther Drug Monit* 2002;24(1):81–84.
26. Luer MS. Fosphenytoin. *Neurol Res* 1998;20:178–182.
27. Sundqvist A, Tomson T, Lundkvist B. Valproate as monotherapy for juvenile myoclonic epilepsy: dose effect study. *Ther Drug Monit* 1998;20:149–157.
28. Bialer M, Levy RH, Perucca E. Does carbamazepine have a narrow therapeutic plasma concentration range? *Ther Drug Monit* 1998;20:56–59.
29. Linder MW, Keck PE. Standards of laboratory practice: antidepressant drug monitoring. National Academy of Clinical Biochemistry. *Clin Chem* 1998;44:1073–1084.
30. Schatzberg AF. Pharmacological principles of antidepressant efficacy. *Human Psychopharmacol* 2002;(Suppl 2):17–22.
31. Cronin DC, Faust TW, Brady L, et al. Modern immunosuppression. *Clin Liver Dis* 2000;4:619–655.
32. Shaw LM, Kaplan B, Kaufman D. Toxic effects of immunosuppressive drugs: mechanisms and strategies for controlling them. *Clin Chem* 1996;42(8 Pt 2):1316–1321.

33. Jusko WJ, Thomson AW, Fung J, et al. Consensus document: therapeutic monitoring of tacrolimus (FK-506). *Ther Drug Monit* 1995;17:606–614.
34. Cogill JL, Taylor PJ, Westly IS, et al. Evaluation of the tacrolimus II microparticle enzyme assay in liver and kidney transplant recipients. *Clin Chem* 1998;44:1942–1946.
35. McLeod HL. Therapeutic drug monitoring opportunities in cancer therapy. *Pharmacol Ther* 1997;74:39–54.
36. Lovell DJ. Ten years experience with methotrexate. *Rev Rheum Engl Ed* 1997;64(Suppl 10):186S–188S.
37. Schumacher GE, Barr JT. Bayesian and threshold probabilities in therapeutic drug monitoring: when can serum drug concentration alter clinical decisions. *Am J Hosp Pharm* 1994;51:321–327.
38. Moyer TP, Oliver LK. Supporting pharmaceutical studies from FDA submissions: diversifying the drug monitoring laboratory. *Clin Chem* 1998;44:433–436.

39. Dixit R, Riviere J, Anderson ME. Toxicokinetics and physiologic based toxicokinetics in toxicology and risk assessment. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2003;6:1–40.

LECTURAS RECOMENDADAS

- Hardman JG, Limbird LE, Gillman AG, eds. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10th ed. New York: Pergamon Press. 2002.
- Birkett DJ. *Pharmacokinetics Made Easy*. New York: McGraw-Hill, 2003.
- Winter ME. *Basic Clinical Pharmacokinetics*, 3rd ed (reissued). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1994, ISBN 0-915486-22-9.

Toxicología

David P. Thorne

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- EXPOSICIÓN A TOXINAS
- VÍAS DE EXPOSICIÓN
- RELACIÓN DOSIS-RESPUESTA
 - Toxicidad aguda y crónica
- ANÁLISIS DE LOS AGENTES TÓXICOS
- TOXICOLOGÍA DE AGENTES ESPECÍFICOS
 - Alcohol
 - Monóxido de carbono
 - Agentes cáusticos
 - Cianuro
 - Metales
 - Pesticidas
- TOXICOLOGÍA DE LOS FÁRMACOS TERAPÉUTICOS
 - Salicilatos
 - Acetaminofeno

- TOXICOLOGÍA DE FÁRMACOS DE ABUSO
 - Anfetaminas
 - Esteroides anabólicos
 - Canabinoides
 - Cocaína
 - Opiáceos
 - Fenciclidina
 - Hipnóticos sedantes
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS
- LECTURAS RECOMENDADAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Definir el término toxicología.
- Enumerar los principales tóxicos.
- Definir los mecanismos patológicos de los tóxicos descritos en este capítulo.
- Indicar los métodos de laboratorio usados para evaluar la toxicidad.
- Explicar la diferencia entre las pruebas cuantitativas y cualitativas en toxicología.
- Valorar de manera crítica los datos clínicos de laboratorio en casos de envenenamiento y proporcionar recomendaciones de pruebas adicionales.
- Definir el papel del laboratorio clínico en la evaluación de la exposición a venenos.

TÉRMINOS CLAVE

Abuso de fármacos

Relación dosis-respuesta

TD₅₀
Toxicología

Veneno

La *toxicología* es el estudio de los venenos. El ámbito de este campo es muy amplio. Existen cuatro disciplinas dentro de la toxicología: mecanicista, descriptiva, forense y clínica. La toxicología mecanicista aclara los efectos celulares y bioquímicos de las toxinas. Estos estudios proporcionan una base para el diseño de la terapia racional y el desarrollo de pruebas para valorar el grado de exposición de individuos envenenados. La toxicología descriptiva utiliza los resultados de experimentos con animales para predecir cuál nivel de exposición causará daño en seres humanos. A este proceso se le conoce como *valoración del riesgo*. Los toxicólogos reguladores son responsables de la interpretación de los datos a partir de estudios mecanicistas y descriptivos para establecer estándares que definen el grado de exposición que no planteará un riesgo para la salud o la seguridad públicas. Por lo general, estos toxicólogos trabajan para agencias gubernamentales o junto con ellas. La toxicología forense se interesa sobre todo por las consecuencias medicolegales de la exposición a la toxina. Un aspecto primordial de esta área es el establecimiento y la validación del desempeño analítico de los métodos usados para generar evidencia en situaciones legales, que incluyen la causa de muerte. La toxicología clínica es el estudio de las interrelaciones entre la exposición a la toxina y los estados de enfermedad. Esta área pone énfasis no sólo en la comprobación del diagnóstico, sino también en la intervención terapéutica.

Dentro del esquema organizacional de un laboratorio médico típico, a la toxicología por lo general se le considera parte de la química, sobre todo debido a que los métodos usados para evaluar las toxinas desde el punto de vista cualitativo y cuantitativo se adaptan de mejor manera a esta área. Sin embargo, el diagnóstico y control apropiados de las víctimas de envenenamiento, en muchos casos, requieren un método integrado de todas las secciones del laboratorio clínico.¹

EXPOSICIÓN A TOXINAS

La exposición a los agentes tóxicos ocurre por varias razones. Desde una perspectiva clínica, cerca de 50% de los casos de envenenamiento obedece a intentos de suicidio. La exposición accidental explica alrededor de 30% de los casos. El resto se debe a homicidio o exposición laboral. Entre todos, el suicidio tiene el índice de mortalidad más elevado. La exposición accidental ocurre a menudo en niños. Sin embargo, con relativa frecuencia se presenta sobredosis accidental de fármacos terapéuticos o ilícitos en adultos. La exposición laboral ocurre sobre todo en ambientes industriales o agrícolas.

VÍAS DE EXPOSICIÓN

Las toxinas ingresan al cuerpo por varias vías. La ingestión, inhalación y absorción transdérmica son las más frecuentes. De éstas, la ingestión es la que se observa más a menudo en el ámbito clínico. Para que la mayor parte de las toxinas ejerzan un efecto sistémico, es necesario que se absorban en la circulación. La absorción de las toxinas del tracto gastrointestinal ocurre por varios mecanismos. Algunos son realizados por procesos destinados a los nutrientes dietéticos. Sin embargo, la mayor parte se absorbe por difusión pasiva. Este proceso requiere que la sustancia atraviese las barre-

ras celulares. Las sustancias hidrofóbicas tienen capacidad para difundirse a través de las membranas celulares y, por tanto, se absorben en cualquier parte a lo largo del tracto gastrointestinal. Las sustancias ionizadas no se difunden de manera pasiva a través de las membranas. Es posible que los ácidos débiles se protonicen en el ácido gástrico. El resultado es una especie no ionizada, que tal vez se absorba en el estómago. Del mismo modo, las bases débiles favorecen la absorción en el intestino, donde el pH es en su mayor parte neutral o ligeramente alcalino. Otros factores influyen en la absorbancia de las toxinas a partir del tracto gastrointestinal, como el índice de disolución, la motilidad gastrointestinal, la resistencia a la degradación en el tracto intestinal y la interacción con otras sustancias. Las toxinas que no se absorben en el tracto gastrointestinal no producen efectos sistémicos, pero quizá originen efectos locales, como diarrea, sangrado o absorción deficiente de nutrientes, lo que conduce a efectos sistémicos secundarios a la exposición a la toxina.

RELACIÓN DOSIS-RESPUESTA

Un *veneno* se define como cualquier sustancia que causa un efecto dañino debido a la exposición. Aunque esta definición básica es útil, se deben tomar en cuenta otros factores. Entre éstos, la dosis es un aspecto clave. En la toxicología, el concepto de que cualquier sustancia tiene potencial para causar daño si se administra a la dosis correcta (incluso agua) constituye un tema central. Existe la necesidad de establecer un índice de la toxicidad relativa de las sustancias que permita la valoración de su potencial para causar efectos patológicos. Varios sistemas están disponibles. La mayor parte correlaciona la dosis de una toxina que ocasionará una respuesta dañina. Un sistema de este tipo correlaciona un solo rango de dosis oral aguda con la probabilidad de un resultado letal en un hombre promedio de 70 kg (cuadro 29-1). Éste es un sistema útil para comparar las toxicidades relativas de las sustancias. La respuesta esperada en este sistema es la muerte, lo que es válido. Sin embargo, la mayor parte de las toxinas expresan efectos patológicos distintos a la muerte, a grados inferiores de exposición. Por tanto, se deben desarrollar otros índices.

Es posible lograr una caracterización más profunda al evaluar los datos de un histograma de frecuencia acumulada

CUADRO 29-1. SISTEMA DE CLASIFICACIÓN DE TOXICIDAD

CLASIFICACIÓN DE TOXICIDAD	DOSIS ORAL LETAL EN UN ADULTO PROMEDIO
Supertóxica	<5 mg/kg
Extremadamente tóxica	5 a 50 mg/kg
Muy tóxica	50 a 500 mg/kg
Moderadamente tóxica	0.5 a 5 g/kg
Ligeramente tóxica	5–15 g/kg
Prácticamente no tóxica	> 15 g/kg

Adaptado de Klaassen CD, Principles of toxicology, en Klaassen CD, Amdur MO, Doull J, eds., Toxicology: The Basic Science of Poisons, 3a. ed., Nueva York: Macmillan, 1986:13.

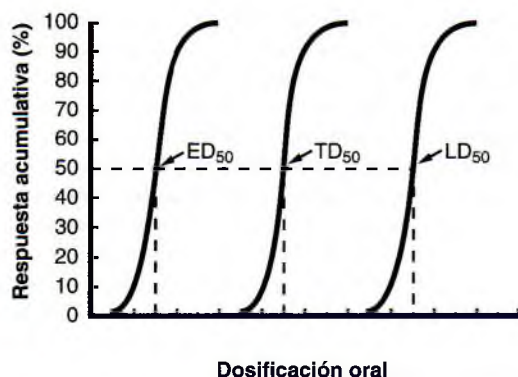


FIGURA 29-1. Relación dosis-respuesta. Comparación de las respuestas de un fármaco terapéutico en un rango de dosis. La ED₅₀ es la dosis del fármaco a la que 50% de los individuos tratados experimentarán beneficio. La TD₅₀ es la dosis del fármaco a la que 50% de los individuos experimentarán efectos adversos tóxicos. La LD₅₀ es la dosis del fármaco a la que 50% de los individuos producirá morbilidad.

de las respuestas tóxicas en un rango de dosis. Por lo general, este método experimental se utiliza para evaluar diversas respuestas en un amplio rango de concentraciones. Una respuesta monitoreada es la respuesta tóxica. Ésta se relaciona con un efecto patológico temprano a una dosis menor que la letal. Esta respuesta ha sido determinada para representar un indicador de los efectos tóxicos para esa toxina. En una sustancia que ejerce efectos tóxicos tempranos al dañar las células hepáticas, la respuesta monitoreada tal vez sea aumentos en la actividad de la alanina aminotransferasa (ALT) y γ -glutamilttransferasa (GGT) sérica. La relación dosis-respuesta implica que habrá un aumento en la respuesta tóxica a medida que se aumente la dosis. Se debe notar que no todos los individuos muestran una respuesta tóxica con la misma dosis. Es posible observar la variación de la población en un histograma de frecuencia acumulada del porcentaje de personas que producen una respuesta tóxica en un rango de concentraciones (fig. 29-1). La TD₅₀ es la dosis que se esperaría que produzca una respuesta tóxica en 50% de la población. Si la respuesta monitoreada es la muerte, la LD₅₀ es la dosis a la que se esperaría la muerte en 50% de la población. Se utilizan experimentos similares para evaluar la dosis de los fármacos terapéuticos. La ED₅₀ es la dosis que se esperaría que sea efectiva o tenga un beneficio terapéutico en 50% de la población. El índice terapéutico es la proporción entre la TD₅₀ y la ED₅₀. Los fármacos con índice terapéutico grande tienen pocos efectos tóxicos adversos cuando la dosis del fármaco se encuentra en el rango terapéutico.

Toxicidad aguda y crónica

La *toxicidad aguda* y la *toxicidad crónica* son términos empleados para relacionar la duración y la frecuencia de la exposición con efectos tóxicos observados. La toxicidad aguda suele estar relacionada con una sola exposición a corto plazo a una sustancia, con una dosis suficiente para causar efectos tóxicos inmediatos. Por lo general, la toxicidad crónica se vincula con exposición repetida durante períodos extensos, a dosis que son insuficientes para causar una respuesta aguda inmediata. En muchos casos, la

exposición crónica está relacionada con la acumulación del tóxico o con los efectos tóxicos. Es posible que la toxicidad crónica afecte diferentes sistemas, y luego relacionarlos con toxicidad aguda. Se han establecido relaciones dosis-respuesta para muchas sustancias tóxicas en situaciones tanto agudas como crónicas.

ANÁLISIS DE LOS AGENTES TÓXICOS

En muchos casos, el análisis de los agentes tóxicos en clínica constituye un procedimiento de dos pasos.² El primer paso consiste en una prueba de valoración, que es un procedimiento cuantitativo rápido y sencillo pensado para detectar sustancias específicas o clases de tóxicos. En términos generales, estos procedimientos tienen buena sensibilidad analítica, pero carecen de especificidad. Un resultado negativo tal vez descarte un fármaco o tóxico. Sin embargo, a un resultado positivo se le considerará presunto positivo hasta confirmarlo mediante un segundo método más específico.

Existen varios métodos analíticos disponibles para pruebas de valoración y confirmatorias. Los inmunoanálisis se utilizan con frecuencia para evaluar fármacos. En algunos casos, éstos son específicos para un solo fármaco (p. ej., tetrahidrocanabinol [THC]). Sin embargo, en la mayor parte de los casos, se detectan fármacos dentro de clases generales (p. ej., barbituratos, opiáceos). La cromatografía de capa fina representa un método económico y relativamente sencillo para la detección de varios fármacos y otros compuestos orgánicos. La cromatografía de gas es una técnica bien establecida, utilizada de manera extensa para la determinación cualitativa y cuantitativa de muchas sustancias volátiles. El método de referencia para la identificación cualitativa de la mayor parte de los compuestos orgánicos es la cromatografía de gases, en la que se emplea un espectrómetro de masas como detector.

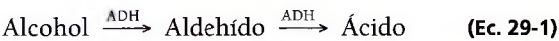
TOXICOLOGÍA DE AGENTES ESPECÍFICOS

Muchos agentes químicos encontrados con regularidad tienen efectos adversos potenciales. El interés de esta sección se centra en el estudio de las toxinas distintas a fármacos encontradas con frecuencia en el entorno clínico, así como aquellas que se presentan como urgencias médicas con exposición aguda.

Alcohol

Los efectos tóxicos del alcohol son generales y específicos. La exposición al alcohol, al igual que a solventes orgánicos más volátiles, causan en principio desorientación, confusión y euforia, que tal vez progresen a inconsciencia, parálisis y, en caso de exposición a concentraciones muy elevadas, incluso la muerte. La mayor parte de los alcoholes muestran estos efectos a concentraciones molares casi equivalentes. Esta similitud sugiere un efecto depresor común sobre el sistema nervioso central (SNC), que al parecer está mediado por cambios en las propiedades de la membrana. En la mayor parte de los casos, la recuperación de los efectos en el SNC es rápida y completa después de que cesa la exposición.

A diferencia de los efectos generales en el SNC, las toxicidades específicas de cada tipo de alcohol suelen estar mediadas por biotransformación de los alcoholes a productos tóxicos. Existen varios mecanismos por los que es posible metabolizar los alcoholes alifáticos de cadena corta. De éstos, la conversión hepática a un aldehído, por la alcohol deshidrogenasa (ADH), y la conversión adicional a un ácido, por la aldehído deshidrogenasa (ALDH), son los más importantes.



La exposición a *etanol* es frecuente.³ El consumo excesivo de etanol, con sus consecuencias relacionadas, constituye una causa principal de los problemas económicos, sociales y médicos en todo el mundo. Se calcula que el impacto económico sobrepasa los 100 000 millones de dólares por año en términos de sueldos y productividad perdidos. Muchos problemas sociales y familiares se vinculan con el consumo excesivo de etanol. La carga al sistema de cuidado de la salud es significativa. A menudo los trastornos relacionados con el etanol constituyen una de las 10 causas principales de ingresos hospitalarios. Alrededor de 20% de todas las admisiones hospitalarias se relacionan de cierto modo con problemas relacionados con el alcohol. En Estados Unidos, se estima que 80 000 habitantes mueren cada año, sea directa o indirectamente, como resultado del abuso en el consumo de alcohol. Esto se correlaciona con un aumento de alrededor de cinco veces en la mortalidad prematura. Además, es posible que el consumo de etanol durante el embarazo conduzca a síndrome de alcoholismo fetal o a efectos del alcoholismo fetal, ambos relacionados con retardo en el desarrollo motor y mental en niños.

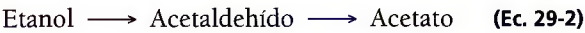
Se han establecido correlaciones entre concentraciones de alcohol en sangre, y los signos y síntomas clínicos de intoxicación aguda. Una concentración de alcohol sanguíneo en el rango de 80 a 100 mg/dl es el límite legal para operar un vehículo automotor en la mayor parte de los estados de la Unión Americana. Esto se relaciona con disminución del juicio y del desempeño motor. La determinación de la concentración de etanol sanguíneo por el laboratorio en casos de manejo en estado de ebriedad requiere una cadena apropiada de custodia, documentación del control de calidad y registros en los que se compruebe competencia.⁴ Alrededor de la mitad de los 40 000 a 50 000 decesos anuales en Estados Unidos relacionados con el uso del automóvil implican el consumo de alcohol como factor.

Además de los efectos a corto plazo del etanol, la mayor parte de las consecuencias fisiopatológicas del abuso de etanol están relacionadas con consumo crónico por un período largo. En un adulto promedio, esto se correlaciona con el consumo de alrededor de 50 g de etanol por día durante casi 10 años. El consumo a este grado se relaciona con la afección en la función de varios órganos, tejidos y tipos de células. Sin embargo, el hígado es el órgano más sensible. La secuencia patológica comienza con la acumulación de lípidos en los hepatocitos. Con el consumo continuo, es posible que esto progrese a hepatitis alcohólica. Alrededor de 20% de los individuos con ingesta elevada a largo plazo desarrolla esta forma de hepatitis tóxica. En aquellos que lo hacen,

la progresión a cirrosis es habitual. La cirrosis tal vez se caracterice como fibrosis irreversible que conduce a pérdida de la masa hepática funcional. El progreso a través de esta secuencia está relacionado con cambios en muchas pruebas de laboratorio relacionadas con la función hepática.

Varios indicadores de laboratorio del consumo excesivo de etanol tienen suficiente sensibilidad y especificidad diagnósticas para identificar el consumo excesivo de etanol como la causa de un estado de enfermedad.⁵ La mayor parte se vincula con la progresión de la enfermedad hepática inducida por el etanol. En el cuadro 29-2 se enumeran los indicadores frecuentes de laboratorio del consumo peligroso prolongado.

Se han propuesto varios mecanismos para mediar los efectos patológicos del consumo de etanol a largo plazo. De éstos, al parecer la formación de aducto con acetaldehído juega un papel clave. El metabolismo hepático del etanol representa una reacción enzimática de dos pasos. El producto final es ácido acético. El acetaldehído es un reactivo intermedio en esta cadena. La mayor parte del etanol se convierte en ácido acético en este proceso; sin embargo, una porción importante del intermediario se libera en el estado libre.



Aductos de acetaldehído

El acetaldehído extracelular constituye una especie transitoria como resultado de la formación rápida de aducto con grupos amino de proteínas. Está demostrado que la formación de aductos de acetaldehído cambia la estructura y función de varias proteínas. Muchos de los efectos patológicos del etanol se correlacionan con la formación de estos aductos.

CUADRO 29-2. INDICADORES FRECUENTES DE ABUSO DE ETANOL

PRUEBA	COMENTARIOS
GGT	Se observan aumentos antes del comienzo de las consecuencias patológicas
	Los incrementos en la actividad sérica se presentan en muchos trastornos no relacionados con el etanol
AST	Los incrementos en la actividad sérica ocurren en muchos trastornos no relacionados con el etanol
Índice AST/ALT	Un índice mayor de 2.0 es bastante específico para enfermedad hepática relacionada con etanol
HDL	Un HDL sérico elevado es específico para consumo de etanol
MCV	A menudo se observa incremento en MCV de eritrocitos con el consumo excesivo de alcohol
	Los incrementos no se relacionan con deficiencia de folato o vitamina B ₁₂

ESTUDIO DE CASO 29-1

A un paciente con diagnóstico provisional de depresión se le envió a una revisión rutinaria de laboratorio. El recuento completo de células de la sangre fue normal, excepto por un volumen celular medio (MCV) de eritrocitos elevado. Los resultados del urinalisis fueron irrelevantes. La prueba de química sérica mostró ligero aumento de las concentraciones de aspartato amino transferasa (AST), bilirrubina total y lipoproteína de alta densidad (HDL). El resto de los resultados químicos, incluyendo glucosa, urea, creatinina, colesterol, pH, PCO_2 , alanina amino transferasa (ALT), sodio y potasio, estuvieron dentro del rango de referencia normal. El médico sospechó abuso de etanol; sin embargo, el paciente afirmó no ser consumidor. Una prueba

posterior reveló GGT sérico tres veces mayor al límite superior normal. No se detectó etanol en el suero. Las pruebas de valoración para formas infecciosas de hepatitis fueron negativas.

Preguntas

1. ¿Los resultados anteriores son consistentes con un paciente que está consumiendo cantidades riesgosas de etanol?
2. ¿Se requieren pruebas adicionales para considerar el abuso de etanol o descartarlo? Si es el caso, ¿qué pruebas recomendaría?

El *metanol* es un disolvente frecuente. En ocasiones, se ingiere de manera accidental como componente de muchos productos comerciales o como contaminante de licores caseiros. En principio el metanol se metaboliza por la ADH hepática a formaldehído intermediario. El formaldehído se convierte con rapidez a ácido fórmico por la ALDH hepática. La formación del ácido fórmico causa acidosis grave, que en ocasiones produce la muerte. Además, el ácido fórmico es responsable de una neuropatía óptica que quizá conduzca a ceguera.

El *isopropanol*, también conocido como alcohol frotable, está disponible de manera extensa. Se metaboliza por la ADH hepática a acetona, que es su principal producto metabólico final. Ambos, tanto el isopropanol como la acetona, tienen efectos depresores en SNC similares al etanol. Sin embargo, la acetona tiene una vida media larga. La intoxicación con isopropanol, por tanto, tal vez cause síntomas graves de fase aguda semejantes al etanol, que llegan a mantenerse por un periodo prolongado.

El *etilenglicol* (1,2-etanediol) es un componente habitual de líquidos hidráulicos y anticongelantes. La ingestión por niños es relativamente frecuente debido a su sabor dulce. Los efectos inmediatos de la ingestión de etilenglicol son similares a los del etanol. Sin embargo, el metabolismo por la ADH y ALDH hepáticas origina la formación de varias especies tóxicas, incluyendo ácido oxálico y glucólico, que producen acidosis metabólica grave. Esto se complica por la formación y deposición rápidas de cristales de oxalato de calcio en los túbulos renales. Con el consumo de concentraciones elevadas, la formación de cristales de oxalato de calcio quizá ocasione daño tubular renal.

Determinación de alcoholes

Desde una perspectiva medicolegal, la determinación de la concentración de etanol sanguíneo debe ser certera y precisa.⁶ El suero, el plasma y la sangre entera son muestras aceptables. Se han establecido correlaciones entre la concentración de etanol en esas muestras y el deterioro de la función psicomotora. Debido a que el etanol se distribuye

de manera uniforme en el agua corporal total, el suero, que cuenta con un mayor contenido de agua que la sangre entera, tiene una concentración más elevada por unidad de volumen. En la mayor parte de los estados de la Unión Americana se han estandarizado los tipos de muestras aceptables admisibles como evidencia.

Cuando se obtiene una muestra para la determinación de etanol, es necesario limpiar el sitio de punción en la vena con un desinfectante libre de alcohol. Debido a la naturaleza volátil de los alcoholes alifáticos de cadena corta, deben mantenerse las muestras tapadas en todo momento para evitar la evaporación. Es posible refrigerar o almacenar a temperatura ambiente las muestras selladas durante hasta 14 días sin pérdida de etanol. Las muestras sin esterilizar o aquellas destinadas al almacenamiento por un período prolongado se conservarán con fluoruro de sodio para evitar aumentos en el volumen de etanol que se originan por contaminación por fermentación bacteriana.

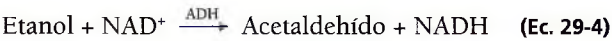
Hay varios métodos analíticos disponibles para la determinación de etanol en suero. Entre éstos, los métodos enzimáticos, de cromatografía de gases y osmométricos son los más utilizados. Cuando la osmolaridad se mide por disminución del punto de congelación, los incrementos en la osmolaridad sérica se correlacionan con los aumentos en la concentración del etanol sérico. El grado de elevación de la osmolaridad debido al etanol se expresa como la diferencia entre la osmolaridad medida y calculada. A esta diferencia se le denomina *intervalo osmolar*. La osmolaridad sérica se incrementa alrededor de 10 mosm/kg por cada aumento de 60 mg/dl en el etanol sérico.

$$\text{Intervalo osmolar} = \text{osmolaridad medida} - \text{osmolaridad calculada} \quad (\text{Ec. 29-3})$$

Esta relación no es específica para el etanol. Los aumentos en el intervalo osmolar ocurren, también, con ciertos desequilibrios metabólicos. Por tanto, el uso del intervalo osmolar para la determinación de la concentración de etanol sérico o sanguíneo carece de especificidad analítica. Sin embargo, se trata de una prueba de valoración útil.

La cromatografía de gases es el método de referencia para la determinación del etanol. Con este método, es posible cuantificar de manera simultánea otros alcoholes, como el metanol e isopropanol. Este análisis comienza con la dilución de la muestra de suero o sangre con una solución saturada de cloruro de sodio en un recipiente cerrado. Los volátiles dentro de la muestra líquida se dividen en el espacio aéreo (espacio superior) del recipiente cerrado. El muestreo de este espacio superior proporciona muestras limpias con poco o nulo efecto de matriz. La cuantificación de los valores máximos se realiza por la construcción de una curva estándar o por proporción con un estándar interno (n-propanol), como se muestra en la figura 29-2.

Los métodos enzimáticos para la determinación del etanol son frecuentes. La enzima utilizada en este análisis no es la forma humana de la ADH. Esta enzima oxida el etanol a acetaldehído con la reducción de NAD⁺ a NADH.



Es posible evaluar de manera directa el NADH producido a través de la absorbancia a 340 nm o acoplarse con una reacción indicadora. Esta forma de la ADH es relativamente específica para el etanol (cuadro 29-1). La intoxicación con metanol o isopropanol desencadena un resultado negativo o bajo. Por tanto, un resultado negativo por este método no descarta la ingestión de otros alcoholes. Existe buena correlación entre las reacciones enzimáticas de etanol y la cromatografía de gases. Es posible automatizar por completo las reacciones enzimáticas y no se requiere instrumentación especializada.

Monóxido de carbono

El monóxido de carbono se produce por la combustión incompleta de las sustancias que contienen carbono. Las principales fuentes ambientales de monóxido de carbono incluyen máquinas que funcionan con gasolina, hornos mal

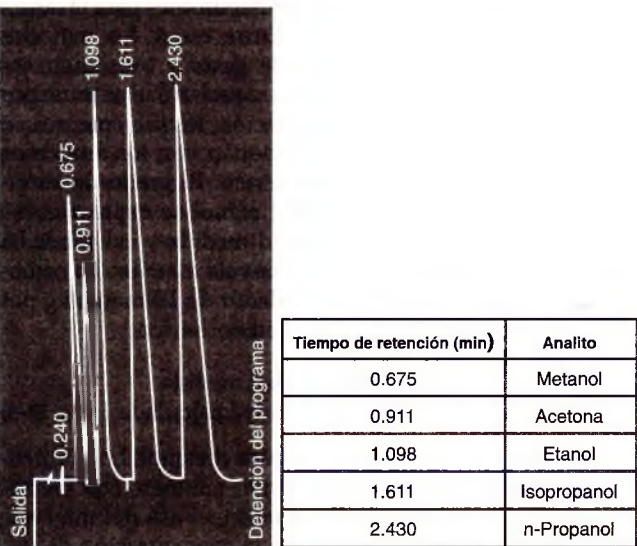


FIGURA 29-2. Cromatografía de gases del espacio superior de alcohol. La concentración de cada alcohol se determina por comparación con la respuesta a partir del estándar interno n-propanol.

CUADRO 29-3. SÍNTOMAS DE LA CARBOXIHEMOGLOBINEMIA

COHb (%)	SÍNTOMAS Y COMENTARIOS
0.5	Típico en no fumadores
5 a 15	Rango de valores observado en fumadores
10	Brevedad de respiración con ejercicio vigoroso
20	Brevedad de respiración con ejercicio moderado
30	Dolores de cabeza graves, fatiga, deterioro del juicio
40 a 50	Confusión, desfallecimiento en el ejercicio
60 a 70	Inconsciencia, insuficiencia respiratoria, muerte con exposición continua
80	Inmediatamente fatal

ventilados e incendios por madera o plástico. El monóxido de carbono es un gas incoloro, inodoro e insípido que se absorbe con rapidez a la sangre por el aire inspirado. El monóxido de carbono manifiesta sus efectos tóxicos a través de la unión de alta afinidad con el hierro divalente que se encuentra dentro de las proteínas hemo, como citocromos, mioglobina y hemoglobina.⁷ De éstas, la unión con hemoglobina produce los resultados tóxicos más importantes.

Cuando el monóxido de carbono se une con la hemoglobina, se le denomina *carboxihemoglobina* (COHb). La afinidad del monóxido de carbono para la hemoglobina es 245 veces mayor que para el oxígeno. El aire tiene alrededor de 20% de oxígeno por volumen. Si el aire inspirado contiene 0.1% de monóxido de carbono por volumen, éste producirá 50% de carboxihemoglobinemia en equilibrio. Por esta razón, al monóxido de carbono se le considera una sustancia muy tóxica. Debido a que el monóxido de carbono y el oxígeno compiten por el mismo sitio de unión, la exposición al monóxido de carbono da como resultado decremento en la concentración de oxihemoglobina. Además, la unión del monóxido de carbono con la hemoglobina aumenta la afinidad del oxígeno a la hemoglobina, un cambio a la izquierda en la curva de disociación hemoglobina-oxígeno. El efecto neto de la exposición al monóxido de carbono es una disminución en la cantidad de oxígeno liberado hacia el tejido, lo que produce hipoxia. Los efectos tóxicos principales de la exposición al monóxido de carbono se observan en órganos con demanda elevada de oxígeno, como el cerebro y el corazón.⁸ La concentración de carboxihemoglobina (expresada como el porcentaje de COHb presente a la capacidad de la muestra para formar COHb) y los síntomas correspondientes se detallan en el cuadro 29-3.

Hay varios métodos disponibles para la evaluación del envenenamiento por monóxido de carbono. La carboxihemoglobina tiene un aspecto rojo cereza. Ésta es la base de una prueba con mancha en busca de exposición excesiva al monóxido de carbono; se agregan 5 ml de NaOH al 40% a 5 ml de una dilución acuosa 1/20 de sangre completa. La persistencia de una solución rosa es consistente con una concentración de carboxihemoglobina de 20% o mayor. Existen

dos análisis cuantitativos primarios para la carboxihemoglobina: espectrofotometría diferencial y cromatografía de gases. El único tratamiento para el envenenamiento por monóxido de carbono es la terapia con 100% de oxígeno. En casos graves, es posible utilizar oxígeno hiperbárico.

La cromatografía de gases es certera y precisa, y constituye el método de referencia para la determinación de la carboxihemoglobina. El monóxido de carbono se libera a partir de la hemoglobina después del tratamiento con ferrocianuro de potasio. Después de la separación analítica, el monóxido de carbono se detecta por cambios en la conductividad térmica. Los métodos espectrofotométricos funcionan con base en el principio de que formas diferentes de hemoglobina se presentan con distintas curvas de absorbancia espectral. Al medir la absorbancia de cuatro a seis diferentes longitudes de onda, es posible determinar la concentración de las diferentes especies de hemoglobina (incluyendo la carboxihemoglobina) por cálculo. Éste es el método más empleado y conforma la base para varios sistemas automatizados.

Agentes cáusticos

Los agentes cáusticos se encuentran en muchos productos caseros y entornos laborales. Aunque cualquier exposición a un ácido fuerte o sustancia alcalina está relacionada con lesión, la aspiración e ingestión representan el mayor peligro. Por lo general, la aspiración está relacionada con edema pulmonar y choque, lo que progresa con rapidez a la muerte. La ingestión produce lesiones en el esófago y tracto gastrointestinal, que tal vez produzcan perforaciones. Esto ocasiona hematemesis, dolor abdominal y posible choque. El ataque de acidosis metabólica o alcalosis ocurre con rapidez después de la ingestión. Por lo general, la terapia correctiva para la ingestión es por dilución.

Cianuro

Al cianuro se le clasifica como una sustancia supertóxica⁹ que existe como gas o sólido o en solución. La exposición ocurre, también, por inhalación, ingestión o absorción transdérmica. El cianuro se utiliza en muchos procesos industriales.¹⁰ Además, es componente de algunos insecticidas y venenos para roedores, y se le produce como un producto de la pirólisis a partir de la combustión de algunos plásticos, entre los que se incluyen espumas de urea usadas como aislantes en las casas. De este modo, la exposición a monóxido de carbono y cianuro explica una porción importante de las toxicidades relacionadas con la inhalación de humo. La ingestión de cianuro es un agente frecuente para el suicidio.

El cianuro expresa toxicidad al unirse con el hierro del hemo. La unión con la citocromo oxidasa mitocondrial causa desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. Esto produce disminución rápida del trifosfato de adenosina celular como resultado de la incapacidad del oxígeno para aceptar electrones. Los aumentos en la tensión del oxígeno celular y del PO_2 venoso ocurren como resultado de la falta de utilización de oxígeno. Con una exposición baja, los pacientes experimentan dolores de cabeza, mareo y depresión respiratoria, lo que progresa con rapidez a ataque, coma y muerte a dosis ligeramente mayores. La eliminación del cianuro está mediada sobre todo por conversión enzimática rápida a tiocianato,

un producto no tóxico eliminado con rapidez por filtración renal. La toxicidad del cianuro está relacionada con exposición aguda a concentraciones suficientes para sobrepasar el índice de eliminación por este proceso enzimático.

En la evaluación de la exposición a cianuro se requiere un tiempo de respuesta rápida. Existen varios métodos disponibles. Los métodos de electrodo específico del ion y el análisis fotométrico que siguen a la separación por microdifusión de dos receptáculos son los más frecuentes. La exposición crónica a concentraciones bajas se evalúa por determinación de la concentración del tiocianato urinario.

Metales

Arsénico

El arsénico se presenta ligado a muchos diferentes compuestos orgánicos e inorgánicos o como componente primario de los mismos. Existe en sustancias tanto naturales como sintéticas, por lo que la exposición a arsénico ocurre en varias situaciones. La exposición ambiental a través del aire y del agua es frecuente en muchas áreas industriales.¹¹ La exposición laboral sucede en la agricultura y en industrias de fundición. Además, es un agente habitual de homicidio y suicidio.

La absorción del arsénico depende de la forma del compuesto. Los compuestos orgánicos que contienen arsénico se absorben con rapidez por difusión pasiva. Otras formas son absorbidas con mayor lentitud. La eliminación del arsénico es, de manera primordial, por filtración renal del estado libre ionizado. Sus efectos tóxicos se expresan a través de la unión de alta afinidad con los grupos tiol de las proteínas. Por tanto, la porción disponible para la filtración en el suero es baja. Esto ocasiona una vida media larga en el cuerpo. El contenido corporal total de arsénico llega a ser acumulativo con la exposición crónica.

El arsénico unido a proteínas a menudo produce un cambio en la estructura y la función. Debido a que muchas proteínas tienen capacidad de unión con el arsénico, los síntomas tóxicos del envenenamiento con arsénico no son específicos. Muchos sistemas celulares y orgánicos se ven afectados. Con la ingestión crónica o aguda a concentraciones bajas, se observan fiebre, anorexia y dolor gastrointestinal. El daño periférico y central al sistema nervioso, los efectos renales, los efectos hematopoyéticos y la enfermedad vascular que conduce a la muerte están relacionados con la exposición a dosis altas.

El análisis del arsénico suele realizarse por espectrofotometría de absorción atómica. La sangre y orina son muestras aceptables para evaluar la exposición durante un período corto. Se ha encontrado que el contenido en cabello y uñas es útil en la valoración de la exposición por tiempo prolongado.

Cadmio

El cadmio es un metal encontrado en muchos procesos industriales, con uso principal en electrodeposición y galvanizado. A menudo se encuentra en la minería y el procesamiento de muchos metales. El cadmio es un pigmento encontrado en pinturas y plásticos, además de que es el material catódico de las baterías de níquel-cadmio. Constituye un contaminante importante del ambiente.¹²

La exposición excesiva ocurre con mayor frecuencia por inhalación de partículas de cadmio en la industria y por ingestión de alimentos contaminados. La toxicidad del cadmio se manifiesta sobre todo por su unión con proteínas. Sin embargo, también llega a unirse con otros constituyentes celulares. El cadmio se distribuye en todo el cuerpo, pero tiende a acumularse en el riñón, donde se expresan la mayor parte de sus efectos tóxicos.¹³ Un hallazgo temprano de la toxicidad del cadmio es la disfunción tubular renal. Por lo general, se observan proteinuria tubular, glucosuria y aminoaciduria. La evaluación del exceso de cadmio suele realizarse por determinación del contenido en sangre entera o en la orina a través de espectrofotometría de absorción atómica.

Plomo

El plomo es un contaminante ambiental frecuente.¹⁴ Fue un elemento constitutivo habitual de las pinturas caseras antes de 1972 y aún se le encuentra en pinturas comerciales y de arte. La gasolina contuvo plomo hasta 1978. Todavía es posible encontrar residuos en los escapes de automóviles en concentraciones elevadas en las carreteras. Las cañerías construidas con tubos de plomo o unidas con conectores de plomo contribuyen en gran medida a la concentración de plomo en el agua. El plomo es un subproducto o componente de muchos procesos industriales. El contenido en alimentos es muy variable. En Estados Unidos, el promedio de ingesta diaria en adultos es de 75 a 120 µg/día. Este valor de ingesta no está relacionado con toxicidad evidente.¹⁵ Debido a que el plomo se encuentra presente en todos los sistemas biológicos y no se ha encontrado su función fisiológica y bioquímica, el aspecto clave es la dosis a la que causa un efecto tóxico. La susceptibilidad a la toxicidad con plomo depende principalmente de la edad. Los adultos son más tolerantes a los efectos del plomo en comparación con los niños.¹⁶

La exposición al plomo ocurre por cualquier vía. Sin embargo, la ingestión de los constituyentes de la dieta contaminados explica la mayor parte de las exposiciones. La absorción gastrointestinal de plomo está influida por varios factores. Los adultos absorben de 5 a 15% del plomo ingerido. Los niños poseen un grado de absorción mayor: de 30 a 40%. Los factores que controlan el índice de absorción son inciertos.¹⁷ El plomo absorbido se une con elevada afinidad a muchas estructuras macromoleculares. Se distribuye en todo el cuerpo en dos compartimentos teóricos. Uno es el esqueleto, que es el depósito más grande. El plomo se combina con la matriz del hueso y llega a permanecer en este compartimiento por un largo período. La vida media del plomo en hueso es superior a los 20 años. El otro compartimiento teórico es el tejido blando. La vida media del plomo en este compartimiento es un poco variable, con un promedio de 120 días.

La eliminación del plomo ocurre sobre todo por filtración renal. Debido que sólo una porción pequeña del plomo corporal total se presenta en la circulación, el índice de eliminación es lento. Dada la tasa relativamente constante de exposición y el índice de eliminación lento, el plomo corporal total se acumula durante la vida. La acumulación más grande ocurre en el hueso. Además, se observa acu-

mulación importante en riñón, médula ósea, eritrocitos circulantes y nervios periféricos y centrales.

La toxicidad del plomo es variada y depende de la dosis (fig. 29-3). La mayor parte de los efectos tóxicos son resultado de la unión con proteínas, lo que ocasiona cambio en la estructura y función. Los efectos neurológicos del plomo son de particular importancia. La exposición al plomo produce encefalopatía caracterizada por edema cerebral e isquemia. El envenenamiento grave con plomo origina estupor, convulsiones y coma. En la exposición a concentraciones menores, tal vez no se presenten estos síntomas. Sin embargo, la exposición baja quizá desencadene efectos subclínicos tipificados por cambios conductuales, hiperactividad, trastorno de déficit de atención y descenso en las evaluaciones del cociente de inteligencia. Al parecer los niños son los más sensibles a estos efectos⁹ y, en Estados Unidos, en la actualidad se realizan evaluaciones para envenenamiento con plomo antes de entrar a la escuela. Las concentraciones más elevadas de exposición se relacionan con desmielinización de los nervios periféricos, lo que ocasiona una disminución en la velocidad de la conducción nerviosa.

El plomo es un potente inhibidor de muchas enzimas. Esta inhibición media muchos efectos tóxicos. Cabe destacar los efectos sobre el metabolismo de la vitamina D y la ruta sintética del hemo. Esto produce cambios en el hueso y metabolismo del calcio y anemia. En la exposición excesiva, se observa disminución en las concentraciones séricas de 25-hidroxi y 1,25-dihidroxivitamina D. La anemia surge principalmente por inhibición de la ruta sintética del hemo, que ocasiona incrementos en la concentración de varios intermediarios de esta ruta, entre los que se incluyen el ácido aminolevulínico y la protoporfirina. Los incrementos en la protoporfirina producen concentraciones elevadas de protoporfirina de cinc en los eritrocitos circulantes. La protoporfirina de cinc es un compuesto bastante fluorescente. La medición de esta fluorescencia es útil para valorar la toxicidad del plomo. El aumento en el ácido aminolevulínico urinario constituye un indicador muy sensitivo y específico de la toxicidad con plomo que se correlaciona en buena medida con las concentraciones sanguíneas. Otro hallazgo hematológico es la presencia de manchado basofílico en los eritrocitos como resultado de la inhibición de la nucleotidasa pirimidina eritrocítica. Esta enzima es responsable de la eliminación del DNA residual después de la extrusión del núcleo. El manchado basofílico es un indicador sensible a la exposición con plomo.

La exposición excesiva al plomo está relacionada con hipertensión, carcinogénesis, defectos al nacer y afección a la inmunidad. El plomo causa diversos efectos renales tóxicos.¹⁸ Los estados iniciales se vinculan con disfunción tubular, que producen glucosuria, aminoaciduria e hiperosmolaridad. Los estados avanzados se relacionan con atrofia tubular y fibrosis glomerular. La fibrosis llega a disminuir el índice de filtración glomerular.

El tratamiento del envenenamiento con plomo implica la eliminación de la exposición y la terapia con queladores terapéuticos, como ácido etilendiaminotetracético (EDTA) y ácido dimercaptosuccínico (DMSA). Estas sustancias son capaces de eliminar el plomo del tejido blando y óseo

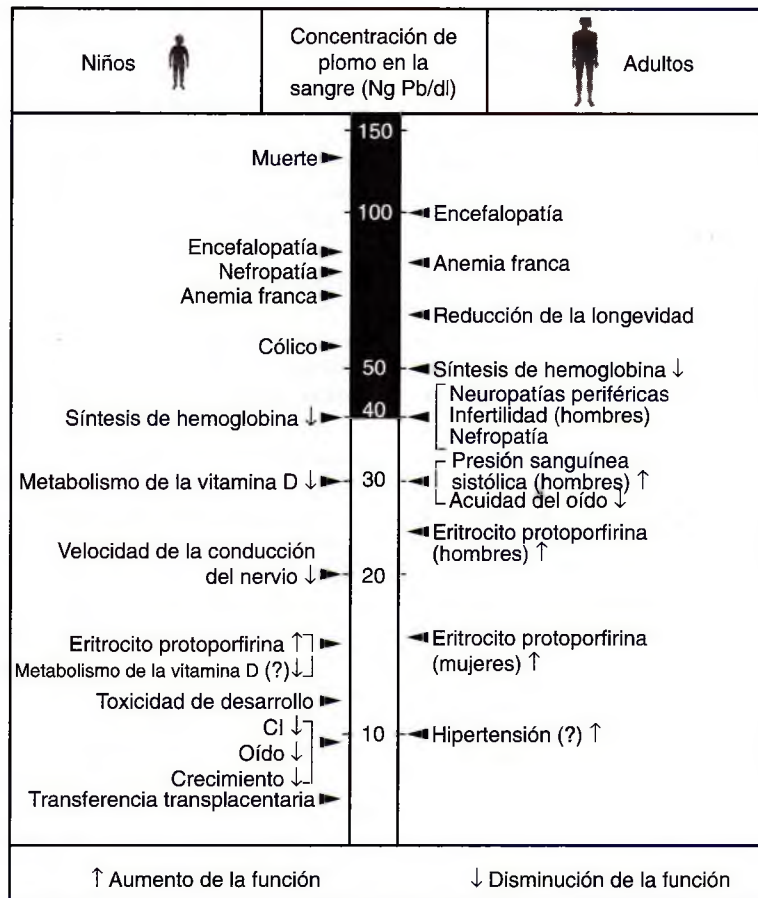


FIGURA 29-3. Comparación de los efectos del plomo en niños y adultos. (Reimpresión de Royce SE y Needleman HL, eds. *Case Studies in Environmental Medicine: Lead Toxicity*, Washington, D.C.: U.S. Public Health Service, ATSDR, 1990.)

por formación de complejos de peso molecular bajo y alta afinidad, que se depuran por filtración renal. La eficacia de esta terapia se determina por monitoreo de la concentración urinaria de plomo.

La valoración de la carga corporal total de envenenamiento por plomo se logra de mejor manera por la determinación cuantitativa de la concentración de plomo en la sangre entera. El uso de la orina también es válido, pero se correlaciona de manera más estrecha con el grado de exposición reciente. Se debe tener cuidado durante la obtención de la muestra para asegurar que ésta no se contamine con fuentes exógenas. Con este propósito, se recomiendan los recipientes libres de plomo.

Es posible utilizar varios métodos para medir la concentración de plomo. En ocasiones se emplean reacciones cromogénicas y métodos volumétricos de tira anódica, pero carecen de utilidad clínica debido a la falta de sensibilidad analítica. En la actualidad, la espectrofotometría de absorción atómica (EAA) con horno de grafito es el método más frecuente.

Mercurio

El mercurio es un metal que existe en tres formas: elemental (líquido a temperatura ambiente), sales inorgánicas o como componente de compuestos orgánicos. La exposición ocurre

sobre todo por inhalación e ingestión. El consumo de alimentos contaminados constituye la principal fuente de exposición en la población general. La inhalación e ingestión accidental de formas inorgánicas y orgánicas en entornos industriales representa la razón más habitual de las concentraciones tóxicas.¹⁹ Cada forma de mercurio tiene diferentes características toxicológicas. El mercurio elemental (Hg^0) se ingiere sin efectos importantes. La inhalación de mercurio elemental resulta insignificante debido a su presión de vapor baja. El mercurio catiónico (Hg^{2+}) es moderadamente tóxico. El mercurio orgánico, como el mercurio de metilo (CH_3Hg^+), es muy tóxico.²⁰ Considerando que la vía de exposición más frecuente al mercurio es por ingestión, el factor primario que determina la toxicidad es la absorbancia gastrointestinal.

El mercurio elemental no se absorbe en gran medida debido a su naturaleza líquida viscosa. El mercurio inorgánico sólo se absorbe en forma parcial. Este último, aunque no se absorbe de manera significativa, presenta toxicidad local importante en el tracto gastrointestinal. La porción que es absorbida se distribuye uniformemente a todo el cuerpo. Las formas orgánicas del mercurio se absorben con rapidez y eficiencia por difusión pasiva. El mercurio orgánico sistémico se divide en compartimientos hidrofóbicos. Esto ocasiona concentraciones elevadas en el cerebro

y en los nervios periféricos. En estos compartimientos lipofílicos, el mercurio orgánico se biotransforma al estado divalente, lo que permite que se una a proteínas neuronales.²¹ La eliminación de mercurio sistémico ocurre sobre todo por filtración renal de las especies con peso molecular bajo o en estado libre (ionizado). Puesto que la mayor parte del mercurio se encuentra unido con proteínas, el índice de eliminación es lento. Por tanto, la exposición crónica ejerce un efecto acumulativo.

La toxicidad del mercurio es resultado de la unión con proteínas, lo que genera cambio en la estructura y función. La consecuencia más importante de esta interacción es la inhibición de muchas enzimas. La unión con proteínas intestinales después de la ingestión de mercurio inorgánico ocasiona alteraciones gastrointestinales agudas. La ingestión de cantidades moderadas tal vez produzca diarrea sanguínea grave debido a la ulceración y necrosis del tracto gastrointestinal. En casos graves, es posible que esto conduzca a estado de choque y muerte. La porción absorbida de mercurio inorgánico ingerido afecta muchos órganos. Entre los hallazgos clínicos se encuentran taquicardia, temblores, tiroiditis y, sobre todo, interrupción de la función renal. El efecto renal está relacionado con proteinuria glomerular y pérdida de la función tubular. El mercurio orgánico tal vez ejerza un efecto renal a concentraciones elevadas de exposición. Sin embargo, los síntomas neurológicos son los efectos tóxicos primarios de esta forma hidrofóbica. La exposición moderada causa temblores, cambios de conducta, lenguaje en murmullos y pérdida del equilibrio. Los valores elevados de exposición ocasionan hiporreflexia, hipotensión, bradicardia, disfunción renal y muerte. El análisis de mercurio es por absorción atómica, con sangre entera u una alícuota de una muestra de orina de 24 horas o voltametría de tira anódica. El análisis de mercurio por absorción atómica requiere técnicas especiales como resultado de la volatilidad del mercurio elemental.

Pesticidas

Los pesticidas son sustancias que se agregan de manera intencional al ambiente para matar o dañar una forma de vida indeseable. Los pesticidas se clasifican en varias categorías, como insecticidas y herbicidas. Estos agentes llegan a aplicarse para el control de la enfermedad por vectores y plagas urbanas, y para mejorar la productividad agrícola. Los pesticidas se encuentran en entornos laborales y en casa. Por tanto, existen oportunidades frecuentes para la exposición. La contaminación de alimentos es la principal vía de exposición para la población general. La inhalación, absorción transdérmica e ingestión como resultado del contacto mano a boca son vías de exposición laboral y accidental habituales.²²

En condiciones ideales, las acciones de los pesticidas serían sobre el blanco específico. Por desgracia, la mayor parte no son selectivos y producen efectos tóxicos en muchas especies distintas al objeto, que incluyen a los seres humanos. Los pesticidas aparecen en muchas formas diferentes con un amplio rango de posibles efectos tóxicos.²³ Aún no se aclaran los efectos en la salud de la exposición moderada a corto plazo de la mayor parte de estos agentes. La exposición moderada pero prolongada a concentraciones bajas tal

vez produzca estados de enfermedad crónica. La exposición a valores elevados es de preocupación primordial, porque quizá produzca estados de enfermedad agudos o muerte. Las víctimas más frecuentes del envenenamiento agudo son las personas que aplican pesticidas y no toman las precauciones apropiadas para evitar la exposición. La ingestión en casa por niños también es frecuente. Además, la ingestión de pesticida constituye un vehículo habitual de suicidio.

Existe amplia variación en la configuración química de los pesticidas, que va de las sales simples de metales pesados a complejos compuestos orgánicos de elevado peso molecular. Los insecticidas son los pesticidas más frecuentes. De acuerdo con la configuración química, los organofosfatos, carbamatos e hidrocarburos halogenados son los insecticidas más comunes. Los organofosfatos son los pesticidas más abundantes y son responsables de alrededor de una tercera parte de todos los envenenamientos por pesticidas.

Los organofosfatos y carbamatos funcionan a través de la inhibición de la acetilcolinesterasa, una enzima presente en insectos y mamíferos. En estos últimos, la acetilcolina es un neurotransmisor que se encuentra en los nervios central y periférico. Es responsable, también, de estimular las células musculares y varias glándulas endocrinas/exocrinas. Las acciones de la acetilcolina se finalizan por las acciones de la acetilcolinesterasa postsináptica unida a la membrana. La inhibición de esta enzima por estos agentes ocasiona la presencia prolongada de la acetilcolina sobre su receptor, lo cual produce un amplio rango de efectos sistémicos. La exposición a concentraciones bajas se relaciona con salivación, lagrimeo, y micción y defecación involuntarias. La exposición a valores elevados produce bradicardia, contracción muscular, calambres, apatía, lenguaje mal articulado y cambios en la conducta. Además, es posible que ocurra muerte debido a insuficiencia respiratoria.

Los organofosfatos absorbidos se unen con alta afinidad a diversas proteínas, como la acetilcolinesterasa. La unión con proteínas impide el análisis directo de los organofosfatos. De este modo, la exposición se evalúa directamente por la medición de la inhibición de la acetilcolinesterasa. Se ha encontrado que la inhibición de esta enzima constituye un indicador sensible y específico de la exposición a organofosfatos. Debido a que la acetilcolinesterasa es una enzima de unión con la membrana, la actividad sérica es baja. Para aumentar la sensibilidad analítica de este ensayo, a menudo se utilizan eritrocitos con elevada actividad superficial. Sin embargo, la evaluación de la actividad de la acetilcolinesterasa eritrocítica para la detección de la exposición a organofosfatos no está disponible de manera habitual a causa de la baja demanda y la falta de un método automatizado.

La prueba alternativa que se ha vuelto más a menudo disponible es la medición de la actividad de la pseudocolinesterasa sérica (SChE). Esta enzima es inhibida por organofosfatos de una manera similar a la enzima eritrocítica. Sin embargo, a diferencia de la enzima eritrocítica, los cambios en la actividad sérica de la SChE carecen de sensibilidad y especificidad para la exposición a organofosfatos. La pseudocolinesterasa se encuentra en el hígado, páncreas, cerebro y suero. La función biológica de esta enzima no está bien definida. En presencia de infección aguda, embolismo pulmonar, hepatitis y cirrosis, llega a observarse disminución en los valores de la SChE.

Además, existen diversas variantes de esta enzima que manifiestan reducción de la actividad. De este modo, los decrementos en la SChE no son específicos del envenenamiento con organofosfatos. El rango de referencia normal de SChE se encuentra entre 4000 y 12000 U/L. La variación intraindividual (el grado de variación en un individuo promedio) es de alrededor de 700 U/L. Ocurren síntomas relacionados con la toxicidad de los organofosfatos ante una reducción de alrededor de 40% en la actividad. Un individuo con SChE normal en el lado alto del rango de referencia normal y que ha estado expuesto a concentraciones tóxicas de organofosfatos aún llega a presentar actividad de la SChE dentro del rango normal de referencia. Debido a estos factores, la determinación de la actividad de SChE carece de sensibilidad en el diagnóstico del envenenamiento por organofosfatos. Por tanto, a la SChE se le considera una prueba de valoración, por lo que se debe tomar en cuenta el contexto clínico al momento de interpretar los resultados. Es posible instaurar terapia con antídoto inmediata en casos de sospecha de envenenamiento por organofosfatos con decremento en la actividad de la SChE. Sin embargo, la continuación de la terapia y la documentación de dicho envenenamiento deben confirmarse por comprobación de la enzima eritrocítica.

TOXICOLOGÍA DE LOS FÁRMACOS TERAPÉUTICOS

Muchas situaciones de sobredosis son resultado de la dosificación excesiva accidental o intencional de fármacos farmacéuticos. Todos los fármacos llegan a ocasionar efectos tóxicos a la dosis correcta. Esta sección se centra en los fármacos terapéuticos observados en situaciones clínicas de sobredosis.

Salicilatos

La aspirina (ácido acetilsalicílico) es un fármaco analgésico, antipirético y antiinflamatorio utilizado con frecuencia. Funciona a través de la reducción de la formación de tromboxano y prostaglandina mediante la inhibición de ciclooxigenasa. A la dosis recomendada, existen varios efectos adversos notables, como la interferencia con la agregación plaquetaria y la

función gastrointestinal. Además, existe una relación epidemiológica entre la aspirina, las infecciones virales en niños (p. ej., varicela e influenza) y el inicio del síndrome de Reye.

La ingesta aguda de dosis elevadas de aspirina se relaciona con varios efectos tóxicos a través de diversos mecanismos diferentes.²⁴ Debido a que se trata de un ácido, la ingestión excesiva de salicilato se vincula con acidosis metabólica. Además, el salicilato es un estimulador directo del centro respiratorio. La hiperventilación produce alcalosis respiratoria. En muchos casos, el resultado neto es alteración acidobásica mixta inmediata. El salicilato también inhibe el ciclo de Krebs, lo que origina conversión excesiva de piruvato a lactato. Asimismo, a concentraciones elevadas de exposición, los salicilatos estimulan la movilización y el uso de ácidos grasos libres, lo que produce formación excesiva de cuerpos cetónicos. Todos estos factores contribuyen a la acidosis metabólica que quizá conduzca a la muerte. El tratamiento para la sobredosis incluye la neutralización y eliminación del exceso de ácido y el mantenimiento del equilibrio electrolítico.

Se han establecido correlaciones entre las concentraciones séricas de salicilatos y resultados tóxicos. Están disponibles varios métodos para la determinación cuantitativa del salicilato en suero. Los métodos con cromatografía de gases o líquida proporcionan la sensibilidad y especificidad analíticas más elevadas, pero no se encontró utilidad clínica debido a los costos del equipo y la dificultad técnica. Hay varios métodos de inmunoanálisis disponibles; el más frecuente es un análisis cromogénico conocido como *reacción de Trinder*, en el que el salicilato reacciona con el nitrato férrico para formar un complejo coloreado que luego se evalúa por medios espectrofotométricos.

Acetaminofeno

El acetaminofeno, sea solo o en combinación con otros compuestos, es un fármaco analgésico utilizado de forma habitual. En sujetos sanos, las dosificaciones terapéuticas tienen pocos efectos adversos. Sin embargo, la sobredosis de acetaminofeno está relacionada con hepatotoxicidad grave (fig. 29-4).

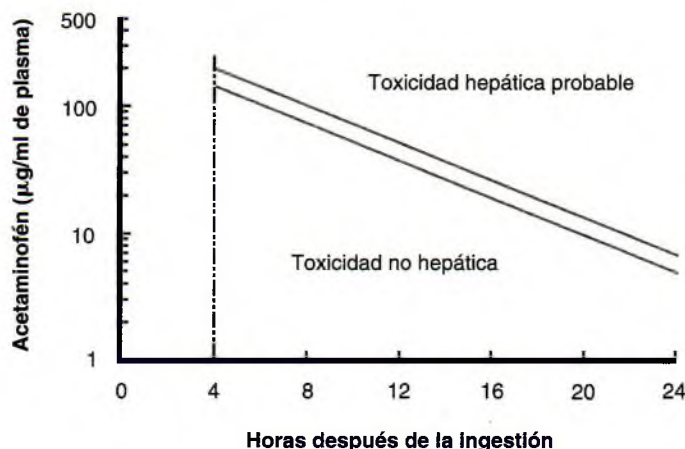


FIGURA 29-4. Nomograma de Rumack-Matthew. Predicción del daño hepático inducido por acetaminofeno basado en la concentración sérica. (Reimpresión con autorización de Rumack BH y Matthew H, Acetaminophen poisoning and toxicity. *Pediatrics*, 1975;55:871.)

El acetaminofeno absorbido se une con alta afinidad a varias proteínas, lo que da como resultado una baja fracción libre. De este modo, la filtración renal del fármaco padre es mínima. La mayor parte se elimina por captación hepática, biotransformación, conjugación y excreción. El acetaminofeno sigue distintos caminos diferentes a través de este proceso; cada uno con formación de un producto diferente. La ruta de mayor preocupación es el sistema hepático oxidasa de función mixta. En este sistema, el acetaminofeno primero se transforma a intermediarios reactivos, que luego se conjugan con glutatona reducida. En situaciones de sobredosis, la glutatona disminuye, aunque los intermediarios reactivos se siguen produciendo. Esto ocasiona acumulación de intermediarios reactivos dentro de la célula. Debido a que algunos intermediarios son radicales libres, se produce un efecto tóxico en la célula que conduce a necrosis del hígado, el órgano en el que ocurren estas reacciones.²⁵

El marco temporal para el comienzo del daño a los hepatocitos es relativamente prolongado. En un adulto promedio, los indicadores séricos de daño hepático no se vuelven anormales hasta tres a cinco días después de la ingestión de una dosis tóxica. Los síntomas iniciales de la toxicidad por acetaminofeno son vagos, no específicos y no predicen necrosis hepática. Se ha determinado la concentración sérica del acetaminofeno que ocasiona disminución de la glutatona en un adulto promedio. Por desgracia, el acetaminofeno se elimina con rapidez del suero y su determinación suele realizarse muchas horas después de la ingestión. En estas situaciones, se desconoce si se presentaron concentraciones tóxicas de acetaminofeno en algún momento anterior. Para ayudar en esta situación, están disponibles monogramas que predicen hepatotoxicidad con base en las concentraciones séricas de acetaminofeno en un momento conocido después de la ingestión. Además, se debe destacar que los consumidores asiduos crónicos de etanol metabolizan el acetaminofeno a un índice más rápido que el promedio, lo que produce una formación más rápida de intermediarios reactivos y mayor posibilidad de disminución de glutatona a una dosis más baja que la normal. Por tanto, los pacientes alcohólicos son más susceptibles a la toxicidad por acetaminofeno, lo que hace que resulte inapropiado el empleo de un monograma para la interpretación en estos pacientes.²⁶

El método de referencia para la cuantificación del acetaminofeno en suero es la cromatografía líquida de alta resolución. Sin embargo, este método no suele utilizarse en clínica debido a que es costoso y plantea dificultad técnica. En la actualidad, el inmunoanálisis es el método analítico que más se utiliza para la determinación del acetaminofeno sérico. Los sistemas de inmunoanálisis de la enzima competitiva y de la polarización fluorescente son los más empleados.

TOXICOLOGÍA DE FÁRMACOS DE ABUSO

La valoración del abuso de fármacos es de interés médico por muchas razones. En la sobredosis de un fármaco, resulta esencial identificar el agente responsable para asegurar el tratamiento apropiado. De manera similar, la identificación del abuso de fármacos en situaciones sin sobredosis

proporciona una razón para el tratamiento de la adicción. Por estas razones, a menudo se realizan pruebas de *abuso de fármacos*. Por lo general, esto implica la valoración de una sola muestra de orina para muchas sustancias a través de procedimientos de evaluación cualitativa. En la mayor parte de los casos, este procedimiento sólo detecta el uso reciente del fármaco. Por tanto, con la abstinencia de duración relativamente corta, tal vez no se identifique a muchos pacientes con abuso. Además, un examen de fármaco positivo no diferencia entre el uso ocasional y el abuso crónico. Por lo general, la identificación del abuso crónico implica varios resultados positivos de la prueba en conjunto con evaluación clínica. De manera similar, un examen positivo del fármaco no determina el marco temporal o la dosis de fármaco ingerida.

El abuso de fármacos o sobredosis llega a ocurrir con sustancias de prescripción, sin receta o ilícitas. El centro de este análisis gira en torno a sustancias con potencial adictivo.

El uso de drogas para propósitos recreativos o mejoría del desempeño es relativamente frecuente. En Estados Unidos, el *National Institute on Drug Abuse* informa que alrededor del 30% de la población mayor de 15 años de edad ha usado una droga ilícita. Las pruebas de abuso de drogas se volvieron lugar común en el ambiente profesional, industrial y atlético. Las medidas punitivas potenciales relacionadas con estas pruebas conllevan u ocasionan un litigio civil o criminal. Por tanto, el laboratorio debe asegurarse que los datos sean admisibles y defendibles desde el punto de vista legal. Esto requiere el uso de métodos analíticos validados como exactos y precisos. Además, se necesita documentación de seguridad de la muestra. Se establecerán protocolos y procedimientos que prevengan y descubran adulteración de la muestra para prevenir la detección de la droga. En condiciones normales, se realiza medición de la temperatura, el pH, la gravedad específica y la creatinina urinarios para asegurar que estas muestras no se diluyeron ni trataron con sustancias que interfieran con las pruebas. La recolección de la muestra se vigilará y una cadena de custodia establecida servirá para brindar resguardo contra el intercambio de la muestra.

Las pruebas de abuso de fármacos se realizan por varios métodos. Por lo general, se emplea un método de valoración y confirmación de dos titulaciones.²⁷ Los procedimientos de valoración serán sencillos, rápidos, económicos y capaces de automatización. A menudo se les conoce como *pruebas de la mancha*. En términos generales, los procedimientos de valoración cuentan con buena sensibilidad analítica con especificidad marginal; un resultado negativo descarta un analito con un grado razonable de certeza. Estos métodos suelen detectar clases de fármacos con base en las similitudes en la configuración química. Esto permite la detección de compuestos padre y sus congéneres, que tienen efectos similares. Dado que muchos fármacos de diseñador son formas modificadas de fármacos de abuso establecidos, estos métodos incrementan el ámbito del proceso de valoración. Una desventaja de este tipo de análisis es que detecta, también, sustancias relacionadas desde el punto de vista químico que tienen un bajo o nulo potencial para el abuso. Por tanto, la interpretación de

CUADRO 29-4. PREVALENCIA DE FÁRMACOS DE ABUSO FRECUENTES

SUSTANCIA	PREVALENCIA (%) ^a
Alcohol	75 a 80
Marihuana	20 a 26
Cocaína	5 a 13
Benzodiazepinas	1 a 5
Barbitúricos	0.5 a 5
Opiáceos	0.1 a 2
Fenciclidina	0.1 a 2
Anfetaminas	0.1 a 1
Otros estimulantes	0.8 a 2
Otros sedantes hipnóticos	0.6 a 2

^aEn este cuadro se proporcionan frecuencias aproximadas de los fármacos de abuso relevantes encontrados en el laboratorio clínico. Los valores porcentuales calculan la prevalencia del uso en individuos universitarios, los usuarios principales, quienes de acuerdo con los datos del estudio utilizaron fármacos en los últimos 30 días, e individuos que dieron positivo en el mismo grupo de edad. (Adaptado de los sitios Web de NIDA Capsules e InfoFacts: URL <http://www.nida.nih.gov>; acceso, 12/04/04.)

los resultados de la prueba positivos requiere la integración del contexto clínico y pruebas adicionales. En las pruebas de confirmación se utilizan métodos que poseen sensibilidad y especificidad elevadas. Muchas de estas pruebas proporcionan tanto información cuantitativa como cualitativa. Las pruebas de confirmación requieren el uso de un método diferente del empleado en el procedimiento de valoración.

Existen varios procedimientos analíticos generales que se emplean con frecuencia para el análisis de fármacos de abuso. Las reacciones cromogénicas, la generación de un producto coloreado de manera habitual por una reacción química, se utilizan en ocasiones como procedimientos de valoración. Los procedimientos basados en inmunoanálisis se usan en forma amplia como análisis de valoración y confirmatorios. En general, los inmunoanálisis ofrecen un

elevado grado de sensibilidad y se automatizan con facilidad. Existe una amplia gama de técnicas cromatográficas para la identificación cualitativa y cuantificación de fármacos. La cromatografía de capa fina es un método económico para la valoración de muchos fármacos, y tiene la ventaja de que no se requiere instrumentación. La cromatografía líquida y de gas permite que mezclas complejas de fármacos se separen y cuantifiquen. Por lo general, estos métodos son laboriosos y no son lo más adecuados para la valoración.

Muchos fármacos tienen potencial para el abuso.²⁸ Las tendencias en el abuso de drogas varían entre los lugares y los diferentes grupos socioeconómicos. Para que un laboratorio clínico proporcione un servicio de toxicología eficaz, se requiere el conocimiento del fármaco o los grupos de fármacos que quizá se encontrarán en la población del paciente que se atiende. Por fortuna, el proceso de selección de cuáles fármacos se examinarán es auxiliado por estudios nacionales en los que se identifican los fármacos de abuso que se observan con mayor frecuencia en la población (cuadro 29-4). Esto proporciona la base para la selección de la prueba en la mayor parte de las situaciones. Las siguientes secciones de este capítulo se centran en fármacos seleccionados con elevado potencial de adicción.

Anfetaminas

La anfetamina y metanfetamina son fármacos terapéuticos empleados en la narcolepsia y el trastorno del déficit de atención. Estos fármacos son estimulantes con elevado potencial de abuso.²⁹ Producen una sensación inicial de mayor capacidad mental y física, junto con percepción de bienestar. Estos efectos iniciales son seguidos por inquietud, irritabilidad y, quizá, psicosis. La disminución de estos efectos tardíos a menudo es opuesta al uso continuo. Se desarrollan tolerancia y dependencia psicológica con el uso crónico. La sobredosis, aunque rara en usuarios experimentados, ocasiona hipertensión, arritmias cardíacas, convulsiones y tal vez la muerte. Varios compuestos relacionados desde el punto de vista químico con las anfetaminas son componentes de medicamentos sin receta, como efedrina, seudofedrina y fenilpropanolamina. Estos compuestos semejantes a la anfetamina son frecuentes en medicamentos para alergia y resfriados.

ESTUDIO DE CASO 29-2

Un caso en urgencias con diagnóstico provisional de sobredosis con un medicamento para el resfriado sin receta se somete a un examen de fármacos. Los resultados de la prueba de la posvaloración con inmunoanálisis fueron negativos para opiáceos, barbitúricos, benzodiazepinas, THC y cocaína, pero positivos para anfetaminas. El valor de salicilato fue 15 veces mayor al límite superior del rango terapéutico. Los resultados para acetaminofeno y etanol fueron negativos.

Preguntas

1. ¿Cuáles serían los resultados esperados del análisis del gas sanguíneo arterial?
2. ¿Cuáles serían los resultados esperados del urianálisis de rutina?
3. ¿Cuáles son algunas de las posibles razones de que el examen de anfetaminas sea positivo?

La identificación del abuso de anfetamina incluye el análisis de orina para conocer los fármacos de origen. Por lo general, los sistemas de inmunoanálisis se utilizan como procedimiento de valoración. Debido a la variable de reactividad cruzada con medicamentos sin receta que contienen compuestos semejantes a anfetaminas, a un posible resultado por inmunoanálisis se le considera presuntivo. La confirmación de pruebas positivas del inmunoanálisis suele realizarse por cromatografía líquida o gaseosa.

Esteroides anabólicos

Los esteroides anabólicos conforman un grupo de componentes relacionados, desde el punto de vista químico, con la testosterona, la hormona sexual masculina. Estas sustancias artificiales se desarrollaron en 1930 como terapia para el hipogonadismo en hombres. Pronto se descubrió que el uso de estos compuestos en sujetos saludables aumenta la masa muscular. En muchos casos, esto produce mejoría en el desempeño atlético. En estudios recientes se encontró que 6.5% de adolescentes varones y 11.9% de mujeres informaron del uso de esteroides sin prescripción.³⁰

La mayor parte de los esteroides ilícitos se obtienen a través del mercado negro de laboratorios clandestinos y fuentes extranjeras. La calidad y pureza de estos fármacos son bastante variables. En la mayor parte de los casos, los efectos tóxicos agudos están relacionados con formulación inconsistente, que tal vez produzca dosificaciones e impurezas elevadas. Varios efectos físicos y fisiológicos se relacionan con el abuso de esteroides. El uso crónico se vincula con hepatitis tóxica. Además, se relaciona con arterosclerosis acelerada y agregación anormal de plaquetas, que predisponen al derrame cerebral e infarto al miocardio. Además, el abuso de esteroides causa agrandamiento del corazón. En este trastorno, las células musculares cardíacas se desarrollan más rápido que la vasculatura relacionada. Es posible que esto conduzca a isquemia de las células musculares del corazón, lo que predispone a arritmias cardíacas y posible muerte repentina. En hombres, el uso crónico de esteroides se relaciona con atrofia testicular, esterilidad e impotencia. En mujeres, causa desarrollo de rasgos masculinos, reducción del pecho y esterilidad.

La identificación de los individuos con abuso de esteroides mediante pruebas de laboratorio se limita a los métodos cromatográficos. Se emplean los sistemas de gas y líquido.³¹ La cromatografía de gases con espectrofotometría de masas es el método más empleado.

Canabinoides

Los cannabinoides constituyen un grupo de compuestos de psicoactivos encontrados en la marihuana.³² De éstos, el tetrahidrocanabinol (THC) es el más potente y abundante. La marihuana o su producto procesado, el hachís, se fuma o ingiere. Una sensación de bienestar y euforia es el efecto subjetivo de la exposición. Además, está relacionada con deterioro de la memoria a corto plazo y la función intelectual. Aún no se establece con claridad los efectos del uso crónico. La sobredosis no se relaciona con resultados

tóxicos fisiológicos específicos. Tal vez se desarrollen tolerancia y ligera dependencia con el uso crónico. La THC es una sustancia lipofílica, que se elimina con rapidez de la circulación por difusión pasiva dentro de compartimientos hidrofóbicos, como el cerebro y la grasa. Esto ocasiona la eliminación lenta como resultado de la distribución inversa a la circulación y el posterior metabolismo hepático.

La vida media del THC en la circulación es de un día después de un solo uso, y de tres a cinco días en consumidores habituales crónicos. El metabolismo hepático del THC genera varios productos que se eliminan sobre todo por la orina. El metabolito urinario principal es el ácido 11-nor- Δ -tetrahidrocanabinol-9-carboxílico (THC-COOH). Es posible detectar este metabolito en orina durante tres a cinco días después de un solo uso o hasta por cuatro semanas en un consumidor habitual crónico después de la abstinencia. Los inmunoanálisis para el THC-COOH representan la base de la prueba de valoración para el consumo de marihuana. Para la confirmación, se utiliza cromatografía de gases con espectrometría de masas. Ambos métodos son sensibles y específicos. Debido al bajo límite de detección de estos métodos, es posible encontrar THC-COOH en orina como resultado de la inhalación pasiva. Se establecieron estándares de concentración urinaria para diferenciar entre inhalación pasiva y directa.

Cocaína

La cocaína es un anestésico local efectivo con pocos efectos adversos a concentraciones terapéuticas. A valores circulantes más elevados, representa un potente estimulador del SNC que desencadena una sensación de excitación y euforia.³³ La cocaína es una sal alcaloide que se administra directamente (p. ej., por insuflación o inyección intravenosa) o se inhala como vapor cuando se fuma en la forma de base libre (crack). Tiene un alto potencial de abuso. La vida media de la cocaína circulante es breve: 0.5 a 1 hora. La toxicidad aguda de la cocaína está relacionada con hipertensión, arritmia, ataques e infarto al miocardio. Los efectos subjetivos y tóxicos son evidentes cuando las concentraciones circulantes aumentan. Debido a su vida media breve, el mantenimiento de los efectos subjetivos en un solo período prolongado requiere dosificaciones repetidas de cantidades crecientes. Por tanto, no es posible establecer correlaciones entre la concentración sérica y los efectos subjetivos o tóxicos. Debido a que el índice de cambio es más importante que la concentración sérica, un factor primario que determina la toxicidad de la cocaína es la dosis y vía de administración; por vía intravenosa implica el riesgo más grande, seguida de cerca por la forma que se fuma.

La vida media de la cocaína es resultado de la rápida hidrólisis hepática de los metabolitos inactivos. Ésta es la principal ruta de eliminación. Sólo una pequeña porción del fármaco de origen se encuentra en la orina después de la administración de una dosis. El producto primario del metabolismo hepático es la benzoilecgonina, que se elimina la mayor parte por la orina. La vida media de la benzoilecgonina es de cuatro a siete horas. La presencia

de este metabolito en la orina es un indicador sensible y específico del uso de cocaína. Se le detecta en orina durante tres días después de un solo uso. En usuarios habituales crónicos, tal vez se encuentre en orina durante hasta 20 días después de la última dosis. El procedimiento de valoración principal para la identificación del uso de cocaína es la detección de la benzoilecgonina en orina mediante inmunoanálisis. La prueba de confirmación se realiza mediante cromatografía de gases con espectrometría de masas.

Opiáceos

Los opiáceos son una clase de sustancias capaces de analgesia, sedación y anestesia.³⁴ Se derivan de sustancias extraídas de la amapola del opio o se relacionan desde el punto de vista químico con éstas. Las sustancias que se producen de manera natural incluyen el opio, la morfina y la codeína. La heroína, hidromorfona (Dilaudis) y la oxycodona (Percodan) son formas químicamente modificadas de los opiáceos que ocurren en forma natural. La meperidina (Demerol), metadona (Dolopina), propoxifeno (Darvon), pentazocina (Talwin) y fentanil (Sublimaza) constituyen los opiáceos sintéticos más comunes. Los opiáceos poseen elevado potencial de abuso. El empleo crónico conduce a tolerancia con dependencia física y psicológica. La sobredosis aguda se presenta con acidosis respiratoria debido a la depresión de los centros respiratorios, mioglobinuria y tal vez incremento en los indicadores séricos del daño cardíaco (CKMB), troponina). La sobredosis de opiáceos a una concentración elevada llega a producir la muerte causada por insuficiencia cardiopulmonar. El tratamiento de la sobredosis incluye el uso de naloxona, un antagonista del opiáceo.

Por lo general, las pruebas para opiáceos implican la detección inicial (valoración) por inmunoanálisis. La mayor parte de los inmunoanálisis están diseñados para detectar sobre todo morfina y codeína. Sin embargo, la reactividad cruzada como resultado de similitudes en la estructura química permite la detección de muchos de los opiáceos: que ocurren de manera natural, modificados químicamente y sintéticos. La cromatografía de gases con espectrometría de masas es el método confirmatorio de elección.

Fenciclidina

La fenciclidina (PCP) es un fármaco ilícito con propiedades estimulantes, depresivas, anestésicas y alucinógenas. Posee un elevado potencial de abuso. Con frecuencia se observan efectos adversos a dosis que producen los efectos subjetivos deseados, como agitación, hostilidad y paranoia. La sobredosis está relacionada con estupor y coma. La PCP se ingiere o se inhala al fumar tabaco o marihuana que contiene PCP. Se trata de un fármaco lipofílico que se distribuye con rapidez dentro de la grasa y el cerebro. La eliminación es lenta como resultado de la distribución dentro de la circulación y el metabolismo hepático. Alrededor de 10 a 15% de una dosis administrada se elimina de manera intacta por la orina. El metabolismo

hepático forma varios productos. La identificación del abuso de PCP se realiza a través de detección del fármaco de origen en la orina. En usuarios habituales crónicos, es posible detectar la PCP entre siete y 30 días después de la abstinencia. El inmunoanálisis se utiliza como procedimiento de valoración. La cromatografía de gases con espectrometría constituye el método confirmatorio.

Hipnóticos sedantes

Muchos fármacos terapéuticos se clasifican como hipnóticos sedantes o tranquilizantes. Todos los miembros de esta clase son depresivos del SNC. Tienen un amplio rango de funciones terapéuticas y se les utiliza con frecuencia. La mayor parte de estos fármacos tiene potencial de abuso, que va de elevado a bajo. Estos fármacos se han vuelto disponibles para el uso ilegal a través de la desviación de las fuentes aceptadas. Los barbitúricos y las benzodiacepinas son los tipos más frecuentes de hipnóticos sedantes de abuso. Aunque los barbitúricos cuentan con mayor potencial de abuso, las benzodiacepinas se encuentran con mayor frecuencia en situaciones de abuso y sobredosis. Al parecer esto es resultado de la disponibilidad. Existen muchos fármacos individuales dentro de la clasificación de barbitúricos y benzodiacepinas. El secobarbital, fentobarbital y fenobarbital son los barbitúricos de mayor abuso. El diacepam (Valium), el clordiacépoído (Librium) y el loracepam (Activan) son las benzodiacepinas más empleadas para abuso. En la sobredosis con hipnóticos sedantes, al principio se presenta letargia y discurso mal articulado, que llega a progresar con rapidez a coma. La depresión respiratoria es el efecto tóxico más importante de la mayor parte de estos agentes. En ocasiones, ocurre hipotensión con los barbitúricos. La toxicidad de muchos de estos agentes se potencia por el etanol.

El inmunoanálisis es el procedimiento de valoración más frecuente para barbitúricos y benzodiacepinas. La amplia reactividad cruzada dentro de los miembros de cada uno de los grupos permite la detección de muchos fármacos individuales. Para la prueba de confirmación, es posible utilizar cromatografía líquida o de gases.

RESUMEN

Los casos de envenenamiento representan una cantidad importante de admisiones hospitalarias y visitas a consultorio médicos.³⁵ El laboratorista clínico desempeña varios papeles que afectan el resultado del paciente en estos casos. La identificación y cuantificación de la toxina es una responsabilidad primaria. Además, es necesario que el laboratorista se encuentre listo para sugerir procedimientos de comprobación que contribuyan a definir el diagnóstico y proporcionen una base para el monitoreo de la eficacia de la terapia. El suministro de un servicio de toxicología clínico eficaz requiere la comprensión de la población de pacientes a la que se atiende y una comprensión básica de los mecanismos tóxicos de los venenos que a menudo se encuentran.³⁶

PREGUNTAS DE REPASO

1. Se informa que el compuesto A tiene una LD_{50} oral de 5 mg/kg de peso corporal; el compuesto B tiene una LD_{50} oral de 50 mg/kg de peso corporal. De las siguientes afirmaciones con respecto a la toxicidad relativa de estos dos compuestos, ¿cuáles son VERDADERAS?
 - a) La ingestión de cantidades bajas del compuesto A predeciría que causa más muertes que una dosis equivalente del compuesto B.
 - b) Se esperaría que la ingestión del componente B no produzca efectos tóxicos a dosis mayores que 100 mg/kg de peso corporal.
 - c) Ni el compuesto A ni el compuesto B son tóxicos a cualquier valor de exposición oral.
 - d) El compuesto A se absorbe con mayor rapidez del tracto gastrointestinal que el compuesto B.
 - e) Se predeciría que el compuesto B es más tóxico que el compuesto A si la vía de exposición fue transdérmica.
2. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones describe de mejor manera la TD_{50} de un compuesto?
 - a) La dosificación de una sustancia que es letal para el 50% de la población.
 - b) La dosificación de una sustancia que produciría beneficio terapéutico en 50% de la población.
 - c) La dosificación de una sustancia que se esperaría que cause un efecto tóxico en 50% de la población.
 - d) El porcentaje de individuos que experimentarían una respuesta tóxica a 50% de la dosis letal.
 - e) El porcentaje de la población que experimentaría una respuesta tóxica después de una dosificación oral de 50 mg.
3. De los siguientes métodos analíticos, ¿cuál es el más utilizado como método confirmatorio para la identificación de fármacos de abuso?
 - a) Colorimetría diferencial con escaneo.
 - b) Electrodo específico del ion.
 - c) Cromatografía de gases con espectrometría de masas.
 - d) Inmunoanálisis.
 - e) Nefelometría.
4. Una toxina ácida débil ($pK = 4.0$) que se ingiere:
 - a) No será absorbida porque está ionizada.
 - b) No será absorbida a menos que esté presente un transportador específico.
 - c) Será absorbida de manera pasiva en el colon ($pH = 7.5$).
 - d) Será absorbida de manera pasiva en el estómago ($pH = 3.0$).
 - e) Será absorbida sólo si se ingiere una base débil al mismo tiempo.
5. ¿Cuál es el producto primario del metabolismo del metanol por el sistema alcohol-aldehído deshidrogenasa?
 - a) Acetona.
 - b) Acetaldehído.
 - c) Ácido oxálico.
 - d) Formaldehído.
 - e) Ácido fórmico.
6. ¿Cuáles de las siguientes afirmaciones respecto a la toxicidad del cianuro son VERDADERAS?
 - a) La inhalación del humo de plástico en combustión es una causa frecuente de exposición a cianuro.
 - b) El cianuro es un compuesto relativamente no tóxico que requiere exposición crónica para producir un efecto tóxico.
 - c) El cianuro expresa su toxicidad por inhibición de la fosforilación oxidativa.
 - d) Todas las anteriores son verdaderas.
 - e) Solo a y c son verdaderas.
7. ¿Cuál de los siguientes resultados de laboratorio serían consistentes con la exposición oral aguda a una concentración elevada a una forma inorgánica del mercurio (Hg^{2+})?
 - a) Concentraciones elevadas de mercurio en sangre entera y orina.
 - b) Proteinuria.
 - c) Sangre oculta positiva en las heces.
 - d) Todas las anteriores son verdaderas.
 - e) Todas las anteriores son falsas.
8. Un niño se presenta con anemia hipocrómica microcítica. El médico sospecha anemia por deficiencia de hierro. Las pruebas adicionales de laboratorio revelan una capacidad normal de hierro sérico total y de unión con hierro; sin embargo, la concentración de protoporfirina de cinc fue muy elevada. El examen urinario para porfirinas fue positivo. En el manchado basofílico eritrocítico se observó una mancha periférica. ¿Cuál de las siguientes pruebas de laboratorio sería más aplicable en este caso?
 - a) Tiocianato urinario.
 - b) Carboxihemoglobina.
 - c) Plomo en sangre entera.
 - d) Esteroides anabólicos urinarios.
 - e) Benzoilecgonina urinaria.
9. Un paciente con sospecha de envenenamiento por organofosfatos se presenta con una concentración baja de SchE. Sin embargo, en la prueba confirmatoria, eritrocito-acetilcolinesterasa, se observa un resultado normal. Sin incluir el error analítico, ¿cuál de las siguientes situaciones explicaría estos resultados opuestos?
 - a) El paciente tiene cirrosis hepática en fase tardía.
 - b) El paciente estuvo expuesto a concentraciones bajas de organofosfatos.

- c) El paciente tiene una variante de SchE que muestra una actividad baja.
 - d) Todas las anteriores son correctas.
 - e) Sólo a y c son correctas.
10. Un paciente ingresa a la sala de urgencias en coma. El médico sospecha una sobredosis de fármaco. La valoración con inmunoanálisis para opiáceos, barbitúricos,

benzodiazepinas, THC, anfetaminas y PCP fue negativa. Se detectó etanol en suero. ¿Es posible que el médico excluya la sobredosis como causa de estos resultados?

- a) Sí.
- b) No.
- c) Tal vez.

REFERENCIAS

- Kirk M, Pace S. Pearls, pitfalls and updates in toxicology. *Emerg Med Clin North Am* 1997;15:427.
- Brettell TA, Saferstein R. Forensic science. *Anal Chem* 1997;69:123R.
- McKenna M, Chick J, Buxton M, et al. The SECCAT survey: the cost and consequences of alcoholism. *Alcohol* 1996;31:565.
- Urry FM, Wong Y. Current issues in alcohol testing. *Lab Med* 1995;26:194.
- Thorne D, Kaplan K. Laboratory indicators of ethanol consumption. *Clin Lab Sci* 1999;12:351.
- Church AS, Witting MD. Laboratory testing in ethanol, methanol, ethylene glycol and isopropanol toxicities. *J Emerg Med* 1997;15:687.
- Jaffe FA. Pathogenicity of carbon monoxide. *Am J Forensic Med Pathol* 1997;18:406.
- Balzan MV, Agius G, Galea A. Carbon monoxide poisoning: easy to treat but difficult to recognize. *Postgrad Med J* 1996;72:470.
- Satarug S, Baker J, Urbenjapol S, et al. A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed populations. *Toxicol Lett* 2003;137:65.
- Herber RF, Christensen JM, Sabbioni E. Critical evaluation of cadmium concentration in blood for use in occupational health. *Int Arch Occup Environ Health* 1997;69:372.
- Vahter M. Mechanisms of arsenic biotransformation. *Toxicology* 2002;181:211.
- Cabrera C, Ortega E, Lorenzo ML, et al. Cadmium contamination of vegetable crops, farmlands, and irrigation waters. *Rev Environ Contam Toxicol* 1998;154:55.
- Lauwerys RR, Bernard AM, Roels HA, et al. Cadmium: exposure markers as predictive indicators of nephrotoxic effects. *Clin Chem* 1994;40:1391.
- Silbergeld EK. Preventing lead poisoning in children. *Annu Rev Public Health* 1997;18:187.
- De Gennaro L. Lead and the developing nervous system. *Growth Dev Aging* 2002;66:43.
- Piomeli S. Childhood lead poisoning. *Pediatr Clin North Am* 2002;49:1285.
- Diamond GL, Goodrum PE, Felter SP, et al. Gastrointestinal absorption of metals. *Drug Chem Toxicol* 1997;20:345.
- Loghman M. Renal effects of environmental and occupational lead exposure. *Environ Health Perspect* 1997;105:928.
- Ratcliffe HE, Swanson GM, Fischer LJ. Human exposure to mercury: a critical assessment of the evidence of adverse health effects. *J Toxicol Environ Health* 1996;49:221.
- Watanabe C, Satoh H. Evolution of our understanding of methyl mercury as a health threat. *Environ Health Perspect* 1996;104(Suppl 2):367.
- Mottet NK, Vahter ME, Charleston JS, et al. Metabolism of methyl mercury in the brain and its toxic significance. *Met Ions Biol Syst* 1997;34:371.
- Blondell J. Epidemiology of pesticide poisoning in the United States, with special reference to occupational cases. *Occup Med* 1997;12:209.
- Cabrera C, Ortega E, Lorenzo ML. Monitoring for pesticide exposure. *AAOHN J* 1996;44:599.
- Temple AR. Acute and chronic effects of aspirin toxicity and their treatment. *Arch Intern Med* 1981;141:P364.
- Diener H, Limmroth V. Analgesics. *Curr Med Res Opin* 2001;17:13.
- Johnson SC, Pelletier LL. Enhanced hepatotoxicity of acetaminophen in the alcoholic patient. *Medicine* 1997;76:185.
- Eshridge KD, Guthrie SK. Clinical issues associated with urine testing of substances of abuse. *Pharmacotherapy* 1997;17:497.
- Repetto MR, Repetto M. Habitual, toxic and lethal concentrations of 103 drugs of abuse in humans. *J Toxicol Clin Toxicol* 1997;37:1.
- Cho AK, Segal DS, eds. Amphetamine and Its Analogs: Psychopharmacology, Toxicology and Abuse. New York: Academic Press, 1994.
- Brower K. Anabolic steroid abuse and dependence. *Curr Psychiatry Rep* 2002;5:377.
- Bowers LD. Analytic advances in detection of performance-enhancing compounds. *Clin Chem* 1997;43:1299.
- Brown T, Dobs A. Endocrine effects of marijuana. *J Clin Pharmacol* 2002;42:90S.
- Boghdadi MS, Henning RJ. Cocaine: pathophysiology and clinical toxicology. *Heart Lung* 1997;26:484.
- Kalant H. Opium revisited: a brief review of its nature, composition nonmedical use and the relative risks. *Addiction* 1997;92:267.
- Vernon DD, Gleich MC. Poisoning and drug overdose. *Crit Care Clin* 1997;13:647.
- Mokhlesi B, Leikin J, Murray P, Corbridge T. Adult toxicology in critical care. *Chest* 2003;123:897.

LECTURAS RECOMENDADAS

- Casarett LJ, Klaassen CD, Doull J, eds. *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*, 6th ed. New York: McGraw-Hill, 2001.
- Pradyot P. *A Comprehensive Guide to the Hazardous Properties of Chemical Substances*, 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1999.
- Sipes IG, McQueen CA, Gandolfi AJ. *Comprehensive Toxicology*. New York: Pergamon, 1997.

Marcadores tumorales en circulación: conceptos básicos y aplicaciones clínicas

James T. Wu

CAPÍTULO

30

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

■ CONCEPTOS BÁSICOS

Regulación del crecimiento
Neoplasia e hiperplasia
Diferencias entre células normales y cancerígenas
Tumores benignos y malignos
Metástasis
Vía de transducción de la señal
Ciclo celular
Apoptosis
Angiogénesis
Adhesión

■ ESPECIFICIDAD Y SENSIBILIDAD

■ UTILIDADES CLÍNICAS DE LOS MARCADORES TUMORALES

Valoración
Monitoreo en el tratamiento
Pronóstico
Detección temprana
Terapia objetivo

■ TIPOS DE MARCADORES TUMORALES

Enzimas, proteínas del suero y hormonas
Proteínas carcinoembrionicas

Marcadores tumorales definidos monoclonales

Marcadores tumorales no específicos

Marcadores tumorales específicos celulares

■ RECOMENDACIONES PARA LA SOLICITUD DE UNA PRUEBA

Solicitud de pruebas en serie
Uso del mismo equipo
Vida media del marcador tumoral
Efecto de gancho

■ MARCADORES TUMORALES SOLICITADOS CON FRECUENCIA

Marcadores tumorales individuales
Antígeno carcinoembrionario (ACE)
Cromogranina A
Ácido homovanílico (AHV)
Ácido siálico relacionado con lípidos en plasma (ASAL-P)
Antígeno de carcinoma celular escamoso (ACCE)
Ácido vanililmandélico (AVM)

■ PREGUNTAS DE REPASO

■ REFERENCIAS

■ LECTURAS RECOMENDADAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Analizar la incidencia de cáncer en Estados Unidos.
- Explicar el papel de los marcadores tumorales en el tratamiento del cáncer.
- Identificar las características o propiedades de un marcador tumoral ideal.
- Establecer el valor clínico principal de los marcadores tumorales.

- Enumerar los principales tumores y sus marcadores relacionados.
- Describir las principales propiedades, los métodos de análisis y el uso clínico de ACE, AFP, CA125, CA19-9, PSA, β -hCG, y PALP.
- Explicar el uso de enzimas y hormonas como marcadores tumorales.

TÉRMINOS CLAVE

Antígeno específico del tumor
Antígeno oncofetal

Antígeno relacionado con el tumor
Cáncer

Índice de DNA (ID)
Marcador tumoral
Neoplasma

Oncogén
Protooncogén
Secuencia

CONCEPTOS BÁSICOS

Regulación del crecimiento

Existen dos procesos principales implicados en el crecimiento celular: proliferación y diferenciación. El *cáncer* es una enfermedad de crecimiento anormal. Cuando el crecimiento y desarrollo de una célula normal pierden el control, comienzan a surgir las células tumorales. A esto se le denomina *tumorigénesis*.

Neoplasia e hiperplasia

La neoplasia e hiperplasia son dos procesos biológicos similares. La principal diferencia entre ellas radica en la manera en que se controla el crecimiento. La hiperplasia comprende la multiplicación de células en un órgano o tejido, que, como resultado, aumentan en volumen. Sin embargo, la neoplasia abarca la posibilidad de que células normales sufran proliferación cancerosa como hiperplasia que tiene lugar bajo condiciones menos controladas. Ésta es, por tanto, una forma de hiperplasia patológica. De este modo, la hiperplasia sigue un propósito útil y está controlada por estímulos, en tanto la neoplasia no está regulada ni atiende ningún propósito. En otras palabras, la elevación de los marcadores tumorales en caso de hiperplasia es pasajera, mientras que la neoplasia será un fenómeno de duración prolongada si es que no se trata.

Diferencias entre células normales y cancerígenas

Cuando la diferenciación o proliferación no están reguladas, existe el riesgo de que células normales se vuelvan tumorales. Por lo general, este proceso se relaciona con cambios en los componentes genéticos de la célula que explican las diversas conductas y funciones observadas en el cáncer. Es posible que las modificaciones principales que distinguen las células normales de las cancerígenas se deban en su totalidad a varios fenómenos relacionados con esquemas genéticos de la célula, como la mutación de oncogenes celulares y la regulación anormal de su manifestación o reestructuración de las secuencias oncogénicas del DNA.

Tumores benignos y malignos

La mayor parte de las células tumorales pasan por una fase benigna, progresan de manera gradual hacia la malignidad y al final sufren metástasis si es que no se tratan.¹ La inestabilidad genética relacionada con las células tumorales tal vez haga que éstas sean más sensibles a mutaciones adicionales, que a la postre quizá conduzcan a enfermedad maligna. Durante la fase benigna, los tumores permanecen en el sitio primario y constituyen un menor riesgo para el huésped. En esta fase temprana, existe una buena oportunidad de que el paciente sea tratado con éxito, como por extirpación completa del tumor. Por tanto, la detección temprana de un tumor benigno es crítica para la prevención del cáncer en general y para familias con alto riesgo en particular. Todos los tumores benignos están bien dife-

renciados y constan de células que se asemejan a células normales maduras del tejido de origen del neoplasma.

Metástasis

La mayor parte de las muertes por cáncer están relacionadas con enfermedad metastásica. Varios cambios genéticos constituyen las razones principales de los desequilibrios de regulación del crecimiento, lo que conduce a la proliferación incontrolable. La metástasis representa, por tanto, procesos de varias etapas que implican numerosas interacciones células tumorales-huésped y células-matriz. Para que las células tumorales produzcan metástasis,² aquellas que se encuentran en el sitio principal tienen que penetrar, en primer lugar, los sitios circundantes adyacentes, que incluyen la membrana basal epitelial y el estroma intersticial. Luego invaden los vasos sanguíneos o linfáticos y se transportan a sitios distantes, hasta que al final se detienen en los lechos venosos/capilares o tejido sólido de un órgano distante. En este nuevo ambiente, estas células tumorales deben penetrar una vez más en las paredes vasculares para proliferar en el nuevo sitio distante. En términos generales, cuanto más grande, más agresivo o de crecimiento más rápido es el neoplasma principal, más probable será que las células tumorales produzcan metástasis. Hay que tomar en cuenta, también, que la metástasis es un proceso bastante selectivo. Las células aisladas a partir de tumores individuales llegan a diferir de muchas maneras con respecto a la capacidad de invasión y metástasis, el índice de crecimiento, los receptores de superficie celulares, la inmunogenicidad y la respuesta a fármacos citotóxicos.²

Vía de transducción de la señal

La vía de transducción de la señal controla el ciclo celular y la apoptosis (fig. 30-1). La vía es una transmisión ordenada y específica de los mensajes reguladores del crecimiento del exterior de la célula a la maquinaria que controla la replicación dentro del núcleo de la célula.³

En este proceso, los estímulos extracelulares se unen a y activan sus receptores correspondientes con la actividad de proteína cinasa tiroxina inducible en la superficie celular. Estos estímulos incluyen hormonas, como la insulina y las hormonas medulares suprarrenales; citocinas; factor β de transformación del crecimiento; factor epidérmico del crecimiento; c-erbB-2; factor del nervio de crecimiento; e incluso antígenos. Después, se genera, amplifica e integra una señal del receptor, lo que da como resultado la expresión de los genes blanco en el núcleo y las respuestas biológicas subsecuentes que instruyen a las células a proliferar o a cesar.

En fecha reciente, la vía lineal del factor de crecimiento y receptor de la membrana a la replicación del DNA se completó casi en su totalidad. En la unión del estímulo al receptor, la transmisión de la señal se transporta por fosforilación proteica. Tiene lugar una ola de activación proteica, que implica la activación de la función enzimática de muchas cinasas proteicas. Por ejemplo, una gran cantidad de señales extracelulares reaccionan inicialmente con vías de señalización y usan proteínas G (ras) para originar las diversas consecuencias biológicas.

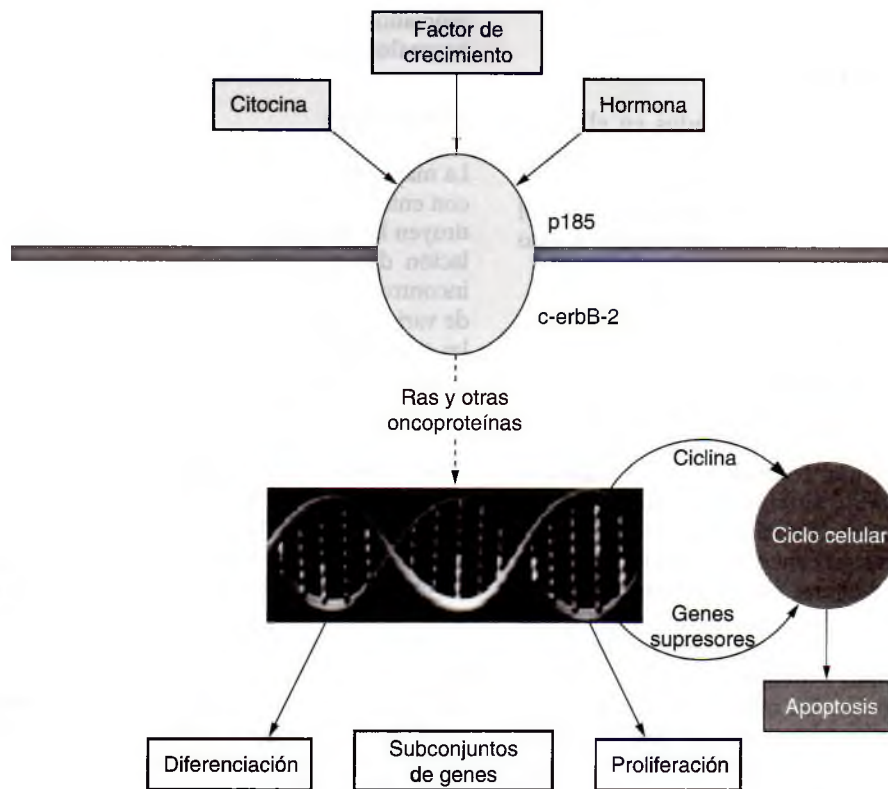


FIGURA 30-1. Transducción de la señal.

Ciclo celular

El ciclo celular es uno de los más importantes factores determinantes que controlan la proliferación celular. Incluye el paso de una célula a través de una ronda completa de replicación. En la mayor parte de las células de mamíferos, el ciclo celular consta de cuatro fases: una sección de interfase, compuesta de las fases G_1 , S, y G_2 , y una cuarta fase, M, o mitosis (fig. 30-2). La fase G_1 se define como el intervalo entre la conclusión de la mitosis y el comienzo de la replicación de DNA. La fase S es el intervalo en el que el genoma nuclear se replica. La fase G_2 es el intervalo entre la finalización de la replicación nuclear de DNA y el comienzo de la mitosis. En la mayor parte de las poblaciones de células de replicación, existe un depósito de células sin replicar que mantiene la capacidad de reingresar a la replicación. Estas células inactivas de manera reversible ocupan un compartimiento metabólico especial o quinta fase, conocida como G_0 . La finalización del ciclo celular requiere la coordinación de varias síntesis, ensamblajes y movimientos macromoleculares. La coordinación de estos procesos complejos se logra a través de una serie de cambios en las cinasas dependientes de la ciclina (CDC).⁴ Las formas activas de las CDC constituyen un complejo de cuando menos dos proteínas, una cinasa y una ciclina. Estos componentes del ciclo celular son codificados por una categoría separada de genes que, cuando mutan, no sólo incrementan la inestabilidad genética, sino también

aceleran la evolución celular y la progresión a la malignidad. En términos breves, los tumores se originan por la ausencia de ciertos controles del ciclo celular.⁵ Por tanto, los defectos en la maquinaria del ciclo celular quizá contribuyen a causar cáncer. En varios tipos de cáncer se han encontrado mutaciones en el gen ciclina.

Apoptosis

El equilibrio entre la proliferación y muerte celulares se realiza, de hecho, por apoptosis. La apoptosis, muerte celular o fisiológica programada, es un sistema natural de autodestrucción presente en todas las células.⁶ La incapacidad de las células para sufrir muerte celular apoptótica tal vez conduzca a cáncer. Se trata del proceso natural que el cuerpo emplea para el reemplazo de las células, y la supresión de células dañadas inherentes en el funcionamiento normal de los organismos multicelulares. La apoptosis constituye un mecanismo de control para la remodelación tisular durante el crecimiento y desarrollo. Por tanto, la apoptosis proporciona un mecanismo para que el cuerpo elimine células producidas en exceso, de desarrollo inadecuado o con daño genético.

En la actualidad, varios marcadores relacionados con la apoptosis incluyen la proteína p53, Bcl 2 y el ligando Fas/Fas. Son tanto inductores como inhibidores de muerte celular. Estos marcadores tendrían gran potencial para el diagnóstico, el pronóstico y la aplicación terapéutica.

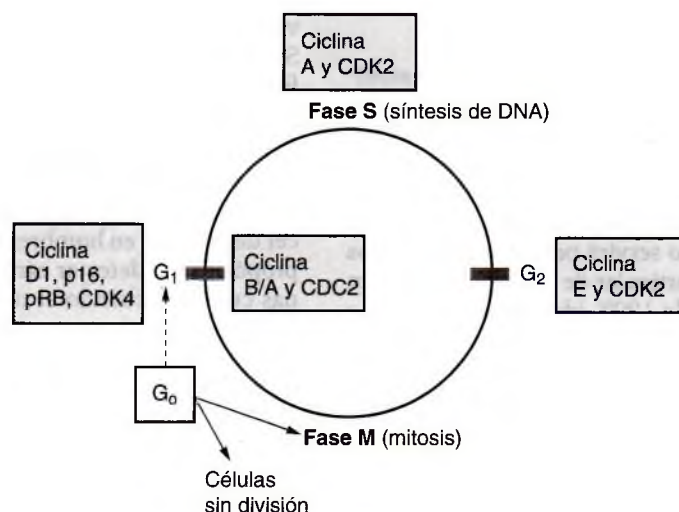


FIGURA 30-2. Fases del ciclo celular en mamíferos.

Angiogénesis

La angiogénesis es un proceso fundamental mediante el cual se forman nuevos vasos sanguíneos.^{6,7} El crecimiento y la metástasis tumorales dependen de la angiogénesis. Ésta es crítica, no sólo para el crecimiento de tumores sólidos, sino también para la dispersión de células del tumor primario y el desarrollo de metástasis en sitios distantes.⁸ Los nuevos vasos sanguíneos insertados en un tumor proporcionan una entrada para que las células tumorales ingresen a la circulación y produzcan metástasis en los sitios distantes. El grado de angiogénesis en un tumor primario inicial se correlaciona con la diseminación metastásica e índices de supervivencia en los pacientes. Un tumor debe estimular de manera continua el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos capilares para que se desarrolle.

Por tanto, la valoración de la angiogénesis tumoral tal vez resulte valiosa en la selección de pacientes con carcinoma de pecho temprano para la terapia agresiva. La mayor parte de los factores angiogénicos mejor conocidos son el factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV), el factor de crecimiento de fibroblasto básico (aFGF y bFGF) y el factor

de transformación del crecimiento α (TGF- α). Todos ellos convierten células normales en fenotipos transformados.

Adhesión

Las moléculas adhesivas constituyen una clase específica de glucoproteína transmembrana implicada cada vez que las células se mueven e interactúan, como en la curación de heridas, inflamación y metástasis de cáncer. Regulan la migración de leucocitos a sitios inflamados o dentro de tejido linfático. En la evidencia creciente se demuestra que el aspecto de ciertas moléculas de la membrana se relaciona con el potencial metastásico o es una señal de la conversión de células normales a malignas. En muchos estudios se confirma que la expresión de estas moléculas de adhesión en la membrana celular tiene impacto en el comportamiento de la célula tumoral.

Se conocen tres clases de moléculas de adhesión: selectinas, integrinas y la superfamilia de inmunoglobulinas. Cada clase posee elementos y características estructurales únicos. Las moléculas de adhesión solubles llegan a encontrarse en sangre y líquidos tisulares.

ESTUDIO DE CASO 30-1

Una mujer de 72 años de edad informa diarrea intermitente y estreñimiento en las dos últimas semanas, así como pérdida de peso de 10 kg en los seis meses anteriores. El examen físico resulta irrelevante, excepto por heces positivo con guayaco. Se realizó colonoscopia, en la que se descubrió una masa circunferencial en el colon sigmoideo. En la biopsia se identificó la masa como un adenocarcinoma. Se obtuvo un nivel de antígeno carcinoembrionario (ACE) como parte del trabajo quirúrgico inicial.

Preguntas

1. ¿La prueba de ACE es útil como examen de valoración de carcinoma del colon?
2. ¿Qué otros trastornos llegan a ocasionar niveles elevados de ACE?
3. ¿Cómo se utiliza el ACE para monitorear pacientes después de cirugía de cáncer de colon?
4. ¿Qué otras pruebas de laboratorio se deben tomar en cuenta en el trabajo quirúrgico inicial de este paciente?

ESPECIFICIDAD Y SENSIBILIDAD

Resulta esencial comprender el significado de la sensibilidad de la prueba y la especificidad del marcador tumoral antes de estudiar sus aplicaciones. De hecho, la utilidad clínica de un marcador tumoral se vuelve dependiente casi por completo de su especificidad y sensibilidad. Cuando se dice que un examen de marcador tumoral tiene una sensibilidad de 100%, el mismo servirá para detectar a todos los pacientes con un tipo particular de cáncer, en tanto un examen con especificidad de 100% identificará sólo a los pacientes con el tipo específico de tumor y no a aquellos con enfermedades benignas. Por desgracia, ninguno de los marcadores tumorales descubiertos hasta ahora alcanza 100% de especificidad y sensibilidad de un marcador tumoral ideal.

UTILIDADES CLÍNICAS DE LOS MARCADORES TUMORALES

Valoración

Hasta el momento, ninguno de los marcadores tumorales descubiertos tuvo la especificidad y sensibilidad suficientes para la valoración en la población en general. En la mayor parte de los marcadores tumorales no está recomendada la valoración, en especial en una población asintomática. Además de la falta de especificidad y sensibilidad deseadas en los marcadores tumorales, la baja prevalencia de cáncer en general también desalentaría las valoraciones para cáncer. Además, se temía que la naturaleza no específica de la mayor parte de las pruebas con marcadores tumorales causarían una alarma innecesaria o ansiedad en la población general.

Sin embargo, hay excepciones en las que se llevaron a cabo valoraciones exitosas de cáncer al medir marcadores tumorales en poblaciones definidas de manera cuidadosa.

α -Fetoproteína (AFP)

En países asiáticos, el examen del hepatoma primario se basa en la medición de la AFP sérica. Se considera que es buen ejemplo de una excepción como resultado de la ele-

vada incidencia de cáncer hepático en esa área del mundo. Se requiere información y estudio adicionales para confirmar esto.

Antígeno específico de la próstata (PSA) y PSA libre

Debido a la especificidad tisular, el PSA se volvió el primer marcador tumoral recomendado para la valoración de cáncer de próstata en hombres mayores de 50 años de edad.⁹ El propósito fue detectar cáncer de próstata en fases tempranas curables, cuando el tumor aún está confinado dentro del órgano. El denominado PSA en realidad se encuentra presente en la circulación sanguínea en dos formas principales: PSA libre y un complejo PSA- α_1 -antiquimiotripsina (PSA-ACT). La medición del porcentaje de PSA libre (PSA libre/PSA total \times 100) o de la proporción entre PSA libre y PSA-ACT tal vez contribuya a diferenciar la hiperplasia de próstata benigna (BPH) del cáncer de próstata.¹⁰

Susceptibilidad de genes

Varios cánceres familiares están relacionados con mutaciones de la línea del germen en varios genes. Los más prominentes de éstos son los genes para susceptibilidad a cáncer de pecho y ovárico, como BRCA1 y BRCA2. En el colon, el gen coli de poliposis adenomatosa (CPA) quizá sea hereditario y predisponga a cáncer. En la actualidad se encuentran disponibles pruebas de BRCA1 y BRCA2 para evaluar esas familias para la identificación de los portadores.

Monitoreo en el tratamiento

Una de las dos aplicaciones más útiles de los marcadores tumorales corresponde a su uso en el monitoreo del curso durante el tratamiento del paciente con cáncer. La medición de los marcadores tumorales séricos durante el tratamiento proporciona una indicación de la efectividad del fármaco antitumoral empleado, y proporciona una guía para la selección del fármaco más efectivo para cada caso individual (es decir, ofrece un medio para determinar la eficacia terapéutica).

ESTUDIO DE CASO 30-2

Un hombre caucásico de 69 años de edad se presentó en la clínica médica con molestias por aumento de la micción y dificultad en la misma. En el interrogatorio adicional se reveló la necesidad de orinar varias veces por la noche. Aunque ha padecido el problema por cierto tiempo, se agravó en fecha reciente. Se obtuvo un antígeno sérico específico de la próstata (PSA), y se realizó examen rectal digital. La concentración de PSA se elevó a 15 ng/ml (rango de referencia, <4 ng/ml), y en el examen digital se mostró agrandamiento de la próstata sin nódulos palpables.

Preguntas

1. ¿Es posible utilizar sólo el PSA como prueba de valoración para cáncer de próstata?
2. ¿Cuáles son algunas causas de la elevación del PSA sérico?
3. Si el cáncer de este paciente se limita a la próstata, ¿es necesario monitorear los valores de PSA después de la prostatectomía o la terapia de radiación, o ambas?
4. ¿Qué otras pruebas de laboratorio hay que realizar en el trabajo inicial de este paciente?

Detección de recurrencia

El monitoreo de los marcadores tumorales para la detección de la recurrencia después de la extirpación quirúrgica del tumor constituye la segunda aplicación más útil de los marcadores tumorales. Debido a que en los pacientes monitoreados ya se identificó su cáncer, la especificidad del marcador tumoral es menos importante que la sensibilidad. Lo deseable es monitorear al paciente con una prueba de marcador tumoral de elevada sensibilidad para detectar la recurrencia lo más pronto posible. Habrá que notar que la aparición de la mayor parte de los marcadores circulantes tiene un tiempo de producción de varios meses (3 a 6 meses) antes de la fase en la que es posible utilizar muchos de los procedimientos físicos para la detección del cáncer.

Pronóstico

En pacientes con cáncer, la determinación del pronóstico se basa en la evaluación de la agresividad tumoral, que, a su vez, determina la manera en que se debe tratar a un paciente. Además, los factores de pronóstico que se miden en el laboratorio clínico indican el riesgo y predicen la amplitud de una recaída franca, así como, en términos generales, el período de supervivencia al momento de la terapia primaria. Esta práctica ganó popularidad en años recientes. Por ejemplo, los factores de pronóstico (o factores de riesgo) se miden de manera rutinaria en el citosol tumoral del pecho para ayudar a determinar la terapia química o endocrina apropiada para los pacientes después de la extirpación del tumor.

Debido a que la concentración sérica de los marcadores tumorales aumenta con la progresión del tumor, y por lo general alcanza las concentraciones más elevadas cuando los tumores producen metástasis, es probable que los valores séricos de los marcadores tumorales en el diagnóstico reflejen la agresividad del tumor y ayuden a predecir el resultado para los pacientes. Las concentraciones elevadas del marcador tumoral sérico medidas durante el diagnóstico indicarían la presencia de un tumor maligno o metastásico relacionado con un pronóstico malo.

Detección temprana

La detección de fenotipos en la circulación sanguínea correspondiente a mutaciones tempranas de un cáncer permite que se descubra un neoplasma precoz en la fase curable.¹¹ Hay que notar que varios factores de riesgo conducen a tumorigénesis, que es posible identificar y eliminar con un ajuste dietético y cambio en el estilo de vida. La mayor parte de los factores de riesgo se relacionan con inflamación y tensión oxidativa. La medición de todos los fenotipos mutantes y de los factores de riesgo en la circulación ayudaría a identificar individuos en riesgo de cáncer o a detectar tumores tempranos en la fase benigna.

Terapia objetivo

En el pasado, los fármacos usados en quimioterapia fueron sobre todo fármacos con actividad de DNA que eran bastante tóxicos y tenían eficacia limitada. En fecha reciente, se intro-

dujeron anticuerpos monoclonales e inhibidores de enzimas que interactúan con moléculas de la vía de transducción de la señal, apoptosis del ciclo celular, angiogénesis y adhesión a los análisis clínicos. Es posible que la interrupción de las señales permanentes o constitutivas que controlan el crecimiento celular tumoral constituya una terapia antitumoral más eficaz. La inhibición de la proliferación celular tumoral también llega a ser eficaz al introducir agentes (o genes) que desactivan la vía de señalización o vías que controlan de manera específica la proliferación dentro de un tumor o tipo de tumor dado. El nuevo conocimiento prevaleciente se dirige al desarrollo de fármacos “inteligentes” selectivos al objetivo con base en los mecanismos caracterizados de la acción. Por tanto, el defecto específico del tumor identificado por estos nuevos marcadores tumorales debe conducir al diseño de fármacos más específicos, incluso anticuerpos y moléculas pequeñas, que inhiban los receptores del factor de crecimiento y el receptor de tiroxina cinasas.

TIPOS DE MARCADORES TUMORALES

La expresión fenotípica más notable relacionada con células cancerígenas se relaciona con la regulación del crecimiento celular. Cualquier molécula identificada con transformación maligna, proliferación, desdiferenciación y metástasis de células tumorales funciona como marcador del tumor. El valor clínico de cualquier marcador tumoral dado depende de su uso clínico esperado, así como de su especificidad y sensibilidad.

Enzimas, proteínas del suero y hormonas

Warburg fue el primero en notar que los tumores malignos suelen mostrar una tasa elevada de actividad glucolítica en presencia de oxígeno. A partir de entonces, se vigilan las enzimas glucolíticas durante el tratamiento de ciertos pacientes con cáncer.¹² Incluso en años recientes, aún se utilizaron de manera extensa varias enzimas e isoenzimas como marcadores tumorales (cuadros 30-1 y 30-2). Aunque se comprobó que estas enzimas séricas ubicuas no eran específicas para cáncer, sus concentraciones a menudo reflejaban progresión del tumor y, al mismo tiempo, el estado clínico del paciente. Por tanto, son útiles desde el punto de vista clínico para verificar el éxito de terapia. Al principio, los métodos para medir estos marcadores tumorales se limitaban a la actividad enzimática y electroforesis, ambas pruebas de sensibilidad relativamente baja. Se desarrolló una cantidad creciente de inmunoanálisis para enzimas e isoenzimas, en fecha más reciente con el uso de anticuerpos monoclonales específicos, con el propósito de una mejora adicional en la sensibilidad y especificidad de la prueba.

Más de un mecanismo explica la elevación de enzimas en el cáncer. En la mayor parte de los casos, la elevación se relaciona con el mayor porcentaje de proliferación de las células tumorales. Sin embargo, es posible que el aumento de ciertas enzimas sea resultado de la expresión oncofetal y otras se relacionen con la mutación del gen. A las isoenzimas con especificidades tisulares diferentes (p. ej., lactato deshidrogenasa [LD], creatinina cinasa [CK], y fosfatasa alcalina [ALP]) también se les identifica con muchas

CUADRO 30-1. ENZIMAS COMO MARCADORES TUMORALES

ENZIMA	ENFERMEDAD MALIGNA RELACIONADA
Fosfatasa ácido prostática	Carcinoma prostático, fase tardía
Lisozima	Cáncer de colon; leucemia monocítica y mielomonocítica
Lactato deshidrogenasa	Leucemia aguda; linfoma maligno; tumores celulares germinales; cánceres metastásicos de colon, pecho y pulmón
5'-Nucleótido fosfodiesterasa	Cáncer de pulmón; metástasis hepática
Sialittransferasa	No específica
Fucosiltransferasa	Tumores malignos múltiples
Timidina cinasa	Linfoma de Hodgkin; ciertas leucemias; carcinoma celular pequeño del pulmón
Terminal deoxinucleotidil transferasa	Cáncer linfoblástico

enfermedades malignas.¹³ En estudios se ha demostrado en forma repetida que la elevación de ciertas isoenzimas específicas es responsable de los incrementos observados de las actividades enzimáticas globales en muchas enfermedades malignas. Es posible que la medición de las isoenzimas específicas, en lugar de la actividad enzimática total, mejoraría la especificidad de la prueba.

Proteínas carcinoembrionicas

Bajo condiciones normales, la expresión de todas las proteínas está sujeta a la regulación genética. En cierta fase del desarrollo celular, el comienzo de la diferenciación

celular bloqueará de manera selectiva la expresión de ciertos fenotipos (supresión) y permitirá que sólo unos cuantos continúen. Sin embargo, este proceso bien regulado se perderá en distintos grados cuando la célula normal se transforme en una célula tumoral, lo que depende de la etapa del tumor. En otras palabras, la expresión de algunas proteínas, que se espera que resulten bloqueadas durante los procesos de desarrollo normal, tal vez se reactive en células tumorales. La detección de cantidades casi equivalente de productos del gen de oncodesarrollo durante el desarrollo fetal y la carcinogénesis conduce a creer que hay un proceso básico común relacionado con el gen en el desarrollo, al igual que en la carcinogénesis. Por la misma

CUADRO 30-2. ISOENZIMAS SÉRICAS COMO MARCADORES TUMORALES

ISOENZIMA	ENFERMEDADES MALIGNAS RELACIONADAS
CK-BB	Adenocarcinoma de próstata, pulmón y estómago; no específico
Macro-CK tipo 2 (CK mitocondrial oligomérica) ^a	Cáncer hepático metastásico y varios carcinomas
Macro-CK tipo 1 (complejo entre CK-BB e IgG)	Varias enfermedades neoplásicas
Complejo CK-IgA mitocondrial	Detectado en varios carcinomas. Al parecer se trata de un pronosticador para pacientes con tumores avanzados
Galactosiltransferasa II ^b	Cánceres ovárico, hepático y esofágico
ALP placentaria (PALP) ^c	Cáncer colorrectal avanzado; no específico
ALP semejante a la placentaria (izoenzima de Regan)	La frecuencia más elevada se encontró en tumores celulares germinales (p. ej., seminomas) y cánceres ováricos; no específicos
ALP hepática	Metástasis hepática. También elevada en seminomas y cánceres ováricos
ALP ósea	Osteosarcoma; metástasis ósea
LD-1	Tumores celulares germinales testiculares (seminomas, tumor del saco vitelino)
Isoenzimas LD-4 y LD-5	Elevadas en la mayor parte de los cánceres en fase avanzada

^a Datos tomados de Kanemitsu F. Clinical significance and characteristics of creatine kinase-immunoglobulin complexes in sera from patients with malignant tumors. Clin Chim Acta, 1986;160:19-26.

^b Datos tomados de Uemura M, Yamasaki M, Yoshida S, et al. An enzyme immunoassay for galactosyltransferase isoenzyme II, and its clinical application to cancer diagnosis. Clin Chem, 1990;36:598-601.

^c La isoenzima semejante a la placentaria tiene diferentes propiedades bioquímicas e inmunoquímicas en comparación con la ALP placentaria. Sin embargo, hay un 98% de homología en la secuencia de aminoácidos entre estas dos enzimas.

ESTUDIO DE CASO 30-3

En un hombre de 25 años de edad se encontró deshidrogenasa lactato (LD) elevada de 350 UI/L (rango de referencia, 93 a 139 UI/L), lo que se confirmó con una segunda muestra. Se realizó electroforesis de LD, que reveló aumento de la isoenzima LD-1 por arriba del rango normal. Los estudios del electrocardiograma (ECG) fueron negativos para infarto agudo al miocardio. En la electroforesis de la creatinina cinasa (CK) sólo se mostró una banda de CK-MM. En el examen físico, se encontró que el hombre tenía una masa tumoral en el escroto izquierdo. Se solicitaron pruebas de α -fetoproteína sérica (AFP) y de gonadotropina coriónica humana β (β -hCG).

Preguntas

1. ¿Cuál es el diagnóstico primario más probable para este paciente?
2. ¿Qué tipo de enfermedades benignas deben considerarse en el diagnóstico diferencial? ¿Por qué?
3. ¿Es posible determinar el tipo de tumor testicular con base en los resultados de AFP y β -hCG séricas?
4. ¿Es posible establecer un diagnóstico final con base sólo en los hallazgos del marcador tumoral? De no ser así, ¿cuál es la razón?

razón, la transformación maligna debe tratarse como una fase especial de desarrollo.

Muchas de estas proteínas carcinoembrionarias, como el antígeno carcinoembrionario (ACE) y la AFP, no tienen funciones fisiológicas definidas con claridad. La mayor parte de estas moléculas están presentes en concentraciones en nanogramos y en picogramos en la circulación sanguínea. La cuantificación de sus concentraciones circulantes en la sangre para el diagnóstico y el control del paciente requiere la sensibilidad de los radioinmunoanálisis (RIA) o inmunoanálisis enzimáticos (IAE).¹⁴ Sin embargo, la especificidad y sensibilidad de estas proteínas carcinoembrionarias no son de 100%; no obstante, son mucho mayores que las de enzimas, proteínas séricas y hormonas cuando se usan como marcadores pulmonares. La concentración sérica de estas proteínas carcinoembrionarias no sólo se correlaciona con la actividad tumoral, sino que también tiene potencial para establecer pronósticos.

Marcadores tumorales definidos monoclonales

Varios epitopos que aparecen en el marcador tumoral se identifican por anticuerpos monoclonales. En principio se desarrollaron en un esfuerzo por reemplazar el ACE

para el tratamiento de pacientes con varios carcinomas. En efecto, estos anticuerpos monoclonales proporcionan un grado mayor de especificidad y sensibilidad que el análisis del ACE en el control de pacientes con carcinomas de pecho, ováricos y pancreáticos (cuadro 30-3).

Cabe hacer notar que más de un tipo de molécula expresa el mismo epitopo; de hecho, muchos epitopos relacionados con tumores también son compartidos por varios marcadores tumorales derivados de diferentes tumores. Como resultado, los análisis monoclonales llegan a reaccionar con diferentes moléculas, siempre y cuando ambas expresen el mismo epitopo.

Marcadores tumorales no específicos

Ciertos marcadores tumorales son detectables de manera no específica en muchos tipos de cáncer. Son mucho menos específicos que la mayor parte de los marcadores tumorales usados en forma rutinaria para el control de pacientes con cáncer. No obstante, sus concentraciones son sensibles a cambios de la actividad tumoral. Muchos de estos marcadores tumorales no específicos son económicos y sencillos de medir, por lo que son útiles para el monitoreo de la terapia y la detección de recurrencia en pacientes con diagnóstico conocido. Por ejemplo, el ácido siálico relacionado con lípidos en plasma (ASAL-P) se puede cuantificar con un procedimiento calorimétrico simple, rápido y económico, y sus concentraciones séricas son bastante cercanas a las de muchos marcadores tumorales de alta especificidad.

Marcadores tumorales específicos celulares

La mayor parte de los marcadores tumorales antes descritos están relacionados con carcinomas, que se derivan de células epiteliales. Sin embargo, es posible encontrar células neuroendocrinas y escamosas en varios tumores, que tal vez progresen a malignidad. Por ejemplo, el antígeno celular escamoso (ACCE) es el marcador para el carcinoma celular escamoso (CCE), en tanto la cromogranina A (CgA) y la enolasa neuroespecífica (ENE) son marcadores del carcinoma celular neuroendocrino.

CUADRO 30.3. INMUNOANÁLISIS CON MARCADORES TUMORALES MONOCLONALES

KIT MONOCLONAL	ENFERMEDAD MALIGNA PRINCIPAL RELACIONADA
CA 125	Carcinoma ovárico
Hibri-BREScan (CA 549) o CA 15-3 ^a	Carcinoma de pecho
Hibri-Cmark (CA 195) o CA 19-9 ^a	Carcinoma pancreático
CA 72-4	Carcinoma gástrico
PSA libre	Diferenciación entre BPH y carcinoma prostático

^aHybritech (San Diego, CA).

RECOMENDACIONES PARA LA SOLICITUD DE UNA PRUEBA

Es importante saber cómo solicitar una prueba con marcador tumoral para el tratamiento de pacientes con cáncer. Se deben tomar en cuenta varios factores durante la solicitud de la prueba.

Solicitud de pruebas en serie

Debido a que la mayor parte de los marcadores tumorales no son específicos, es difícil diferenciar entre enfermedades malignas y benignas con base sólo en los resultados elevados de una prueba única.

Uso del mismo equipo

Se ha encontrado que los pacientes llegan a recibir tratamiento inadecuado debido a resultados de laboratorio inconsistentes obtenidos de diferentes laboratorios con el uso de distintos equipos comerciales.

Vida media del marcador tumoral

Los valores séricos del marcador tumoral se miden de manera rutinaria para determinar el éxito de la extirpación quirúrgica del tumor. Para tener la certeza que la concentración determinada no es afectada por la concentración residual del marcador tumoral circulante en la sangre antes de la cirugía, el marcador tumoral preexistente necesita suficiente tiempo para depurarse de la circulación antes de obtener una muestra sanguínea del paciente para su medición. Para determinar el intervalo apropiado después de la cirugía y antes de la prueba, es necesario tomar en cuenta la vida media del marcador tumoral en la circulación sanguínea. Es concebible que, además de la vida media del marcador tumoral, la concentración preexistente y el límite superior normal del marcador tumoral también intervienen en la determinación del período antes de obtener una muestra del paciente después de la cirugía para su análisis.

Efecto de gancho

Una desventaja del popular inmunoanálisis de fase sólida tipo sándwich es su relación con el efecto de gancho. Éste tiende a proporcionar un valor falsamente bajo cuando la concentración sérica del marcador tumoral aumenta por arriba de un determinado nivel elevado. La consecuencia del efecto de gancho llega ser importante, en especial cuando los valores caen dentro del rango normal y se malinterpretan como normales cuando, en realidad, el paciente padece una enfermedad maligna. Por ejemplo, no es raro encontrar muestras que miden más de 100 000 U/ml de CA 19-9 en pacientes con carcinoma pancreático. En esos pacientes, tal vez se informe CA 19-9 falsamente bajo, como resultado del efecto de gancho. Por tanto, es importante determinar a cuál nivel del marcador tumoral comenzará a ocurrir el efecto de gancho con el equipo que se utiliza para las mediciones. La medición de los marcadores tumorales a dos diluciones diferentes, con cuando menos una diferencia de 10 veces, por lo general evitará el efecto de gancho. Cabe hacer notar que no hay efecto de gancho en inmunoanálisis con base en un formato de unión competitiva.

MARCADORES TUMORALES SOLICITADOS CON FRECUENCIA

Marcadores tumorales individuales

α -Fetoproteína (AFP)

La AFP es la principal proteína del suero fetal, además de una de las proteínas carcinoembrionarias principales. Es posible encontrar AFP elevada en pacientes con carcinoma hepatocelular (CHC) primario y tumores de células germinales derivados del saco vitelino. La AFP es el marcador sérico más útil para el diagnóstico y tratamiento de CHC. Sin embargo, la AFP también se eleva de manera temporal durante el embarazo y en muchas enfermedades hepáticas benignas, como hepatitis y cirrosis del hígado. Debido a la elevada prevalencia de cáncer hepático en China y otros países del sudeste asiático, se han utilizado con éxito las pruebas de AFP para evaluar hepatoma en esa región del mundo. El límite superior normal para el AFP sérico es de alrededor de 15 ng/ml en adultos. Los recién nacidos y lactantes menores tienen valores séricos de AFP mucho más elevados. Alrededor de los 8 meses de edad, el valor de AFP sérico se aproxima a los valores del adulto.¹⁵

β_2 -Microglobulina (β_2 M)

La β_2 M es una proteína de bajo peso molecular (11 800 D) y la cadena ligera constante del antígeno del sitio de histocompatibilidad humana (HLA) expresada en la superficie de la mayor parte de las células nucleadas. Las superficies de linfocitos y monocitos son particularmente ricas en β_2 M. Ésta constituye un marcador tumoral no específico porque es elevado, no sólo en tumores sólidos sino también en enfermedades linfoproliferativas y varios trastornos inflamatorios, entre los que se incluyen artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren y enfermedad de Crohn. La β_2 M es estable en suero pero se degrada con rapidez en la orina a un pH <6.0. Se requiere un análisis más sensible para medir β_2 M en orina. La concentración β_2 M sérica normal es de alrededor de 0.9 a 2.5 mg/L.

Antígeno de cáncer 125 (CA 125)

El CA 125 se definió por primera vez por un anticuerpo OC 125 monoclonal murino elevado en comparación con una línea de carcinoma celular ovárico sérico. Este epitopo se relaciona con una glucoproteína semejante a la mucina de elevado peso molecular (>200 kD) expresada en el epitelio celómico durante el desarrollo embrionario, y en las células del carcinoma ovárico humano. El CA 125 es un antígeno glucoproteínico en el que una mitad del carbohidrato también es parte del antígeno determinante. Se observa un CA 125 sérico elevado en más de 80% de los carcinomas ováricos epiteliales no mucinosos, como el citadenocarcinoma sérico del ovario. El CA 125 no es específico para el carcinoma ovárico. Sin embargo, se ha encontrado que la manifestación de un CA 125 elevado precede a los diagnósticos clínicos de enfermedades recurrentes de uno a cuatro meses.

El CA 125 tal vez sea útil para la detección de tumores ováricos en una fase temprana, y para el monitoreo de tratamientos sin procedimiento quirúrgico. El límite superior normal para el CA 125 en suero es de 35 U/ml.

Antígeno de cáncer 15-3 (CA 15-3)

El CA 15-3 representa epitopos distintos en una glucoproteína mucínica (mucina epitelial polimórfica) de peso molecular elevado (300 a 450 kD) expresados por varios adenocarcinomas, en especial aquellos relacionados con el pecho. Se observan valores séricos elevados de CA 15-3 (>25 U/ml) en 70 a 80% de pacientes con cáncer de pecho metastásico. Sin embargo, los niveles de CA 15-3 también llegan a elevarse en presencia de hepatitis crónica, cirrosis hepática, sarcoidosis, tuberculosis y lupus eritematoso sistémico. En la actualidad, el CA 15-3 se utiliza para vigilar el curso clínico de pacientes con cáncer de pecho. El CA 15-3 es un marcador más sensible y específico para el monitoreo del curso clínico de pacientes con cáncer de pecho metastásico y constituye un marcador más sensible para cáncer de pecho metastatizado que el ACE.

Antígeno de cáncer 19-9 (CA 19-9)

La molécula que transporta el epitopo CA 19-9 aparece como una mucina en la *sera* de pacientes con cáncer, pero como un gangliósido en células tumorales. El CA 19-9 se relaciona con las sustancias del grupo sanguíneo de Lewis, y sólo un antígeno sérico de pacientes con cáncer que pertenecen al grupo sanguíneo Le(a⁺b⁻) o Le(a⁺b⁻) será positivo para CA 19-9. Allí, el análisis para CA 19-9 mide un determinante antigénico de carbohidrato expresado en una mucina con peso molecular elevado.¹⁶ El CA 19-9, al igual que otros antígenos de mucina, no es específico de ningún órgano, y se eleva en varios adenocarcinomas, entre los que se encuentran carcinomas pancreáticos, pulmonares, colorrectales y gástricos. La sensibilidad más elevada de CA 19-9 se encontró en cánceres pancreáticos y gástricos. Las concentraciones séricas de CA 19-9 no sólo se elevan de manera importante y con frecuencia en carcinomas gástricos y pancreáticos, sino que también son útiles para vigilar el éxito de la terapia, y detectar la recurrencia en estos pacientes con cáncer. El límite normal superior para el CA 19-9 en suero es de 37 U/ml.

Antígeno carcinoembrionario (ACE)

El ACE es una glucoproteína con peso molecular de alrededor de 200 kD. El ACE representa la primera de las denominadas proteínas carcinoembrionarias descubiertas por Gold y Freedman.¹⁷⁻¹⁸ Hoy en día, el ACE aún representa el marcador tumoral más usado para cáncer gastrointestinal (GI); sin embargo, la mayor parte de los análisis de ACE en los que se utilizaban anticuerpos policlonales ha sido reemplazada por exámenes en los que se emplean anticuerpos anti-ACE monoclonales. Al principio se pensaba que el ACE era un marcador específico para cáncer colorrectal. Sin embargo, después de estudios adicionales, se encontró que se trataba de un marcador no específico. Los valores elevados de ACE (>10 ng/ml) suelen relacionarse con malignidad. Es posible que el daño hepático afecte la eliminación de ACE y conduzca al aumento de las concentraciones en la circulación sanguínea. Se ha observado incremento de las concentraciones de ACE en personas con elevado consumo de tabaco, y en ciertos pacientes que siguen tratamiento de radiación y quimioterapia. El rango normal superior para ACE en suero es de 2.5 a 5 ng/ml, lo que depende del equipo empleado.

Cromogranina A

La cromogranina A es una proteína soluble principal de los gránulos de cromatina, una vesícula de almacenamiento de catecolaminas. La cromogranina A se produce a partir de la médula suprarrenal, junto con catecolaminas, en la estimulación del nervio esplénico. Se trata de un índice útil de catecolaminas simpaticosuprarrenales liberadas en animales en el laboratorio. Sin embargo, la cromogranina A no se confina a las células de cromatina de la médula suprarrenal y las neuronas simpáticas. También se encuentra presente en varios tejidos neuroendocrinos. La cromogranina A es un marcador útil de la actividad simpaticosuprarrenal exocitótica en pacientes con feocromocitoma. Además, la cromogranina A plasmática se eleva en pacientes con tumores productores de péptidos. También se han encontrado niveles séricos elevados de cromogranina A en presencia de tumor pancreático endocrino, tumores carcinoides y cáncer pulmonar de células pequeñas.

Receptor de estrógeno (RE)

El RE es una proteína (70 kD) que se localiza en los núcleos del tejido mamario y uterino. Tanto el RE como el RPg (receptor de progesterona) también son factores de transcripción que, en unión con el DNA, activan el DNA y modulan las expresiones del gen específico. La medición de RE y RP en el citosol del tumor de pecho se usa para identificar a aquellos pacientes con mayor probabilidad de beneficiarse de la terapia endocrina. Alrededor de 55-60% y 80% de los pacientes con tumores primarios en los que se demuestra RE y RE y RPg, respectivamente, responderán a la terapia hormonal. Pacientes con tumores primarios ricos en RE/RPg también experimentan intervalos libres de enfermedad más prolongados después de mastectomía, y mayor supervivencia general que aquellos con cáncer con deficiencia de receptor.

Gonadotropina coriónica humana (hCG)

La hCG, una sialoglucoproteína (45 kD) que consiste en subunidades disímiles α y β unidas con un enlace no covalente, es secretada por células trofoblásticas de la placenta normal. Las células trofoblásticas malignas y no malignas sintetizan y secretan no sólo el dímero activo biológico, sino también las subunidades α y β libres. La hCG se eleva en la orina y el suero durante el embarazo, pero se presenta sólo en cantidades remanentes (<0.3 UI/2) en *sera* normal. Sin embargo, es posible encontrar hCG elevada en tumores trofoblásticos, coriocarcinoma y tumores celulares germinales de los ovarios y los testículos. Más de 60 a 70% de los pacientes sin seminomas y, en ocasiones, aquellos con seminomas tienen β -hCG libre elevada. A veces la β -hCG ectópica también aumenta en presencia de cáncer ovárico y algunos cánceres pulmonares. La β -hCG libre, no la β -hCG o hCG total, es sensible y específica para neoplasmas agresivos. La β -hCG no es detectable (<100 ng/L) en el suero de sujetos sanos.

Ácido homovanílico (AHV)

En adultos, el AHV y el ácido vanililmandélico (AVM) son secretados en cantidades más grandes de lo normal en pacientes con tumores originados de la base neural. La medición del AVM y AHV urinarios se considera útil para la detección y el monitoreo de pacientes con feocromocitoma.

toma. Su medición también es útil para el diagnóstico de neuroblastoma en niños.

Ácido siálico relacionado con lípidos en plasma (ASAL-P)

Los ácidos siálicos (ácidos N-acetilneuramínicos) son los derivados acilados del ácido neuramínico y los residuos terminales del final no reducido de las cadenas de carbohidratos en muchas glucoproteínas, glucolípidos y proteoglicanos. Las sialoglicoproteínas de la superficie celular tumoral tienen un largo historial de relación con invasividad y metástasis. El ASAL-P se encuentra elevado en varias enfermedades malignas, como en las de pecho, GI o pulmonares. Además, se altera en presencia de leucemia, linfoma, enfermedad de Hodgkin y melanoma, así como en enfermedades inflamatorias no malignas. Al parecer, el ASAL-P no es específico para cualquier tipo específico de tumor, y se utiliza junto con otros marcadores tumorales para detectar aumento de los niveles de sensibilidad y especificidad.

Enolasa específica de la neurona (ENE)

La ENE es la subunidad γ de una isoenzima enolasa en la vía glucolítica, que se encuentra sobre todo en células neuronales y neuroendocrinas. La ENE se detecta, también, en varias células, entre las que se encuentran aquellas que componen la captación del precursor amino y los sistemas de descarboxilación (APUD) y las células del sistema neuroendocrino difuso.

Es posible encontrar concentraciones elevadas de ENE en tumores que se originan en el sistema celular neuroendocrino, como glucagonomas e insulinomas. Los niveles más elevados se encontraron en carcinomas de células de avena, células pequeñas y carcinoma pulmonar. Además, se observa aumento de la ENE sérica en niños con neuroblastoma; más de la mitad de estos niños presentan concentraciones de ENE mayores de 100 ng/ml. Algunos pacientes con otros cánceres pulmonares también podrían mostrar cifras elevadas de ENE sérica; sin embargo, no se encontró elevación alguna en pacientes con enfermedades del pulmón benignas.

Receptor de progesterona (RPg)

El RPg es miembro de una superfamilia de factores de transcripción nuclear de ligando activado, y se compone de dominios específicos implicados en el DNA, la unión con hormonas y la transactivación. En seres humanos, el RPg se detecta como dos proteínas distintas de pesos moleculares diferentes de alrededor de 94 y 120 kD, respectivamente. Debido a que la síntesis del RPg en tumores de pecho depende del RE, el RPg constituye un indicador aún más sensible que el RE de la sensibilidad potencial a terapia endocrina. Cuando los pacientes fueron positivos para RE y para RPg, casi 80% respondió a diversas terapias hormonales, en tanto el índice de respuesta fue de sólo alrededor de 60% en pacientes positivos sólo para RE.

Antígeno específico de la próstata (PSA)

El PSA libre es una glucoproteína de cadena simple (alrededor de 33 a 34 kD) que es, desde el punto de vista funcio-

nal, una proteasa serina semejante a calicreína producida sólo por las células epiteliales que recubren los ácinos y los conductos de la glándula prostática. Se trata de una proteína principal del plasma seminal. Debido a que el PSA libre es una proteasa serina, el PSA libre forma complejos con varios inhibidores de la proteasa y crea complejos en el suero. El principal complejo del PSA detectado en suero es el complejo PSA-ACT. Todos los equipos comerciales actuales para PSA sérico miden tanto el PSA libre como el PSA-ACT, al que se le denomina PSA total (PSA). El PSA es quizá el mejor marcador tumoral descubierto hasta ahora. La especificidad tisular del PSA hace que sea el marcador tumoral más útil disponible para el diagnóstico y tratamiento de cáncer de próstata. La falta de especificidad para cáncer es el único inconveniente con el PSA. Los trastornos benignos, como hiperplasia de próstata benigna (BPH), prostatitis e infarto, también llegan a ocasionar elevación de los valores de PSA sérico. Debido a su especificidad tisular, el análisis de PSA es en particular útil para monitorear el éxito de prostatectomía quirúrgica y para detectar recurrencia. La extirpación completa de la próstata debe dar como resultado una concentración indetectable de PSA. Cualquier PSA-medible después de prostatectomía radical indicaría tejido prostático residual o metástasis. En estos pacientes, las concentraciones crecientes de PSA después de una cirugía exitosa indican en gran medida la presencia de una enfermedad recurrente. Se ha recomendado el uso del PSA sérico en combinación con examen rectal digital (ERD) como herramienta de valoración para detectar cáncer de próstata de importancia clínica. La valoración permite el tratamiento del cáncer de próstata confinado al órgano potencialmente curable descubierto en hombres con esperanza de vida de más de 10 años. La medición del PSA libre (PSA_l) y el cálculo del porcentaje de PSA ($[\text{PSA}/\text{PSA}_l] \times 100$) son útiles para diferenciar entre BPH y tumor de próstata.

Antígeno de carcinoma celular escamoso (ACCE)

El antígeno de CCE es una subfracción neutral próxima del antígeno tumoral TA-4, que es posible purificar a partir de tejido con carcinoma celular escamoso del cuello cervical uterino. El ACCE es útil para vigilar carcinomas celulares escamosos de cabeza y cuello, pulmón, esófago y canal anal. Las concentraciones séricas de ACCE son las más elevadas en pacientes con metástasis. Hasta 50% de los pacientes con insuficiencia renal pueden mostrar aumento de las concentraciones séricas de ACCE.¹⁹ Más de 70% de los pacientes con cáncer cervical avanzado tienen ACCE elevado. Los análisis del ACCE sérico en serie se correlacionan con la progresión y regresión de cáncer cervical durante la quimioterapia. En un estudio, más de 90% de los pacientes con enfermedad recurrente mostró niveles de ACCE elevados. Sin embargo, el ACCE también se incrementa en algunos trastornos no malignos, como enfermedad hepática extensa.

Ácido vanililmandélico (AVM)

Tanto el AVM como el AHV son metabolitos ácidos de las catecolaminas. Se excretan en concentraciones elevadas

por pacientes con neuroblastoma y feocromocitoma y, por tanto, pudieran utilizarse como marcadores tumorales para el diagnóstico y monitoreo de pacientes durante el trata-

miento. La determinación urinaria del AVM constituye una prueba diagnóstica útil en pacientes con neuroblastoma y feocromocitoma.

PREGUNTAS DE REPASO

- ¿Cuál porcentaje de muertes anuales en Estados Unidos corresponde a cáncer?
 - 5%.
 - 13%.
 - 20%.
 - 23%.
- Las pruebas con marcadores tumorales se usan para:
 - Ayudar en el tratamiento del cáncer.
 - Monitorear la respuesta a la terapia.
 - Detectar enfermedad recurrente.
 - Todas las anteriores.
- Los marcadores tumorales pueden definirse como:
 - Pruebas analíticas (p. ej., citometría de flujo) usadas para marcar células cancerígenas.
 - Sustancias y químicos radiactivos empleados para ayudar al médico a identificar las células cancerígenas.
 - Sustancias biológicas sintetizadas y liberadas por células cancerígenas, o sustancias producidas por el huésped en respuesta a las células cancerígenas.
 - Ninguna de las anteriores.
- ¿Cuál de los siguientes es un antígeno oncofetal?
 - α -Fetoproteína.
 - LD.
 - PAP.
 - Enolasa específica de la neurona.
- ¿Cuál de los siguientes marcadores tumorales se encuentra tanto en el carcinoma como en el tejido embrionario, y es útil como indicador de pronóstico en el carcinoma colorrectal?
 - AFP.
 - ACE.
 - PAP.
 - CA 120.
- El uso clínico principal del CA 125 es el monitoreo de la respuesta al tratamiento de:
 - Carcinoma ovárico.
 - Cáncer colorrectal.
 - Cáncer de próstata.
 - Cáncer de pecho.
- ¿Cuál de los siguientes marcadores tumorales se utiliza en el tratamiento de pacientes con cáncer de próstata?
 - Ácido prostático-fosfatasa.
 - Antígeno específico de la próstata.
 - CA 549.
 - Antígeno del polipéptido celular.
- ¿Cuál de las siguientes enzimas suele emplearse como marcador tumoral?
 - Lipasa.
 - LD.
 - Aldolasa.
 - Catalasa.
- Un marcador tumoral usado en la evaluación del carcinoma o lunar hidatidiforme es:
 - β -hCG.
 - ACE.
 - AFP.
 - IgG.
- El análisis del DNA (medición del contenido del DNA nuclear) puede utilizarse para:
 - Diagnosticar cáncer.
 - Marcar células cancerígenas para la extirpación por cirugía.
 - Diferenciar entre enfermedad benigna y maligna.
 - Detectar alteraciones en genes.

REFERENCIAS

- Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SE, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 1988;319:525-532.
- Fidler IJ, Hart IR. Biological diversity in metastatic neoplasms: origins and implications. *Science* 1982;217:998-1003.
- Druker MI, Carpenter G. Role of growth factors and their receptors in the control of normal cell proliferation and cancer. *Clin Physiol Biochem* 1987;5:130-139.
- Dutta A, Chandra R, Leiter LM, et al. Cyclins as markers of tumor proliferation: immunocytochemical studies in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:5386-5390.
- Hartwell LH, Kastan MB. Cell cycle control and cancer. *Science* 1994;266:1821-1828.
- Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem* 1992;267:10931-10934.
- Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nature Med* 1995a;1:27-33.

8. Weider N, Semple JP, Welch WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
9. Catalona W, Smith D, Ratliff T, et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med* 1991;324:1156-1162.
10. Catalona WJ, Smith DS, Wolfert RL, et al. Evaluation of percentage of free serum prostate-specific antigen to improve specificity of prostate cancer screening. *JAMA* 1995;274:1214-1220.
11. Berlin NI. Early diagnosis of cancer. *Prev Med* 1974;3:185-196.
12. Coombes RC, Powles TJ, Gazet JC, et al. Biochemical markers in human breast cancer. *Lancet* 1977;1:132-137.
13. Fishman WH, Inglis NI, Stolbach LL, et al. A serum alkaline phosphatase isoenzyme of human neoplastic cell origin. *Cancer Res* 1968;28:150-154.
14. Thomson DMP, Krupey J, Freedman SO, et al. The radioimmunoassay of circulating carcinoembryonic antigen of the human digestive system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1969;64:161-167.
15. Wu JT, Roan Y, Knight JA. Serum AFP levels in normal infants: their clinical and physiological significance. Symposium XIV. In: Mizejewski GJ, Porter IH, eds. *AFP and Congenital Disorders*. Birth Defect Institute. New York: Academic Press, 1985:111.
16. Feller WF, Henslee HE, Kinders RJ, et al. Mucin glycoproteins as tumor markers. In: Herberman RB, Mercer DW, eds. *Immunodiagnosis of Cancer*, 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 1990:631-672.
17. Gold P, Freedman SO. Demonstration of tumour specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. *J Exp Med* 1963;121:439-461.
18. Gold P, Freedman SO. Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J Exp Med* 1965;122:467-481.
19. Molina R, Fillella X, Torres MD, et al. SCC antigen measured in malignant and nonmalignant diseases. *Clin Chem* 1990;36:251-254.

LECTURAS RECOMENDADAS

- Wu JT, Nakamura R, eds. *Human Circulating Tumor Markers: Current Concepts and Clinical Applications*. Chicago: ASCP Press, 1997.
- Wu JT, ed. *Circulating Tumor Markers of the New Millennium: Target Therapy, Early Detection, and Prognosis*. Washington, D.C.: AACC Press, 2002.

Vitaminas, grasas esenciales y macronutrientes

Larry H. Bernstein

CAPÍTULO

31

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- REQUERIMIENTOS ENERGÉTICOS
- ENERGÍA DE COMBUSTIBLES
- VITAMINAS
 - Vitaminas solubles en grasa
 - Vitaminas solubles en agua
 - Requerimiento dietético recomendado (RDR)
 - Metabolismo vitamínico
 - Dietas especiales
- ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES
- RIESGO DE DESNUTRICIÓN
 - Personas en riesgo de desnutrición
 - Respuesta inflamatoria sistémica y la dicotomía adaptativa nutricional dependiente
 - Hipermatabolismo por estrés

- EVALUACIÓN NUTRICIONAL
 - Programa de prevención del riesgo de desnutrición
 - Índice creatinina/altura
 - Pruebas inmunológicas
 - Composición corporal
 - Pruebas funcionales
 - Marcadores proteínicos en la evaluación nutricional
 - Nutrición parenteral total
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Analizar la contribución de las clases de nutrientes individuales al metabolismo humano.
- Describir el soporte nutricional terapéutico por vías enteral y parenteral.
- Enumerar los parámetros bioquímicos para monitorear el estado nutricional.
- Describir las funciones bioquímicas de las vitaminas.
- Correlacionar alteraciones en los estados vitamínicos con circunstancias de aumento de los requerimientos metabólicos, cambios fisiológicos relacionados con la edad o trastornos patológicos.

- Describir las interacciones fármaco-nutriente que influyen en el estado vitamínico.
- Delinear los procedimientos de laboratorio usados en la evaluación del estado vitamínico.
- Establecer el papel del laboratorio en la evaluación y el monitoreo nutricionales.
- Enumerar las poblaciones en riesgo de desnutrición.
- Identificar los cambios proteicos en el plasma como resultado del estrés.
- Describir algunas de las anomalías electrolíticas y de minerales relacionadas con NPT.

TÉRMINOS CLAVE

Alimentación enteral
Anabolismo
Catabolismo
Desnutrición
Equilibrio de nitrógeno
Escorbuto

Hipervitaminosis
Hipovitaminosis
Índice de masa corporal (IMC)
kcal (kilocalorías)
Kwashiorkor
Marasmo

Nutrición parenteral total (NPT)
Nutriente
Nutrientes esenciales
Osteomalacia
Pelagra
Raquitismo

Requerimientos dietéticos recomendados (RDR)
Tasa metabólica basal (TMB)
Vitamina

El énfasis actual en la nutrición y salud originó el aumento de la importancia de la *evaluación nutricional*. Los médicos y el público por igual son más conscientes de la manera en que la nutrición afecta tanto la salud como la curación. Los compuestos nutricionales de la dieta incluyen tanto macronutrientes como micronutrientes. Los macronutrientes usados para la energía incluyen carbohidratos, proteínas y grasas. Los micronutrientes, requeridos por el cuerpo sólo en concentraciones mínimas de miligramos o menos, abarcan vitaminas, minerales y oligoelementos. En la primera parte de este capítulo se analizan los micronutrientes, incluyendo la bioquímica, la deficiencia, la toxicidad y los métodos de análisis. En el capítulo 15, *Oligoelementos*, se estudian varios minerales (es decir, elementos o compuestos inorgánicos) y oligoelementos (p. ej., hierro, cinc, cobre). En la segunda parte de este capítulo se analiza la evaluación de los macronutrientes.

El riesgo de la *desnutrición* está relacionado con complicaciones inesperadas, como neumonía, infección urinaria, sepsis y síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS). Aunque es posible reconocer la desnutrición grave simplemente por pérdida de peso extrema o importante, pérdida de la fuerza y pérdida de la función, a menudo se pasan por alto grados moderados de desnutrición al momento de la admisión. Por tanto, la confianza en las mediciones antropométricas, a las que se les consideraba indicadores estándares de desnutrición grave, fue reemplazada por una combinación de evaluación global subjetiva y parámetros bioquímicos. Las mediciones bioquímicas tienen mayor contribución en el monitoreo de la respuesta del paciente a los suplementos nutricionales.

REQUERIMIENTOS ENERGÉTICOS

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define el requerimiento energético de un individuo como: “la cantidad de captación de energía que equilibrará el gasto de energía cuando el individuo tiene un tamaño y composición corporales, así como un grado de actividad física, consistentes con una buena salud a largo plazo”.¹ El cuerpo está en equilibrio energético cuando la captación de energía está en equilibrio con el gasto energético. El exceso de calorías se almacena como depósito de grasa y se refleja en un aumento del *índice de masa corporal* (IMC). Existe una fuerte relación entre IMC excesivo, hipertensión y resistencia a la insulina. La inanición conduce a un estado marásmico, con pérdida de grasa y proteína somática, lo que disminuye el IMC. El traumatismo, el estrés y la sepsis elevan el gasto energético.^{2,4} Es posible determinar el gasto energético por calorimetría directa (calor generado), calorimetría indirecta (por la medición del consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono) y métodos de dilución isótopo, mediante el uso de agua de doble etiquetado.

La calorimetría indirecta mide la oxidación del sustrato y el gasto de energía por la producción de CO_2 a partir de la medición de las tasas de intercambio de gas respiratorio. El método supone que el CO_2 espirado es proporcional a la tasa de respiración. La suposición depende de que el O_2 que desaparece del aire inspirado se utilice exclusivamente para oxidaciones biológicas, de modo que todo el CO_2 espirado se derive de la combustión de sustratos. Además, se asume que

todo el nitrógeno no proteico excretado en la orina se deriva sólo de la oxidación de aminoácidos libres, que representan 16% del contenido de nitrógeno. La calorimetría indirecta mide la pérdida neta del sustrato por oxidación, sin importar los ciclos que ocurran a lo largo del proceso. La calorimetría indirecta y el principio de Fick miden el consumo de oxígeno (VO_2) y la producción de dióxido de carbono (VCO_2). La calorimetría indirecta mide el consumo de oxígeno (VO_2) y el gradiente de O_2 transpulmonar del intercambio de gas respiratorio. Fick propuso medir el VO_2 y CO_2 del intercambio de gas y el gradiente de O_2 y CO_2 transpulmonar por caracterización cardíaca. En este modelo idealizado, se miden la entrada de O_2 y la salida de CO_2 , en tanto el rendimiento cardíaco (RC) proporciona la tasa de flujo.

ENERGÍA DE COMBUSTIBLES

El cociente respiratorio (CR), definido como VCO_2/VO_2 , es la medida de la eficiencia respiratoria. El CR calorimétrico se encuentra entre 0.69 y 1.00. El gasto energético que se mide por el VO_2 , un valor menor de 1.0, es combustión incompleta. El CR es importante para calcular los requerimientos nutricionales al proporcionar apoyo nutricional asistido. El CR para grasas es de 0.7, en tanto que para carbohidratos es de 1.0. Es necesario ponderar la ventaja de la administración de grasa en comparación con las fuentes energéticas de carbohidratos. La grasa tiene una ventaja sobre los carbohidratos porque es una fuente densa de calorías y se oxida de manera eficiente, con base en un CR bajo. El efecto de las calorías excesivas de carbohidratos es la producción de CO_2 en exceso, lo que conduce a hiperpnea, perjudicial para el paciente con afección pulmonar. El lípido tiene una tasa de administración que está limitada a la tasa por su eliminación. La administración excesiva de grasa es inmunosupresora.

VITAMINAS

Las vitaminas tienen una amplia gama de funciones en el tejido biológico, donde funcionan como cofactores en muchas reacciones enzimáticas, de modo que esas enzimas tienen baja actividad catalítica en las reacciones celulares si no están presentes las vitaminas. Estos compuestos y sus precursores inactivos desde el punto de vista biológico deben obtenerse parcialmente de fuentes alimenticias y, en algunos casos, por síntesis bacteriana. Cuando los niveles celulares y de actividad de la vitamina de la dieta o de la absorción intestinal son inadecuados, se le denomina *deficiencia vitamínica*. El término *vitamina* tiene una base histórica en estados de deficiencia que fueron aliviados por una ingesta alimenticia específica. Los ejemplos más notables son *escorbuto* (vitamina C), mareos y consumo de cal; *raquitismo*, vitamina D en los primeros años de la época industrial; beriberi, alcoholismo y tiamina; *pelagra*, niacina, ceguera nocturna, vitamina A; anemia megaloblástica, ácido fólico, espina bífida; y anemia perniciosa (con neuropatía), vitamina B_{12} . A los incrementos anormales del metabolismo que requieren aportes elevados de uno de esos cofactores se les denomina *insuficiencia vitamínica o dependencia vitamínica*, de acuerdo con el nivel de aporte exigido para la función fisiológica.^{5,6}

Las variabilidades en la expresión clínica de las anomalías vitamínicas se originan por diferencias en la

causa específica, el grado y la duración de la insuficiencia vitamínica; la presencia simultánea de las insuficiencias nutricionales; y el aumento de las demandas metabólicas impuestas por condiciones como embarazo, infección y cáncer. Por lo general, los síntomas clínicos de las deficiencias vitamínicas son inespecíficos en las fases iniciales y en los estados leves de deficiencia crónica. A menudo se requiere una combinación de antecedentes dietéticos, examen físico y mediciones de laboratorio para diagnosticar deficiencia vitamínica. El metabolismo vitamínico es complejo, y son frecuentes los suplementos de vitaminas de los alimentos. No es raro encontrar toxicidades vitamínicas por el uso inadecuado de suplementos vitamínicos.

Por simplicidad, las vitaminas de estructura química diferente se clasifican en solubles en agua y solubles en grasa. Las vitaminas solubles en grasa incluyen la A, D, E y K. Las vitaminas solubles en agua constan de las vitaminas del complejo B (tiamina, riboflavina, niacina, vitaminas B₆ y B₁₂, biotina, folato y vitamina C). Las vitaminas solubles en agua se excretan con rapidez por la orina y es menos probable que se acumulen en concentraciones tóxicas en el cuerpo en comparación con las vitaminas solubles en grasa. En el cuadro 31-1 se muestran las vitaminas, clasificadas como solubles en grasa o en agua, y los síntomas que suelen observarse en estados de deficiencia.⁷

La investigación de la deficiencia dietética de vitaminas (*hipovitaminosis*) se sostiene sobre todo por el conocimiento de las fuentes y prácticas dietéticas que producen ingesta o absorción inadecuada. Los requerimientos dietéticos recomendados se definen por el *Food and Nutrition Board* de Estados Unidos como valores de ingesta de *nutrientes esenciales* que, con base en el conocimiento científico

disponible, son suficientes para satisfacer las necesidades nutricionales de individuos sanos.^{5,6}

La información sobre los requerimientos de ingesta dietéticos necesarios para evitar síntomas de deficiencia y mantener funciones específicas define los requerimientos dietéticos de esas vitaminas. Los requerimientos dietéticos recomendados se establecen para satisfacer las necesidades de 97.5% de la población. Sin embargo, en ciertos casos, son mayores si el nutriente se absorbe de manera deficiente o se utiliza en forma insuficiente.⁷

La determinación química de los estados vitamínicos humanos se realiza de las siguientes maneras:

- Medición de los cofactores o precursores activos en los fluidos biológicos o células sanguíneas.
- Medición de los metabolitos urinarios de la vitamina.
- Medición de una función bioquímica en la que se requiere la vitamina (p. ej., actividad enzimática), con o sin adición *in vitro* de la forma cofactor.
- Medición de la excreción urinaria de la vitamina o metabolitos después de una carga de prueba de la vitamina.
- Medición de los metabolitos urinarios de una sustancia, el metabolismo del que requiere la vitamina después de la administración de una carga de prueba de la sustancia.

La reducción de las concentraciones séricas de una vitamina no siempre indica una deficiencia que interrumpe la función celular. Por el contrario, los valores dentro del intervalo de referencia no siempre reflejan función adecuada. La interpretación de los valores del laboratorio deben realizarse con el conocimiento de la bioquímica y fisiología de las vitaminas.⁷⁻⁹

CUADRO 31-1. VITAMINAS Y ESTADOS DE DEFICIENCIA

NOMBRE DE LA VITAMINA	DEFICIENCIA CLÍNICA
Vitaminas solubles en grasa	
Vitamina A	Ceguera nocturna, retraso del crecimiento, respuesta anormal del gusto, dermatitis, infecciones recurrentes
Vitamina E	Anemia hemolítica leve (recién nacido), fragilidad de glóbulos rojos, ataxia
Vitamina D	Raquitismo (jóvenes), osteomalacia (adultos)
Vitamina K	Hemorragia (que va de contusiones sencillas a masivas) sobre todo hemorragia postraumática
Vitaminas solubles en agua	
Vitamina B ₁	Niños: disnea, cianosis, diarrea, vómito Adultos: beriberi (fatiga, neuritis periférica), síndrome de Wernicke-Korsakoff (apatía, ataxia, problemas visuales)
Vitamina B ₂	Estomatitis angular (lesiones bucales), dermatitis, fotofobia, cambios neurológicos
Vitamina B ₆	Niños: irritabilidad, ataques, anemia, vómito, debilidad Adultos: seborrea facial
Niacina/niacinamida	Pelagra (dermatitis, inflamación de la membrana mucosa, pérdida de peso, desorientación)
Ácido fólico	Anemia megaloblástica
Vitamina B ₁₂	Anemia megaloblástica, anormalidades neurológicas
Vitamina C	En primera instancia, padecimientos y dolores vagos; a largo plazo, escorbuto (hemorragias en piel, tracto alimentario y urinario, anemia, retardo en la curación de heridas)

Vitaminas solubles en grasa

Vitamina A

El retinol y el ácido retinoico se derivan directamente de las fuentes dietéticas, sobre todo como ésteres retinales, o del metabolismo de los carotenoides dietéticos (provitamina A), principalmente β -caroteno. Las fuentes dietéticas primordiales de estos compuestos incluyen productos animales y frutas y vegetales pigmentados (carotenoides). La vitamina A se almacena en el hígado y se transporta en la circulación en forma de complejo con la proteína unida al retinol (PUR) y transtiretina. La vitamina A y los ácidos retinoicos relacionados constituyen un grupo de compuestos esenciales para la visión, la diferenciación celular, el crecimiento, la reproducción y la función del sistema inmunitario. Un papel fisiológico definido con claridad del retinol se encuentra en la visión. El retinol se oxida en los bastones del ojo a retinal, que, cuando forma complejo con la opsina, crea la rodopsina, lo que permite la visión en condiciones de poca luz. Esta vitamina y la vitamina D actúan a través de receptores nucleares específicos en la regulación de la proliferación celular. La deficiencia de vitamina A conduce a ceguera nocturna (*nyctalopia*) y, cuando se prolonga, tal vez produzca ceguera total. En estados de deficiencia de vitamina A, las células epiteliales (células de las capas exteriores de la piel y células del revestimiento de los tractos gastrointestinal, respiratorio y urogenital) se secan y se queratinizan. Las frutas y vegetales contienen caroteno, que es un precursor del retinol. Los carotenos proporcionan más de la mitad del requerimiento de retinol en la dieta estadounidense. La deficiencia de vitamina A es más frecuente en niños que viven en países no industrializados, y por lo general se debe a ingesta dietética insuficiente. La deficiencia se origina, también, por absorción deficiente crónica de grasa o daño en la función hepática o quizá esté relacionada con estrés grave y desnutrición proteica. Los lactantes prematuros nacen con concentraciones de retinol sérico y PUR más bajas, así como con depósitos hepáticos menores de retinol. Por tanto, estos recién nacidos se tratan con vitamina A como medida preventiva.¹⁰

Cuando se ingiere a dosis elevadas, sea en forma crónica o aguda, la vitamina A causa muchas manifestaciones tóxicas, y al final tal vez conduzca a daño hepático debido a *hipervitaminosis*. Las dosis elevadas de vitamina A llegan a obtenerse de la ingestión excesiva de suplementos vitamínicos o cantidades grandes de aceites de hígado o pescado, que son ricos en vitamina A. Sin embargo, no se conoce que los carotenoides sean tóxicos debido a la eficiencia reducida de absorción de caroteno a dosis elevadas y la conversión limitada a vitamina A. El *requerimiento dietético recomendado* (RDR) de vitamina A es de 1 000 $\mu\text{g}/\text{día}$ para hombres adultos y 800 $\mu\text{g}/\text{día}$ para mujeres adultas. La medición del retinol es el medio más habitual para evaluar el estado de vitamina A en el entorno clínico. Por lo general, el retinol se mide por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La toxicidad suele valorarse a través de la medición de los valores de éster retinil en suero más que de retinol, lo que se realiza por HPLC.¹¹

Vitamina E

La vitamina E es un potente *antioxidante*, y la defensa principal contra oxidaciones posiblemente dañinas que causan enfermedad y envejecimiento al proteger los lípidos insaturados de la peroxidación (división de ácidos grasos en sitios insaturados por adición de oxígeno a través del doble enlace y la formación de radicales libres). En la actualidad, el papel de la vitamina E en la protección de la membrana eritrocítica del estrés oxidante constituye su función documentada principal en la fisiología humana. Está demostrado que fortalece las membranas celulares e intensifica funciones como el metabolismo de fármacos, la biosíntesis de hemo y la función neuromuscular. El nombre genérico de la vitamina E es *tocoferol*, que abarca varios isómeros con actividad biológica. El alfa-tocoferol es el isómero predominante en el plasma y el más potente por análisis biológicos actuales. Cerca de 40% del tocoferol ingerido se absorbe, afectado sobre todo por la cantidad y el grado de la grasa dietética insaturada, lo que determina en gran medida el requerimiento fisiológico. La vitamina E absorbida está relacionada con los quilomicrones circulantes, lipoproteínas de muy baja densidad, y remanentes de quilomicrón. Las fuentes dietéticas de tocoferoles incluyen aceite vegetal, vegetales frondosos frescos, yema de huevo, legumbres, cacahuates y margarina. Las dietas con sospecha de deficiencia de vitamina E son aquellas bajas en aceites vegetales o vegetales verdes frescos o aquellas bajas en grasas insaturadas.

El síntoma principal de deficiencia de la vitamina E es la anemia hemolítica. Aunque su uso aún es controversial, a menudo a los recién nacidos prematuros se les administran suplementos de vitamina E para estabilizar los glóbulos rojos y prevenir anemia hemolítica. Existe evidencia de las funciones preventivas de la vitamina E en la fibroplasia retrolental, hemorragia intraventricular y mortalidad de lactantes prematuros y pequeños. Los infantes prematuros que reciben vitamina E en cantidades que mantienen los valores séricos por arriba de los 30 mg/L tienen mayor incidencia de sepsis y enterocolitis necrotizante.¹⁰

Los pacientes con trastornos que ocasionan absorción deficiente de grasa, en especial con fibrosis quística y betalipoproteinemia, también son susceptibles de deficiencia de vitamina E.¹⁰ Existe relación entre la deficiencia de vitamina E y la pérdida progresiva de la función neurológica en lactantes y niños con colestasis crónica.¹⁰ La absorción de vitamina E dietética es más eficiente en el yeyuno, donde se combina con lipoproteínas y se transporta a través de los linfáticos. La vitamina E se almacena en el hígado y otros tejidos con elevado contenido lipídico y se excreta más en las heces. Por tanto, la valoración del estado de vitamina E está indicada sobre todo en recién nacidos, pacientes con estados de absorción deficiente de grasa y quienes reciben dietas sintéticas. El sinergismo con otros dos nutrientes esenciales, el selenio y ácido ascórbico, de la vitamina E también es necesario para el mantenimiento de los valores normales de vitamina A.¹⁰ Esta deficiencia de la vitamina suele ocurrir en dos grupos: lactantes prematuros con muy bajo peso al nacer y pacientes que no absorben la grasa de manera normal. Aunque la megadosis de vitamina E no produce efectos tóxicos, no está demos-

trado que las dosis elevadas tengan beneficios a la salud. El RDR es de 10 mg/día para hombres adultos y de 8 mg/día para mujeres adultas.¹² La forma de distribución más amplia y con mayor actividad biológica de vitamina E es el alfa-tocoferol, que es la forma que se mide de manera habitual en el laboratorio a través de métodos de HPLC.

Vitamina D

La vitamina D se refiere a un grupo de metabolitos relacionados que se utilizan para la formación apropiada del esqueleto y la homeostasis mineral. La exposición de la piel a la luz solar (luz ultravioleta) cataliza la formación de colecalciferol a partir de 7-dihidrocolesterol. La otra forma principal de vitamina D es el ergocalciferol (vitamina D₂). La vitamina D se presenta en los alimentos como colecalciferol o ergocalciferol. El metabolito más activo de la vitamina D es 1,25(OH)₂D₃. Éste estimula la absorción intestinal de calcio y fosfato para el crecimiento y metabo-

lismo óseos y, junto con la hormona tiroidea, estimula el hueso para aumentar la movilización del calcio y fosfato. El 1,25(OH)₂D₃ tiene un efecto proapoptótico importante, que actúa a través de un sistema hormonal de la vitamina D, que depende de la unión con el ligando activo a un receptor de la vitamina D. Esto condujo a desarrollos del descubrimiento de fármacos importantes, en los que se reduce al máximo la liberación del calcio y fosfato, y se modulan los efectos antiinflamatorios y proliferativos de los D-análogos.

En los climas del norte de la Unión Americana, resulta difícil recibir exposición ultravioleta suficiente para satisfacer por completo los requerimientos mínimos (2 h/día). Las fuentes dietéticas principales de vitamina D incluye alimentos radiados y leche preparada de manera comercial. Cantidades pequeñas se encuentran en la mantequilla, la yema de huevos, el hígado, las sardinas, el arenque, el atún y el salmón. La RDR de la vitamina D para adultos es de

ESTUDIO DE CASO 31-1

Un niño de cuatro años de edad es llevado a una clínica infantil de Alaska por el Sistema de Servicios Sociales de dicho estado. El niño vivía en una casa de adopción. Con pocas salidas al aire libre, su dieta consistía en escasos vegetales verdes, productos lácteos o carnes. Comenzó a caminar a los 14 meses; en sus piernas se observó cierto arqueamiento. Hay tétanos o convulsiones. Es pequeño para su edad: 12.2 kg, con 90.6 cm de altura en el tercer percentil. En el cuadro 31-1.1 de estudio de caso se muestran los resultados de las pruebas de laboratorio.

Preguntas

- Es probable que este trastorno se relacione con:
 - Enfermedad de Wilson.
 - Enfermedad de orina de jarabe de arce.
 - Galactosemia y galactosuria.
 - Alguna forma de trastorno de metabolismo mineral o vitamínico, quizá relacionado con alguna deficiencia de vitamina D.
- El agente causante de esta enfermedad es:
 - Ingesta inadecuada de lípidos y ácidos grasos.
 - Enfermedad viral relacionada con el rinovirus.
 - Anormalidad relacionada con la vitamina D o ingesta inadecuada o resistencia a la vitamina D.
 - Ingesta inadecuada de azúcar.
- La terapia que pudiera ayudar en esta situación es:
 - Vitamina D, 10 000 UI/día.
 - 5% de glucosa y agua.
 - Solución de lactato de Ringer normal.
 - Dieta con concentración elevada de ácidos grasos insaturados.

CUADRO 31-1.1 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

PRUEBA	RESULTADO	RANGO DE REFERENCIA
Hgb	14.1 g/dl	12.0 a 18.0 g/dl
Hct	46%	34.0 a 52.0%
WBC	8.4 × 10 ³ /μL Diferencial normal	4.0 a 11.0 μL
Urianálisis		
Gravedad específica	1.010	1.003 a 1.030
pH	6.8	5.0 a 9.0
Glucosa	Negativo	Negativo
Proteína	Negativo	Negativo
Microscópico	Negativo	Negativo
Examen de aminoácidos	Negativo	Negativo
Suero		
Na	140 meq/L	132 a 143 meq/L
K	4.0 meq/L	3.2 a 5.7 meq/L
Cl	101 meq/L	98 a 116 meq/L
CO ₂	14.3 mg/dl	13 a 29 mg/dl
Ca	7.0 mg/dl	8.9 a 10.3 mg/dl
Fosfato	1.1 mg/dl	3.4 a 5.9 mg/dl
Fosfatasa alcalina	23 unidades	15 a 20 unidades
Proteína total	6.6 g/dl	5.6 a 7.7 g/dl
Albúmina	3.4 g/dl	3.1 a 4.8 g/dl

5 µg/día. Al absorberla en el intestino delgado, la vitamina D requiere sales biliares para la absorción. Se almacena en el hígado y se excreta por la bilis. La deficiencia grave en niños causa deficiencia para la calcificación del cartilago de la placa de crecimiento en la formación metafisiaria ósea, lo que conduce al desarrollo de *raquitismo*. En adultos, la deficiencia conduce a desmineralización de la matriz ósea en la remodelación, lo que ocasiona *osteomalacia*. Se informan concentraciones bajas de vitamina D con el uso de fármacos anticonvulsivos y en presencia de enfermedad del intestino delgado, insuficiencia renal crónica, enfermedad hepatobiliar, insuficiencia pancreática e hipoparatiroidismo. La vitamina D llega a ser tóxica, en especial en niños. En el hipoparatiroidismo y la hipofosfatemia, y durante el embarazo existen concentraciones elevadas de vitamina D. El exceso de esta vitamina produce hipercalcemia e hipercalciuria, que tal vez conduzcan a depósitos de calcio en tejido blando, y daños renal y cardíaco irreversibles.¹⁰

Es importante medir la forma metabólica de vitamina D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), la hormona paratiroidea y las concentraciones de calcio al diagnosticar hiperparatiroidismo primario y diferentes tipos de raquitismo, cuando se vigila a pacientes con insuficiencia renal crónica y al momento de evaluar a pacientes sometidos a terapia con $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Dos formas son las medidas más a menudo en el laboratorio clínico: $25(\text{OH})\text{D}_3$ y $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. La $25(\text{OH})\text{D}_3$ es la principal forma circulante de vitamina D. Su medición constituye un buen indicador del estado nutricional de vitamina D, así como de intoxicación por vitamina D. El rango de referencia es de 22 a 42 ng/ml para $25(\text{OH})\text{D}_3$ y 30 a 53 pg/ml para $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. La cuantificación de los metabolitos de la vitamina D debe realizarse a través del uso de radioinmunoanálisis (RIA) o HPLC junto con unión competitiva con proteína.¹³

Vitamina K

La vitamina K (nombre derivado del alemán, *koagulation*) es el grupo de sustancias esenciales para la formación de protrombina y cuando menos otras cinco proteínas de coagulación, que incluyen los factores VII, IX y X, y las proteínas C y S. Los compuestos que contienen quinona representan una descripción genérica para la menadiona y los derivados que exhiben esta actividad. La vitamina K ayuda a convertir las formas precursoras de estas proteínas de coagulación a las formas funcionales. Esta transformación ocurre en el hígado. La vitamina K dietética se absorbe sobre todo en el íleon terminal y, posiblemente, en el colon. La vitamina K se sintetiza por bacterias intestinales. Esta síntesis proporciona 50% del requerimiento de vitamina K. Las fuentes dietéticas principales son la col, la coliflor, la espinaca y otros vegetales frondosos, la carne de cerdo, el hígado, las semillas de soya y los aceites vegetales. A la deficiencia de la vitamina K en una dieta sencilla se le considera rara en niños y adultos saludables.

La deficiencia de la vitamina K se origina por terapia con antibióticos, que se debe a la disminución en la síntesis de la vitamina por bacterias intestinales. Cuando se utilizan los antagonistas de la vitamina K, como la warfina sódica para la terapia anticoagulante, los factores anticoagulantes II, VII, IX y X se sintetizan pero no son funcionales.

Una deficiencia evidente de vitamina K quizá conduzca a un episodio hemorrágico o se produce cuando se utilizan anticoagulantes, como la warfina sódica.¹⁴⁻¹⁵

La determinación del tiempo de protrombina (velocidad de coagulación después de la adición de tromboplastina y calcio al plasma citratado) constituye un estupendo índice de pertinencia de la protrombina. El tiempo de protrombina se prolonga en presencia de deficiencia de vitamina K y de enfermedades hepáticas caracterizadas por reducción de la síntesis de protrombina. La deficiencia de la vitamina K ocasiona, también, prolongación del tiempo parcial de tromboplastina, pero el tiempo de trombina se encuentra dentro del intervalo de referencia.

Por lo general, en adultos no se observa toxicidad de vitamina K. En lactantes, las dosis grandes tal vez ocasionen hiperbilirrubinemia. El RDR de vitamina K en adultos es de 80 µg/día para hombres y de 65 µg/día para mujeres.¹⁶ En la mayor parte de los laboratorios, no se analiza la vitamina K. Sin embargo, el tiempo de protrombina se utiliza como indicador funcional del estado de vitamina K.¹² El tiempo normal de protrombina es de 11 a 15 segundos, lo que varía de acuerdo con el método. Con la deficiencia de vitamina K, el tiempo de protrombina se prolonga. Varios suplementos herbolarios (p. ej., ajo, ginkgo y ginseng) refuerzan los efectos de la warfina sódica o interactúan con las plaquetas, lo que aumenta el riesgo de hemorragia.

Vitaminas solubles en agua

Tiamina

La tiamina (vitamina B_1) actúa como coenzima en las reacciones de descarboxilación en las vías principales de los carbohidratos y en el metabolismo de aminoácidos de cadena ramificada. Se absorbe con rapidez de los alimentos en el intestino delgado y se excreta por la orina. La afección clínica relacionada con la deficiencia de la tiamina es el *beriberi*. Aunque por lo general se localiza en países subdesarrollados del mundo, el beriberi se presenta en Estados Unidos entre personas con alcoholismo crónico. Al parecer la ingesta reducida, la absorción deficiente y el incremento de los requerimientos participan en el desarrollo de deficiencia de la tiamina en personas con alcoholismo. En adultos, el RDR de tiamina es de 1.5 mg/día para hombres y de 1.1 mg/día para mujeres.¹⁷ La actividad funcional de la tiamina se mide de mejor manera a través de la actividad de la eritrocito transcetolasa (ETC), antes y después de la adición de pirofosfato de tiamina (PFT). Se produce deficiencia de tiamina cuando el incremento en la actividad después de la adición de PFT es mayor de 25%.

Riboflavina

La riboflavina (vitamina B_2) funciona de manera primordial como componente de dos coenzimas: mononucleótido de flavina y adenina dinucleótido de flavina (ADF). Estas dos coenzimas catalizan varias reacciones de oxidación-reducción. La riboflavina dietética se absorbe en el intestino delgado. Los depósitos corporales de una persona con nutrición correcta son adecuados para prevenir deficiencia de riboflavina durante cinco meses. El exceso de riboflavina se secreta por la orina y no tiene toxicidad conocida.

Entre los alimentos altos en riboflavina se encuentran la leche, el hígado, los huevos, la carne y los vegetales frondosos. La deficiencia de riboflavina se presenta con otras deficiencias nutricionales, alcoholismo y diarrea crónica y absorción deficiente. Ciertos fármacos antagonizan la acción o el metabolismo de la riboflavina, que incluyen la fenotiazina, los anticonceptivos orales y los antidepresivos tricíclicos.¹⁸ En adultos, el RDR de riboflavina es de 1.7 mg/día para hombres y de 1.3 mg/día para mujeres.¹⁸ La reducción de la actividad de la glutatión reductasa mayor de 40% indica deficiencia.

Piridoxina

La piridoxina (vitamina B₆) es ubicua. Consta de tres compuestos relacionados: piridoxina, que se localiza sobre todo en plantas; y piridoxal y piridoxamina, que están presentes en productos de origen animal. Las principales fuentes dietéticas de vitamina B₆ son la carne, el pollo, el pescado, las papas y los vegetales. Los productos lácteos y los granos contribuyen en menor cantidad. La vitamina B₆ se absorbe con rapidez del tracto intestinal y se excreta por la orina en forma de metabolitos.¹⁹ Rara vez ocurre deficiencia de vitamina B₆ de manera aislada; se observa más a menudo en pacientes con deficiencia de varias vitaminas B. Los pacientes con mayor riesgo de deficiencia son aquellos que padecen uremia, enfermedad hepática, síndromes de absorción, malignidades o alcoholismo crónico. La ingesta elevada de proteínas aumenta los requerimientos de vitamina B₆. La deficiencia está relacionada con hiperhomocisteína. La vitamina B₆ tiene baja toxicidad debido a su naturaleza hidrosoluble. Sin embargo, las dosis extremadamente elevadas quizá produzcan neuropatía periférica. En adultos, el RDR de vitamina B₆ es de 2.0 mg/día para hombres y de 1.6 mg/día para mujeres.¹⁹

Niacina

El requerimiento de niacina en seres humanos se cubre, hasta cierto grado, por la conversión de triptófano dietético a niacina. La niacina es el término genérico tanto para el ácido nicotínico como para la nicotinamida. La niacina funciona como componente de las dos coenzimas (NAD y NADP), que son necesarias para muchos procesos metabólicos, como la respiración tisular, el metabolismo de lípidos, el metabolismo de ácidos grasos y la glucólisis. La reducción de la coenzima produce dihidronicotinamida (NADH o NADPH), que posee una fuerte absorción a 340 nm, una característica utilizada de manera amplia en análisis de las enzimas dependientes del nucleótido de piridina.

La niacina se absorbe en el intestino delgado, en tanto el exceso se excreta en forma de metabolitos por la orina.²⁰ La *pelagra*, el síndrome clínico ocasionado por deficiencia de niacina, está relacionado con diarrea, demencia, dermatitis y muerte. La deficiencia de niacina llega a originarse por alcoholismo. Para disminuir las concentraciones de lípidos, se administran de manera terapéutica dosis farmacológicas de ácido nicotínico. La toxicidad de la niacina es baja. Sin embargo, cuando se ingieren dosis elevadas, como ocurre a menudo en terapias que disminuyen lípidos, tal vez aparezcan enrojecimiento de la piel y vasodilatación. En adultos, el RDR es de 19 mg/día para hombres y de 15 mg/día para

mujeres.²⁰ Los valores sanguíneos y urinarios son útiles en la evaluación del estado nutricional de niacina.

Folato

El folato es el término genérico para los componentes con características nutricionales y químicas similares al ácido fólico. En el aspecto metabólico, el folato funciona como coenzimas implicadas en varias reacciones de transferencia de un carbón. El folato y la vitamina B₁₂ se relacionan de manera estrecha desde el punto de vista metabólico. Los cambios hematológicos que se originan por la deficiencia de cualquier vitamina son indistinguibles. El folato de la dieta se absorbe en el yeyuno, y el exceso se secreta por la orina y las heces. Además, se sintetizan cantidades grandes de folato por bacterias en el colon. Los compuestos con actividad metabólica a los que por lo general se les conoce como *folatos* son análogos estructurales del ácido pteroilglutámico (ácido fólico). Los folatos alimenticios se encuentran sobre todo en vegetales frondosos y verdes, frutas, carnes orgánicas y levadura. Los alimentos hervidos y el uso de grandes cantidades de agua ocasionan la destrucción del folato. En Estados Unidos, la dieta promedio tal vez sea inadecuada en folato para adolescentes y mujeres embarazadas o en lactancia.²¹

El síntoma clínico principal de deficiencia de folato es la anemia megaloblástica. Los índices químicos de la deficiencia son, en orden de ocurrencia, folato sérico bajo, hipersegmentación de neutrófilos, ácido formiminoglutámico (FIGLU) (un metabolito de histidina que se acumula ante la ausencia de folato) urinario elevado, folato eritrocítico bajo, macroovalocitosis, médula megaloblástica y anemia. Las concentraciones de folato sérico, aunque constituyen un índice temprano de deficiencia, con frecuencia son bajas a pesar de depósitos tisulares normales. Debido a que la mayor parte del almacenamiento de folato ocurre después de la fase dependiente de la vitamina B₁₂, es posible que el folato del eritrocito también disminuya en presencia de deficiencia de vitamina B₁₂ o de folato. A pesar de esta coincidencia, se acepta la concentración del folato del eritrocito como el mejor índice de laboratorio de deficiencia de folato.²² La mayoría de los médicos solicitan medición de concentraciones de folato tanto en suero como en eritrocitos porque los valores séricos indican depósitos más aproximados a las concentraciones circulantes de folato y eritrocito. En la deficiencia de folato ocurre elevación de la homocisteína en suero y orina.²² Por lo general, se mide la homocisteína total, que constituye la suma de todas las especies de homocisteína, tanto las formas libres como las unidas con proteínas.²³

El requerimiento de folato aumenta durante el embarazo y, en especial, durante la lactancia. En esta última, el incremento se debe, en parte, por la presencia de enlaces de folato de alta afinidad en la leche. Los suplementos dietéticos de folato en mujeres embarazadas reducen la incidencia de defectos del tubo neural fetal. Otros casos de aumento del requerimiento de folato incluyen anemia hemolítica, deficiencia de hierro, nacimiento prematuro y mieloma múltiple. Los pacientes que reciben tratamiento de diálisis pierden folato con rapidez. Entre las afecciones clínicas^{22,24}

relacionadas con deficiencia de folato se encuentran anemia megaloblástica, alcoholismo, síndrome de malabsorción, carcinoma, enfermedad hepática, hemodiálisis crónica, y anemia hemolítica y sideroblástica. Ciertos anticonvulsivos y otros fármacos que interfieren con el metabolismo del folato son la sulfasalazina, isoniazida y cicloserina. La deficiencia de folato de origen dietético suele ocurrir en personas mayores. La terapia con fenitoína acelera la excreción de folato e interfiere con la absorción y el metabolismo del mismo. El alcohol interfiere con la circulación enterohepática del folato, y el metotrexato, un agente quimioterapéutico, inhibe la enzima dihidrofolato reductasa. Se observan concentraciones bajas de folato sérico con el uso de anticonceptivos orales.

No existen casos conocidos de toxicidad del folato. En adultos, el RDR es de 200 µg/día para hombres y de 180 µg/día para mujeres. Los rangos de referencia son los siguientes:

Suero: 3 a 16 ng/ml

Eritrocito: 130 a 630 ng/ml

Reservas deficientes: menos de 140 ng/ml

Es posible medir los valores de folato en suero a través de un examen microbiológico en el que se emplea *Lactobacillus casei*, o un análisis de unión con proteína competitiva para determinar las concentraciones en suero y en eritrocito. Cuando se desarrolla deficiencia de folato, en primer lugar disminuyen los valores séricos, seguido por reducción del folato de eritrocito y, al final, manifestación hematológica.²⁴ La medición de los niveles séricos y de eritrocito es útil porque los valores en suero indican reservas más aproximadas de las concentraciones circulantes de folato y eritrocito.^{22,24}

El suero contiene proteínas de unión endógena que llegan a unirse al folato y producir mediciones bajas falsas de la concentración de folato sérico. Aunque la medición de la concentración de folato en glóbulos rojos tiene ventajas sobre el análisis en suero para el diagnóstico de anemia megaloblástica, es probable que se originen problemas analíticos a partir de las distintas formas de folato en eritrocitos. El folato en suero está presente casi exclusivamente en forma de monoglutamato. Sin embargo, en los glóbulos rojos, se encuentra en forma de poliglutamato y como complejos de peso molecular elevado.²⁴

Vitamina B₁₂

La vitamina B₁₂ (cobalamina) se refiere a un grupo grande de compuestos que contienen cobalto. La absorción intestinal de vitamina B₁₂ tiene lugar en el íleon, y está mediada por una proteína de unión única denominada *factor intrínseco*, que se secreta por el estómago. La vitamina B₁₂ participa como coenzima en las reacciones enzimáticas necesarias para la hematopoyesis y el metabolismo de ácidos grasos. El exceso de vitamina B₁₂ se secreta en la orina. La vitamina B₁₂ comprende un anillo de corrina (que contiene pirroles similares a la porfirina) unido a un átomo de cobalto central. Los diferentes compuestos corrinoides, o cobalaminas, se distinguen por el sustituyente ligado al cobalto. Las formas activas del cofactor de la vitamina B₁₂ son la metilcobalamina y la desoxiadenosilcobalamina. Las fuentes dietéticas de vitamina B₁₂ se

obtienen de productos de origen animal (p. ej., carne, huevos y leche) y algunos vegetales. Por tanto, es probable que las dietas vegetarianas totales originen deficiencias de vitamina B₁₂. La vitamina B₁₂ proveniente de los animales se produce por síntesis intestinal microbiana. La dieta diaria promedio contiene 3 a 30 µg de vitamina B₁₂, de la que se absorben 1 a 5 µg. La frecuencia de la deficiencia dietética se incrementa con la edad, con una ocurrencia de más de 0.5% en personas mayores de 60 años de edad,²⁴ aunque los síntomas originados por deficiencia en la dieta son raros.

La mayor parte de la absorción de vitamina B₁₂ se realiza a través de un complejo con el factor intrínseco, una proteína secretada por las células parietales gástricas. Este complejo factor intrínseco B₁₂ se une con receptores ileales específicos. Los anticuerpos "bloqueadores" del factor intrínseco previenen la unión de la vitamina B₁₂ con el factor intrínseco, en tanto los anticuerpos de "unión" se combinan con el factor intrínseco libre o con el complejo factor intrínseco-B₁₂, lo que evita la adhesión del complejo a los receptores ileales y la captación intestinal de la vitamina. Además, se ha identificado a los anticuerpos celulares parietales como causa de anemia perniciosa. Después de la liberación a partir del complejo del factor intrínseco dentro de la célula mucosa, la vitamina B₁₂ circula en el plasma unida a proteínas de transporte específicas, y se deposita en el hígado, la médula ósea y otros tejidos. Existe circulación enterohepática importante de vitamina B₁₂. El plasma contiene ambos tipos de proteínas de transporte, transcobalaminas y las tres formas de vitamina B₁₂ (hidroxicobalamina, metilcobalamina y desoxiadenosilcobalamina).

En la prueba de Schilling, el paciente recibe una dosis oral pequeña de vitamina B₁₂ radiomarcada. La B₁₂ parenteral se administra de manera simultánea para saturar sitios de unión. El suero y la orina se recolectan a intervalos, y se mide la B₁₂ marcada en las muestras. Los pacientes que no absorben la vitamina B₁₂ (que por lo general constituye una deficiencia del factor intrínseco, como en la anemia perniciosa) no lo hacen tampoco con la B₁₂ marcada, por lo que presentan concentraciones bajas en sangre y orina.

En la actualidad, el término *anemia perniciosa* se aplica más a menudo a la deficiencia de vitamina B₁₂ debida a la ausencia del factor intrínseco. Los anticuerpos para el factor intrínseco y las células parietales son frecuentes en pacientes con anemia perniciosa, sus parientes sanos y pacientes con otros trastornos autoinmunitarios. En ocasiones aparece deficiencia de B₁₂ en vegetarianos estrictos como resultado de la deficiencia dietética. Además, ocurre pérdida de B₁₂ en individuos infectados con tenia de pescado o a causa de enfermedades de absorción deficiente, como esprue o enfermedad celiaca. Se observan concentraciones bajas de vitamina B₁₂ en presencia de deficiencia de folato, y es posible enmascarar dicha deficiencia a través de dosis grandes de folato. No hay informes de toxicidad de la vitamina B₁₂. El RDR de vitamina B₁₂ en adultos es de 2 µg/día. Los métodos de análisis de la B₁₂ consisten en examen microbiológico con el uso de radioinmunoanálisis de unión con proteína competitiva con *Lactobacillus leichmanii* o un inmunoanálisis enzimático.

La deficiencia de la vitamina B₁₂ causa dos trastornos principales: anemia megaloblástica (anemia perniciosa)

ESTUDIO DE CASO 31-2

Una mujer de 65 años de edad ingresa al hospital con leve insuficiencia cardíaca congestiva. En la clínica familiar, informó entumecimiento, hormigueo en las pantorrillas y los pies y pérdida de peso. En el examen físico se detecta que se trata de una mujer con desorientación ligera, depresión y palidez. Su presión sanguínea es de 110/70 mmHg. Se observa ictericia esclerótica leve. Existe picadura de 1+ y edema del tobillo. La evaluación neurológica demuestra pérdida de la sensación vibratoria en ambas piernas con reflejos exagerados en el tobillo y la rodilla. En el cuadro 31-2.1 de estudio de caso se muestran los resultados de laboratorio iniciales.

Preguntas

- ¿Cuál de las siguientes es una forma con actividad biológica de cobalamina en plasma?
 - Cianocobalamina.
 - Hidrocobalamina.
 - Desoxiadenosilcobalamina.
 - Acuocobalamina.
 - Transcobalamina.
- ¿Dónde se produce el factor intrínseco en el cuerpo?
 - Estómago.
 - Esófago.
 - Intestino delgado.
 - Intestino grueso.
- ¿Cuál es la proteína de unión para la vitamina B₁₂?
 - Proteína de unión con retinol.
 - Factor extrínseco.
 - Corticotropina.
 - Transcobalamina II.
- Enumere sustancias alimenticias que contienen vitamina B₁₂.
- Enumere sustancias alimenticias que contienen folato.

CUADRO 31-2.1 DE ESTUDIO DE CASO.
RESULTADOS DE LABORATORIO

PRUEBA	RESULTADO	RANGO DE REFERENCIA
Hemoglobina	9.3 g/dl	12 a 16 g/dl
Hematócrito	28%	38 a 47%
MCH	35 pg	27 a 31 pg
MCV	108 fl	80 a 96 fl
MCHC	32.4 g/dl	32 a 36 g/dl
Na	141 meq/L	136 a 145 meq/L
K	4.2 meq/L	3.5 a 5.3 meq/L
Cl	102 meq/L	96 a 106 meq/L
CO ₂	26 mg/dl	22 a 33 mg/dl
Ca	9.7 mg/dl	8.4 a 10.3 mg/dl
Glucosa	100 mg/dl	70 a 110 mg/dl
NUS	14 mg/dl	10 a 20 mg/dl
Creatina	1.0 mg/dl	0.4 a 1.4 mg/dl
B ₁₂ sérica	130 pg/ml	180 a 900 pg/ml
Folato sérico	6 ng/ml	5 a 12 ng/ml
Folato RBC	105 ng/ml	200 a 700 ng/ml

y una afección neurológica denominada *trastorno de sistemas combinados*.²⁴ Las manifestaciones neurológicas son variables y quizá sutiles. Por esta razón, se debe considerar la deficiencia de vitamina B₁₂ como causa de cualquier anemia macrocítica o afección neurológica inexplicada, en especial en personas de edad avanzada. Es posible utilizar la vitamina B₁₂ sérica en la valoración inicial.²⁴ Los valores de ácido metilmalónico tal vez sean más definitivos debido a que el límite inferior de referencia es incierto. Por lo general, los pacientes con anemia perniciosa padecen gastritis atrófica y muestran aumento en la incidencia de carcinoma gástrico. El rango de referencia para la vitamina B₁₂ es de 110 a 800 pg/ml.^{24,25} Los métodos más frecuentes para la determinación de la vitamina B₁₂ son los radioinmunoanálisis de unión con proteína competitiva, que se basan en el principio de que la vitamina B₁₂ liberada de las proteínas de unión endógena se pueden medir por su competencia con B₁₂ comarcada para una cantidad limitada de proteína de unión específica. Las proteínas de unión que suelen utilizarse son factores intrínsecos de animales. Se deben obte-

ner mediciones especiales para eliminar la interferencia causada por otros ligadores proteínicos no específicos de la vitamina B₁₂. Existen varios análisis no radioisotópicos de vitamina B₁₂ para uso rutinario en el laboratorio.

Biotina

La biotina es una coenzima para varias enzimas que transportan unidades de carboxilo en tejido, y desempeña una función integral en la gluconeogénesis, lipogénesis y síntesis de ácidos grasos. La biotina dietética se absorbe en el intestino delgado, pero también se sintetiza en el intestino por bacterias. Varios alimentos contienen biotina, aunque ninguno es demasiado abundante en ella (hasta 20 µg/100 g). La ingesta dietética, baja en el período neonatal, aumenta a medida que los recién nacidos pasan del calostro a la leche madura de pecho. La deficiencia de biotina se produce por ingestión de cantidades grandes de avidina, encontrada en las claras de huevo crudo, que se unen a la biotina. Se observa deficiencia de biotina en pacientes que reciben nutrición parenteral a largo plazo, y en lactantes con defec-

tos genéticos de las enzimas carboxilasa y biotinidasa. El RDR de la biotina no está establecido; sin embargo, se recomienda un rango provisional de 30 a 100 µg/día.²⁶ En el entorno clínico, rara vez se miden los valores de biotina.²⁶

Ácido pantoténico

Al factor de crecimiento que está presente en todos los tipos de tejido vegetal y animal se le denominó primero *vitamina B₃* y después *ácido pantoténico* (término procedente del griego, que significa *de todas partes*). Entre las fuentes dietéticas se encuentran hígado y otras carnes orgánicas, leche, huevos, cacahuates, legumbres, hongos, salmón y granos enteros. Alrededor de 50% del pantotenato alimenticio está disponible para la absorción. El pantotenato se convierte por medios metabólicos a 4'-fosfopanteteína, que se une de manera covalente a la proteína transportadora de acilo sérico o a la coenzima A. Esta última es una coenzima de transferencia muy importante del grupo acilo implicada en muchas reacciones de varios tipos de éstas. Al pantotenato de sangre completa menor de 1 000 mg/L y la excreción urinaria inferior a 10 mg/día se les considera indicativos de deficiencia.

Ácido ascórbico

Es la vitamina a la que se le suele analizar de manera más amplia. El ácido ascórbico (vitamina C) es un potente compuesto reductor que se adquiere por ingestión dietética. Las fuentes dietéticas principales constan de frutas (en especial cítricas) y vegetales (p. ej., tomates, pimientos verdes, col, vegetales frondosos y papas). El ácido ascórbico es importante en la formación y estabilización del colágeno por hidroxilación de prolina y lisina por enlace cruzado, y en la conversión de tirosina a catecolaminas (por dopamina β-hidrolasa). Aumenta la absorción de ciertos minerales, como el hierro, se absorbe en la parte superior del intestino delgado y se distribuye a lo largo de los compartimentos solubles en agua del cuerpo.²⁷ El estado de deficiencia, al que se le conoce como *escorbuto*, se caracteriza por trastornos hemorrágicos, que incluye inflamación, sangrado de encías, alteración en la curación de heridas y anemia.^{27,28}

Aunque la orina es la ruta principal de excreción, no se recomienda la medición del ascorbato urinario para la valoración del estado. Entre los fármacos conocidos para incrementar la excreción urinaria del ascorbato se encuentran la aspirina, la aminopirina, los barbituratos, la hidantoína y el paraldehído. Los requerimientos de ácido ascórbico aumentan aún más en situaciones de lesión de estrés agudo y estados de inflamación crónica, pero también lo hacen con el embarazo y el uso de anticonceptivos orales. La ingesta excesiva llega a interferir con el metabolismo de la vitamina B₁₂ y las acciones de fármacos (p. ej., ácido aminosalicílico, antidepresivos tricíclicos y anticoagulantes).^{27,28}

El análisis empleado con mayor frecuencia para el ácido ascórbico es el método 2,4-dinitrofenilhidrazina. En este procedimiento, el ácido ascórbico primero se oxida en ácido dehidroascórbico y ácido 2,3-dicetogulónico con la formación de un producto coloreado que se absorbe a 520 nm. Este método mide el contenido total de vitamina C de la muestra debido a que también se cuantifican el ácido ascórbico, el ácido dehidroascórbico y el ácido dice-

togulónico, y está sujeto a interferencia de aminoácidos y tiosulfatos. La HPLC proporciona mayor sensibilidad y especificidad. El rango de referencia para el ácido ascórbico es de 0.4 a 0.6 mg/dL.²⁸

Carnitina

La carnitina, que incluye L-carnitina y sus ésteres de ácido graso (acilcarnitina), se describe como un nutriente condicionalmente esencial.²⁹ La carne, el pollo, el pescado y los productos lácteos constituyen las principales fuentes dietéticas. Por lo general, los alimentos de origen vegetal contienen poca carnitina, excepto la mantequilla de cacahuete y los espárragos.²⁹ Las dietas normales proporcionan más de la mitad del requerimiento en seres humanos, pero las dietas vegetarianas estrictas abastecen sólo 10% de la carnitina total necesaria.²⁹ La síntesis ocurre en el hígado, cerebro y riñón. La L-carnitina facilita la entrada de ácidos grasos de cadena larga en la mitocondria por oxidación y producción de energía.²⁹ Los principales signos de deficiencia de carnitina son debilidad muscular y fatiga. La carnitina total se mide después de que la hidrólisis del éster produce carnitina libre. La deficiencia humana es hereditaria o adquirida: por ingesta inadecuada, aumento del requerimiento (embarazo y lactancia) o incremento de la pérdida urinaria (terapia con ácido valproico). Los lactantes y pacientes que siguen un período de nutrición parenteral a largo plazo y aquellos con hemodiálisis son más vulnerables a la deficiencia.²⁹

Requerimiento dietético recomendado (RDR)

El RDR se creó para su uso en Estados Unidos, y representa el nivel de ingesta de nutrientes esenciales suficientes para satisfacer las necesidades nutricionales de prácticamente todos los individuos saludables de la población en general, con base en el conocimiento científico disponible.⁶ Al RDR no se le considera adecuado en lactantes prematuros; para cubrir las necesidades terapéuticas especiales de personas con infecciones, trastornos metabólicos o enfermedades crónicas; o para quienes emplean ciertas preparaciones farmacéuticas, como anticonceptivos orales.⁶

Al RDR no se le interpreta como requerimientos de nutrientes para los individuos. Sin embargo, es posible utilizarlo en la evaluación de la ingesta dietética individual. Puesto que tiene como objetivo cumplir con las necesidades nutritivas de casi cualquier persona, se entenderá que el RDR tal vez exceda las necesidades de algunas personas. Por tanto, aunque la dieta de un individuo no cubra los requerimientos recomendados, no se asumirá que la persona padece desnutrición o que tiene una dieta deficiente a menos que exista evidencia de anormalidades bioquímicas o clínicas.

Metabolismo vitamínico

Aunque todas las personas son un poco semejantes con respecto a los requerimientos de nutrientes, existen varios factores que afectan los requerimientos nutricionales y vitamínicos, entre los que se incluyen diferencias genéticas, factores adquiridos (p. ej., embarazo, enfermedad, estados hipermetabólicos) y otros (p. ej., cirugía, fármacos, alcohol).

La causa primaria de desnutrición latente es la ingesta alimenticia inadecuada. Se tomarán en cuenta, también,

CUADRO 31-2. ACCIONES DE FÁRMACOS Y ANTICONCEPTIVOS ORALES EN LAS VITAMINAS

Fármaco o nutriente

Piridoxina: antagonizada por isoniazida, esteroides, penicilamina

Riboflavina: antagonizada por fenotiazinas, algunos antibióticos

Folato: antagonizado por fenitoína, alcohol, metotrexato, trimetoprim

Ascorbato: antagonizado por (incremento en la excreción) aspirina, barbituratos, hidantoínas

Exceso de ascorbato: interfiere con las acciones de ácido aminosalicílico, antidepresivos tricíclicos, anticoagulantes; tal vez cause "escorbuto de rebote" y síndrome de abstinencia

Los agentes anticonceptivos orales causan

Aumento de vitamina A sérica, PUR

Disminución de los requerimientos de las vitaminas K y C

Disminución de los índices del estado de vitamina B₆

Reducción del uso de riboflavina

Incremento en la ruta del triptófano de niacina

Disminución de la inducción de la deficiencia de tiamina

Reducción del folato sérico (dependiente del ciclo-día)

Disminución de la inducción de la deficiencia de folato cervical

las causas secundarias, como los problemas relacionados con las necesidades nutritivas, que incluyen absorción deficiente, uso ineficiente, daño en el transporte, aumento de los requerimientos y excreción excesiva de nutrientes.

Además, los fármacos y anticonceptivos orales tienen impacto en el metabolismo de las vitaminas. En el cuadro 31-2 se resumen las acciones de los anticonceptivos orales y de los fármacos en el metabolismo de las vitaminas.

Dietas especiales

La calidad de proteína en los alimentos de origen vegetal, sobre todo los granos de cereal, suele ser menor que en aquellas proteínas de origen animal. Cuando la mezcla de proteínas de origen vegetal se realiza de manera juiciosa, las combinaciones de alimentos proteínicos de inferior calidad quizá proporcionen mezclas de casi el mismo valor nutricional que los alimentos de proteína animal de alta calidad.^{7,8} Por lo general, la ingesta de vitamina B₁₂ es baja en la mayor parte de las dietas vegetarianas.

ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES

Los ácidos grasos (AG) se clasifican de acuerdo con dos características:

- Longitud de cadena (p. ej., cadena corta, media o larga).
- Número de enlaces dobles (p. ej., saturados, monoinsaturados o poliinsaturados).

Los ácidos grasos esenciales que se describen a continuación son los ácidos grasos poliinsaturados y sus derivados. Los AG poliinsaturados pertenecen a las familias omega-6 ($\omega 6$) y omega-3 ($\omega 3$).^{30,31} Los AG omega-3 son antiinflamatorios y está demostrado que son benéficos en fórmulas enterales especiales para regular el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS). Los AG omega-6 son proinflamatorios. Actúan a través de las rutas del eicosanoides; los AG $\omega 3$ afectan la adhesividad de las plaquetas.^{32,33} Los AG omega-3 forman prostaglandinas y leucotrienos (en particular, PG₃ y LT₅), que son conocidos por reducir la inflamación e inmunosupresión, en tanto los ácidos grasos $\omega 6$ producen PG₂ y LT₄, que inducen inflamación e inmunosupresión. Es posible que los AG poliinsaturados sean atacados por radicales libres y oxidados en peróxidos lipídicos. En la actualidad, se encuentra bajo investigación la función de los AG en la progresión de la aterosclerosis y la esteatosis no alcohólica, con un vínculo potencial con la diabetes tipo 2 a través de la FNT- α . El complemento de $\omega 3$ / $\omega 6$ en todo el cuerpo se refleja en la fluidez membranosa.³³

La medición de ácidos grasos esenciales se realiza a través de cromatografía de gases-espectrometría de masa (CG-EM). Debido a las enormes mejoras en la tecnología, la proporción trieno:tetreno normal se redujo de 0.4 a 0.02.

En el cuadro 31-3 se muestra la composición de los ácidos grasos esenciales de las células plasmáticas y rojas. La proporción trieno:tetraeno baja mide una deficiencia relativa de AG $\omega 3$. En la enfermedad de Crohn, ocurre deficiencia absoluta de AG, pero se observa insuficiencia relativa con una ingesta desequilibrada de carbohidratos y de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), $\omega 3$ en particular.

CUADRO 31-3. VALORES DE REFERENCIA MEDIOS PARA LOS PORCENTAJES DE ÁCIDOS GRASOS CLAVE EN PLASMA Y GLÓBULOS ROJOS (GR)^a

ÁCIDO GRASO	PLASMA	GR
16:1 $\omega 7$	<2.1	<0.4
18:2 $\omega 6$	30 a 40	8 a 12
18:3 $\omega 3$	0.3 a 1.5	0.5
DFA ₆	8 a 14	7 a 25
DFA ₃	>3	>5
20:3 $\omega 9$ /20:4 $\omega 6$	<0.02	<0.01
SFA	<30	<35 a 40
MUFA	<28	<14 a 20
$\omega 6$	40 a 55	30 a 35
$\omega 3$	2 a 4	5 a 8
AGPI	45 a 55	45 a 55

Reimpreso con autorización de Siguel E, Deficiencies and abnormalities of essential fats in gastrointestinal and coronary artery disease, J Clin Ligand Assay, 2000;23(12):104-111.

^aLos valores de referencia no están bien establecidos; dependen de los métodos usados y de la población de referencia. Los valores son aproximados para ilustrar las diferencias entre el plasma y los GR.

ESTUDIO DE CASO 31-3

A un hombre de 27 años de edad se le diagnosticó un tumor carcinoide en la parte inferior del intestino delgado. El tumor fue eliminado, con la extirpación de una porción de la sección inferior del intestino delgado. Su período de recuperación resultó un poco complicado por la pérdida de peso. Varios meses después de la cirugía, se le practicó una laparotomía, en la que se demostró que el tumor carcinoide no se eliminó por completo; se extirpó otra parte del intestino delgado debido a las adhesiones obstructivas. El hombre se recuperó de la segunda cirugía y se interrumpió la alimentación con sonda. Regresó a la clínica 18 meses después de la primera cirugía un poco pálido y manifestando problemas para mantener el peso. En la evaluación de laboratorio se reveló anemia macrocítica hipocrómica leve y funciones renal y hepática normales. La muestra de heces fue negativa para ova, parásitos y patógenos entéricos. Se le reingresó para someterlo a reemplazo electrolítico y de líquido intravenoso.

Preguntas

1. ¿Cuál es la evidencia bioquímica existente para la malabsorción de grasas?
2. ¿Qué parámetros nutricionales se verían afectados por la malabsorción de grasas?
3. Identifique las vitaminas solubles en grasa.
4. ¿Qué trastorno se origina por la deficiencia de la vitamina B₁₂?

La insuficiencia de AG omega-3 se relaciona con un incremento en la adhesividad plaquetaria y estado hipercoagulable.³³ Estos pacientes están en riesgo particular de derrame cerebral y enfermedad coronaria. Los AG omega 3 se complementan con pescado (p. ej., atún, salmón, bacalao) y aceite de pescado, aceite de semilla de lino y semilla de lino, cacahuates y tofu.

RIESGO DE DESNUTRICIÓN

La desnutrición es un estado de uso o ingesta inadecuado involuntario de calorías, proteínas o grasa esenciales, o micronutrientes (vitaminas y oligoelementos), que ocasiona riesgo de alteración la función fisiológica relacionada con aumento de la morbilidad y mortalidad.³⁴⁻⁴⁰ Los pacientes con desnutrición crónica de calorías padecen pérdida de tejido adiposo y muscular como resultado de aumento de la actividad lipolítica y gluconeogénica, respectivamente.⁴¹ Sin embargo, estos pacientes no demuestran deficiencia proteica, lo que se comprueba por las concentraciones normales de proteínas séricas de transporte. A este estado de desnutrición se le conoce como *marasmo*. Además, la desnutrición aguda de proteínas-calorías aguda está relacionada de manera estrecha con

CUADRO 31-3.1 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

PRUEBA	RESULTADO	RANGO DE REFERENCIA
Albúmina	3.4 g/dl	3.5 a 5 g/dl
Prealbúmina	15 mg/dl	18 a 40 mg/dl
Sodio	139 mmol/L	136 a 145 mmol/L
Potasio	3.7 mmol/L	3.5 a 5 mmol/L
Cloruro	101 mmol/L	99 a 109 mmol/L
Bicarbonato	23 mmol/L	22 a 28 mmol/L
Calcio	8.6 mg/dl	8.5 a 10.5 mg/dl
Magnesio	1.7 mg/dl	1.5 a 2.5 mg/dl
Fosfato	3 mg/dl	2.8 a 4 mg/dl
Tiempo de protrombina	17 seg	
Ferritina	22 ng/ml	20 a 250 ng/ml
Vitamina A	207 µg/L	300 a 800 mg/L
Vitamina D	6 ng/ml	30 a 53 ng/ml
Vitamina E	2 mg/L	5 a 18 mg/L
Vitamina C	0.4 mg/dl	0.4 a 0.6 mg/dl
Vitamina B ₁₂	100 pg/ml	110 a 800 pg/ml
Grasa fecal (72 h)	30 g/día	<6 g/día

pérdida muscular grave (proteólisis)⁴² debido a una respuesta obligatoria controlada por la citocina a la que se le denomina *dicotomía adaptativa nutricional dependiente (DAND)*,^{42,42} con pérdida importante de nitrógeno a causa de la proteólisis. Los pacientes que son obesos y catabólicos y a los que no se les consideraría desnutridos se encuentran en riesgo elevado de complicaciones relacionadas con desnutrición: en particular, curación de heridas dañadas. Este estado también es marásmico. El *kwashiorkor*, un estado relacionado con la desnutrición crónica y enfermedad hepática o con estrés fisiológico, ocasiona alteración de la síntesis proteica y reducción de las proteínas séricas de transporte.

Personas en riesgo de desnutrición

La desnutrición afecta a más de 1 300 millones de personas en el mundo, con una cifra de entre 10 y 20 millones de individuos en Estados Unidos. En este país, la prevalencia de desnutrición importante entre pacientes alimentados en casa, personas de edad avanzada y pacientes hospitalizados por causas médicas o quirúrgicas ya no es desafiante. En el cuadro 31-4 se muestran los grupos que están en riesgo de desnutrición.

Se ha documentado en varias ocasiones durante 30 años que 30 a 50% de los pacientes hospitalizados llega a padecer desnutrición.^{35,37,38} Esto ocurre en el ámbito hospitalario cuando la ingesta nutricional oral es inadecuada o imposible debido a los procedimientos del tratamiento o a complicaciones después de la cirugía. Es posible que ocurra desnutrición crónica antes de la hospitalización como resultado de un proceso de enfermedad crónica o trastorno médico que conduce a elecciones deficientes de alimentación, agotamiento de proteína o baja ingesta de proteína. Entre las enfermedades crónicas que producen desnutrición crónica se encuentran malignidad; enfermedad gastrointestinal, que incluye síndrome de malabsorción; enfermedades infecciosas, como síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y tuberculosis; alcoholismo; y enfermedad renal en fase terminal y enfermedad hepática. Además, es posible que el paciente hospitalizado padezca disminución reciente de la ingesta de alimentos secundaria a enfermedad, quimioterapia, o depresión, o ingesta reducida debido a náusea. El estado hipermetabólico relacionado con traumatismo importante, quemaduras, cirugía, insuficiencia orgánica múltiple, insuficiencia renal aguda, septicemia y síndrome de respuesta inflamatoria sistémica constituye la causa más importante de la desnutrición aguda a partir de incremento en el gasto energético.⁴⁶

Un paciente enfermo de manera grave con hipermetabolismo (como el kwashiorkor) e insuficiencia multiorgánica es diferente desde el punto de vista metabólico al paciente hipometabólico famélico (como en el marasmo), aunque a menudo no se observa una distinción clara en la presentación clínica. El paciente hipometabólico con des-

nutrición a largo plazo y pérdida primaria de grasa corporal usa ácidos grasos cetogénicos, no carbohidratos, como combustible principal. Estos individuos tienden a ser delgados, con aspecto decaído, y cuentan con pocas reservas de tejido adiposo. En el paciente famélico hipometabólico, tal vez no sea recomendable la alimentación agresiva, en especial con carbohidratos. En estos pacientes, con la capacidad del cuerpo para adaptarse a la inanición crónica mediante la reducción del *índice metabólico basal* (IMB), el rendimiento cardíaco, la temperatura y la actividad física, la provisión intensiva del sustrato energético quizá induzca síndrome de realimentación.⁴³ En el síndrome de realimentación, la alteración de líquidos y electrolitos que ponen en peligro la vida ocurre después del comienzo de las terapias de apoyo nutricional agresivas. El síndrome de realimentación llega a inducir hipofosfatemia e hipopotasemia a medida que estos electrolitos se mueven con la glucosa hacia fuera de la circulación en el tejido. Sin embargo, el paciente hipermetabólico necesita energía y proteína, lo que requiere apoyo nutricional agresivo para reducir al máximo el *catabolismo* y las pérdidas de proteína, y apoyar la respuesta inmunitaria.⁴⁷ Cuando la desnutrición no se detecta ni se trata en los pacientes durante su estancia en el hospital, existe incremento de la morbilidad y mortalidad.³⁶ Éste es el caso sobre todo en pacientes con daño grave y enfermedad hepática e inanición crónica previas; en estos pacientes se observa curación deficiente de heridas e incremento en los índices de infección,³⁶ con períodos extensos de estancia hospitalaria y tasas de mortalidad más elevadas. De estos pacientes identificados como desnutridos, muy pocos reciben apoyo nutricional oportuno. La identificación temprana de los pacientes desnutridos y el establecimiento de la intervención nutricional se ha vuelto una cualidad del problema de la atención.⁴⁸

CUADRO 31-4. GRUPOS EN RIESGO DE DESNUTRICIÓN

Personas deprimidas o con enfermedad mental que no comen
Personas de edad avanzada, en especial aquellas que se encuentran en centros de asistencia
Personas de estado socioeconómico bajo
Población con pérdida de líquidos y nutrientes debido a diarrea prolongada, fístula drenante o heridas
Personas que sufrieron derrame cerebral
Pacientes en estado posoperatorio y aquellos con íleo con períodos prolongados sin ingesta oral
Pacientes con trastornos hipermetabólicos: traumatismo en la cabeza, traumatismo múltiple, quemaduras mayores, insuficiencia orgánica y sepsis
Pacientes con cáncer del tracto gastrointestinal o caquexia
Pacientes con pérdida de peso no intencional que sobrepasa el 10% en seis meses
Pacientes con enfermedad crónica; diálisis de largo plazo
Pacientes con pancreatitis

Respuesta inflamatoria sistémica y la dicotomía adaptativa nutricional dependiente^{42,43}

El daño de cualquier causa mediada por citocinas, principalmente las interleucinas 1 y 6 (IL-1, IL-6) y el factor α de la necrosis tumoral (FNT- α), desencadena un efecto en cascada que conlleva tres pasos sucesivos:⁴² a) la fase de descenso o hemodinámica, caracterizada por fiebre, anorexia, taquicardia y cambios circulatorios en las primeras 12 h; b) la fase de flujo, que ocurre durante varios días y se relaciona con procesos catabólicos con pérdida masiva de nitrógeno urinario; y c) la fase anabólica, que sucede como punto de partida de las actividades de reparación, y que coincide con disminución de la pérdida y retención de nitrógeno.⁴⁴

Hipermetabolismo por estrés

Al incremento en el metabolismo relacionado con daño por estrés se le denomina *estado hipermetabólico*.^{2-4,42,43}

El estado catabólico relacionado con traumatismo y sepsis es un fenómeno metabólico controlado por la citocina al que debe diferenciarse de la pérdida que ocurre con la inanición. Está controlado por la interleucina 1 (IL-1), la interleucina 6 (IL-6) y el factor α de necrosis tumoral (FNT- α). La liberación de estos mediadores es proporcio-

nal a la dimensión del daño. La liberación de citocinas está vinculada a la sobreregulación hormonal y a fenómenos humorales. Entre los fenómenos hormonales se incluyen la liberación de glucagon y catecolaminas, hormona tiroides, hormona del crecimiento y cortisol y sus efectos: hiperglucemia, índice metabólico, liberación de ácidos grasos libres y cetosis relacionada, factor 1 de crecimiento semejante a la insulina (FCI-1) y equilibrio negativo de nitrógeno a partir de la gluconeogénesis. El aumento de la tasa metabólica, proporcional a la gravedad del trastorno, ocasiona proteólisis masiva, con conversión de proteína corporal magra a aminoácidos para los precursores gluconeogénicos. Esto se relaciona con hiperglucemia, resistencia a la insulina, movilización de triglicéridos y cetosis. El marasmo es la pérdida gradual de tejido adiposo (grasa) únicamente relacionada con inanición. La pérdida aguda de tejido muscular en daño por estrés es marásmica. El kwashiorkor, identificado por pérdida visceral de proteínas, también se observa en presencia de daño por estrés. Esta fase dura de tres a 10 días, pero tal vez se extienda. La fase de flujo anabólico surge a medida que el metabolismo cambia a actividades sintéticas y procesos reparadores.

El primer fenómeno hormonal en las primeras 24 h es la acción de las catecolaminas y el glucagon en la conversión de glucógeno hepático a glucosa, lo que eleva el valor de glucosa en plasma. La hormona tiroidea (T_4) tiene un efecto en los órganos “blanco” a través de la tiroxina libre (T_4L). El efecto catabólico de la hormona del crecimiento en el metabolismo de los lípidos es recíproco a un efecto anabólico y se disocia de éste a través de FCI-1. Una respuesta secretoria de cortisol suprarrenal se opone a la acción de la insulina y promueve una respuesta diabeto-génica. La hipercortisolemia da como resultado proteólisis muscular. Los aminoácidos, en especial aminoácidos de cadena ramificada del músculo esquelético, proporcionan precursores gluconeogénicos a través de la alanina. Estas hormonas, liberadas mediante la respuesta por estrés, controlan los procesos metabólicos necesarios para el uso de combustibles de carbohidratos y ácidos grasos, y son necesarias para apoyar la reparación de tejido dañado. Entre los fenómenos humorales se incluyen cambios e interacciones entre las proteínas séricas en la respuesta inflamatoria. Los efectos sistémicos de fiebre, taquicardia, aumento del gasto energético y debilidad y pérdida muscular se relacionan con elevaciones de los reactivos de fase aguda (RFA) (p. ej., proteína C-reactiva, FNT- α y α_1 -ácido glucoproteína) y cambios hormonales.

Dicotomía adaptativa nutricional dependiente

La respuesta por estrés suprime de inmediato la actividad sintética del hígado, que tiene una sola función sintética con las rutas dominadas por NADP. El colesterol sérico disminuye, al igual que lo hace la producción de proteínas de transporte esenciales, como albúmina, transferrina, globulina de unión con cortisol (GUC), globulina de unión con tiroxina (GUT), transtiretina o prealbúmina de unión con tiroxina (TTR), factor 1 de crecimiento insulínico (FCI-1). Aunque las proteínas de transporte declinan de manera abrupta hasta en un 40%, la síntesis de RFA no se altera. La función en esencia adaptadora y de control la

ejercen a través de la unión a ligandos activos y los efectos sobre éstos. Ingenbleek hace referencia a la relación entre las proteínas de unión y sus ligandos respectivos, bajo la influencia de citocinas, como la dicotomía adaptativa nutricional dependiente (DAND).⁴² En el cuadro 31-5 se ilustra la DAND. Se debe tomar en cuenta, también, que esta relación de adaptación en presencia de daño por estrés se ve afectada por la desnutrición proteica anterior al estado dañado. ¿Por qué? Porque el nivel basal de las proteínas de unión es bajo y la respuesta de adaptación disminuye.

El efecto metabólico del daño por estrés en la fase catabólica aumenta el flujo de sustratos combustibles para procesos que emplean energía por su efecto sobre el hígado. La disminución de GUC, GUT, TTR y PUR incrementa el efecto hipermetabólico. En la hipótesis de la hormona libre se establece que el efecto hormonal sobre el tejido “blanco” es resultado de la hormona libre. La glándula suprarrenal libera el cortisol elevado, lo que tiene un efecto amplificado con su unión a una concentración plasmática más baja de GUC. El hígado representa el depósito para la T_4 extratiroidea. Ésta se libera con disminución de la GUT y TTR circulantes,⁴² lo que ocasiona aumento de la actividad tiroidea medida por incremento de la T_4 libre (T_4L). A esto se le conoce como síndrome del enfermo eutiroideo. La TSH no se ve afectada o disminuye de manera leve, pero no en el rango hipertiroides. La vitamina A se almacena en el hígado, y se transporta en la circulación en un complejo con TTR y PUR. La vitamina A y PUR son dependientes del valor de TTR.

La captación energética al nacimiento es de alrededor de 120 kcal/kg por día tanto para hombres como para mujeres. Durante los dos primeros años de vida, existe un descenso gradual a 90-100 kcal/kg por día. De los 2 a 14 años de edad, los requerimientos energéticos disminuyen de manera gradual a alrededor de 40 kcal/kg por día, donde los hombres requieren 5 kcal/kg por día más que las mujeres.

Subregulación del tejido sano

Estos fenómenos metabólicos, que son proporcionales a la dimensión del daño, se caracterizan por la liberación, inducida por citocina, de glucagon, catecolaminas y cortisol, lo que da como resultado hiperglucemia plasmática, aumento de la tasa catabólica, liberación de ácidos grasos

CUADRO 31-5. ALTERACIONES RECÍPROCAS DE LAS CONCENTRACIONES EN PLASMA DE LAS PROTEÍNAS VISCERALES Y SUS LIGANDOS TRANSPORTADOS EN EL DAND^a

PROTEÍNA DE UNIÓN		CAMBIO HORMONAL	
Albúmina	▽		
GUT	▽	T_4 libre	△
GUC	▽	Cortisol libre	△
Transtiretina	▽	T_4 libre	△
RBF	▽	Retinol libre	△
FCI-1-BP3	▽	FCI-1 libre	△

^aEste patrón de adaptación disminuye en caso de desnutrición preexistente.

y cetonas, y equilibrio de nitrógeno negativo. Los efectos sistémicos de fiebre, taquicardia, incremento del gasto energético y debilidad y pérdida musculares se relacionan con la elevación de los RFA. La FNT- α e hipercortisolemia controlan la pérdida de masa muscular, lo que explica la debilidad y gasto muscular que se relacionan con estrés grave. Las hormonas contrarreguladoras anulan la acción de la insulina, reforzadas por resistencia a la insulina tisular. La función tiroidea se altera de manera concomitante cuando disminuye la conversión de T_4 a T_3 , y la producción de T_3 declina a valores mínimos compatibles con eutiroidismo. La resistencia a la insulina se combina con el síndrome de T_3 baja para crear el entorno de pérdida

muscular con aumento del gasto de energía relacionada con esta respuesta sistémica.

Sobrerregulación de los territorios inflamados

El hígado es central a esos cambios de adaptación, una característica relevante que implica la repriorización mediada por IL-6 de la síntesis. Aunque la producción de RFA mejora en gran medida por la provisión de aminoácidos derivados de la degradación muscular, la mayor parte de las proteínas viscerales (albúmina, transferrina, TTR, PUR, GUT, GUC y proteínas de unión con el factor-1 de crecimiento semejante a la insulina [sobre todo, FCI-BP3]) se suprimen. El declive en la concentración

ESTUDIO DE CASO 31-4

Una mujer posmenopáusica de 66 años de edad informa debilidad grave y disnea durante los últimos seis meses en que ha practicado ejercicio. Notó que su apetito se redujo, con pérdida de peso resultante. Su historia médica revela la existencia de úlceras. Al ingresar al hospital, presentaba presión sanguínea y pulso normales. La piel, la conjuntiva y las membranas mucosas estaban empalidecidas. En la auscultación, se observaron pulmones limpios. Se encontró un soplo cardíaco sistólico grado 3/6, que se escuchó mejor en el borde esternal izquierdo inferior, y se extendía hacia las carótidas y axila. El examen con guayaco de heces fue 2+. Las bases de las uñas estaban pálidas, sin edema del pie. En el cuadro 31-4.1 de estudio de caso se muestran los datos de laboratorio al ingreso.

Preguntas

- Es probable que la anemia de esta paciente se explique de mejor manera por:
 - Hábitos dietéticos.
 - Pérdida sanguínea crónica.
 - Hemólisis intravascular crónica.
 - Enfermedad inflamatoria crónica.
- Las manifestaciones clínicas de su anemia pudieran incluir todas las siguientes, EXCEPTO:
 - Glositis.
 - Pica.
 - Uña de cuchara (coiloniquia).
 - Neuropatía periférica.
- Los depósitos de hierro de la médula ósea son:
 - Reducidos.
 - Normales.
 - Ausentes.
 - Aumentados pero presentes sólo en las células reticuloendoteliales.
- Si el tratamiento correcto de esta anemia es con sulfato ferroso oral, el tratamiento debe:
 - Detenerse en cuanto el hematócrito retorne a la normalidad.
 - Continuarse de manera indefinida, incluso si se ha corregido la causa de la deficiencia.

- Continuarse durante tres a seis meses después de que el hematócrito regrese a la normalidad para reemplazar los depósitos de hierro corporales.
- Continuarse sólo hasta que exista una respuesta rápida en el índice del reticulocito y en el hematócrito.

CUADRO 31-4.1 DE ESTUDIO DEL CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

PRUEBA	RESULTADOS	RANGO DE REFERENCIA
CBC		
Hct	15%	36 a 48%
Hb	3.8 g/dl	12 a 16 g/dl
RBC	$2.79 \times 10^6/\text{ml}$	$3.6 \text{ a } 5.0 \times 10^6/\text{ml}$
MCV	53.8 fl	82 a 98 fl
MCHC	25.3 d/dl	31 a 37 g/dl
WBC	$8.2 \times 10^3/\text{ml}$	$4.0 \text{ a } 11.0 \times 10^3/\text{ml}$
Neutrófilos	80%	40 a 80%
Linfa	20%	15 a 40%
Cuenta de reticulocitos	5.5%	0.5 a 1.5%
Índice de reticulocito	0.8%	>3
Química		
NUS	15 mg/dl	7 a 18 mg/dl
Glucosa	150 mg/dl	En ayunas, 70 a 100 mg/dl Sin ayunar, 70 a 150 mg/dl
Electrólitos	Normal	
Bilirrubina	1.0 mg/dl	0.2 a 1 mg/dl
Directa	0.4 mg/dl	0 a 0.2 mg/dl
T_3 y T_4	Normal	
Fe sérico	15 $\mu\text{g}\%$	30 a 150 $\mu\text{g}/\text{dl}$
TIBC	439 $\mu\text{g}\%$	241 a 421 $\mu\text{g}\%$

de estas proteínas transportadoras, con la disociación del complejo ligando-proteína, incrementa la disponibilidad de ligandos libres al sitio objetivo, de modo que todos los procesos dependientes de tiroxina, cortisol y retinol se amplifican durante una fase del flujo hipermetabólico transitorio. Además, la GUT y GUC se degradan en el sitio de inflamación, lo que permite la liberación de su ligando. Otros mediadores implicados en la respuesta inmunitaria y reparación tisular y líneas celulares que contribuyen a la reconstrucción del tejido son estimulados en este estado reactivo,⁴⁶ y la división de BP3 libera fracciones bastante aumentadas de FCI-1 en forma libre. Por tanto, Los procesos anabólicos son estimulados de manera importante en el tejido inflamado. Los requerimientos energéticos del tejido afectado se cubren por glucólisis anaeróbica (RQ ~ 1). El sitio de la lesión es apoyado por la degradación de la proteína de cuerpo completo para apoyar la respuesta inmunitaria.

EVALUACIÓN NUTRICIONAL

La valoración nutricional, la evaluación de las necesidades metabólicas y nutricionales del paciente, se realiza a través de medios clínicos, de laboratorio y otros. La evaluación clínica constituye la base de la valoración global subjetiva (VGS), en la que se toma en cuenta la ingesta nutricional anterior, el proceso de la enfermedad, la magnitud de la enfermedad catabólica y el estado funcional.⁴⁹ Sin embargo, la VGS depende de la pericia, y no está demostrado que sea confiable para su uso amplio en la identificación del paciente desnutrido hospitalizado.

Debido a que se comprobó que la pérdida de peso preoperatoria de más de 20% está relacionada con 33% de mortalidad, en tanto se observó una tasa de mortalidad de 4% en personas con pérdida de peso menor de 20%, la estimación de la pérdida de peso es un indicador clave en la valoración nutricional de los pacientes quirúrgicos.⁵⁰ El cambio de peso reciente representa un índice de desnutrición que se utiliza con frecuencia. La pérdida de más de 10% en cualquier período se toma como evidencia de desnutrición, además de que se propuso una correlación útil entre la magnitud de la pérdida de peso y el tiempo en que se desarrolla,⁵¹ como se ilustra en el cuadro 31-6. La pérdida de peso de más de 4.5 kg diez días antes de una cirugía constituye un importante factor de predicción de mortalidad quirúrgica.⁵²

CUADRO 31-6. EVALUACIÓN DEL CAMBIO DE PESO^a

TIEMPO	PÉRDIDA DE PESO SIGNIFICATIVA (%)	PÉRDIDA DE PESO GRAVE (%)
1 semana	1 a 2	>2
1 mes	5	>5
3 meses	7.5	>7.5
6 meses	10	>10

^aLos valores usados son porcentaje de cambio de peso (%P): %P = (peso habitual = peso real)/(peso habitual) × 100.

Programa de prevención del riesgo de desnutrición

Es posible identificar de manera sistemática la desnutrición hospitalaria. Dicha identificación debe vincularse con la implantación de un plan estructurado y oportuno de cuidado nutricional. Esta implantación rinde beneficios de costo definitivos. Brugler⁵³ y Mears⁵⁴ demostraron sistemas hospitalarios viables para la valoración de la nutrición que pudieran tomarse en cuenta como modelos para otros hospitales. El resultado final para un proyecto integrado es un sistema rentable para el hospital y la adaptabilidad a otros hospitales.

Con estos sistemas, se demuestra que:

- 1. El examen y la valoración tempranos de los pacientes en riesgo de desarrollar complicaciones relacionadas con la nutrición identifican de manera eficaz a pacientes que padecen desnutrición de energía proteica (DEP).
- 2. La identificación de estos pacientes, combinada con la intervención temprana, reduce las complicaciones relacionadas con la nutrición y la prolongación de estancia (PDE) cuando menos por un día.
- 3. La notificación tiene un efecto positivo en la realización de la provisión oportuna de apoyo nutricional.
- 4. Los costos de asignación de los recursos necesarios son, en el peor de los casos, pequeños en comparación con los costos de no implantar dicho sistema.
- 5. Es posible establecer un sistema que mejorará la comunicación entre médicos y otros proveedores de cuidado de la salud.

Índice creatinina/altura

La creatina, presente casi por completo dentro del músculo (como fosfato creatina), se convierte en creatinina a una velocidad relativamente constante. La cantidad de creatinina urinaria excretada tal vez indique la masa muscular total.⁵⁵ A esta medida inexacta de masa corporal magra se le reemplazó por diseños de estudio a través de la medición de la excreción urinaria de 3-metilhistidina, un aminoácido específico para la proteólisis del músculo esquelético.

Pruebas inmunológicas

Las pruebas inmunológicas representan un método insensible para identificar los efectos de la desnutrición en estados de enfermedad. Una recuento linfocítico absoluto por debajo de 300/mm³ refleja deficiencia inmunitaria que pone en peligro la vida⁵² y está relacionado con respuesta negativa a un antígeno inyectado. En pacientes quirúrgicos estudiados, aquellos que fueron anérgicos y no mostraron ninguna respuesta cutánea a antígenos inyectados antes de la cirugía tuvieron una incidencia de sepsis de 29% y una tasa de mortalidad de 29.9%, en comparación con 7.5% y 4.6%, respectivamente, para aquellos clasificados como normales desde el punto de vista inmunológico.⁵⁶⁻⁶⁰

Composición corporal

En la figura 31-1 se muestra la composición de un hombre adulto con nutrición adecuada (75 kg) en términos bioquímicos y celulares.⁶¹

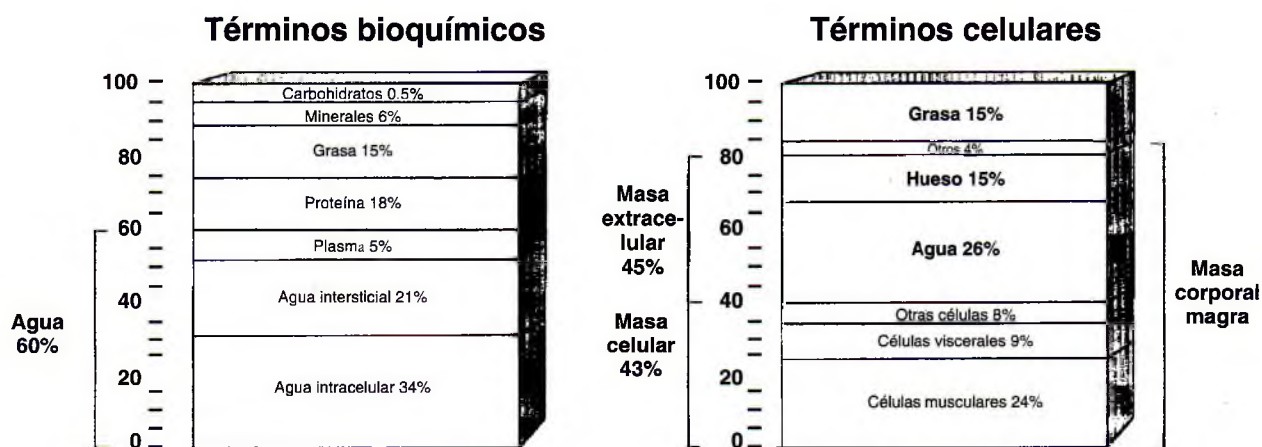


FIGURA 31-1. Términos bioquímicos y celulares usados para describir masa corporal y la contribución porcentual a la masa total en un hombre de 75 kg con buena nutrición.

La masa corporal descrita en términos celulares se divide en dos componentes: masa corporal magra (tejido desprovisto de toda la grasa) y grasa corporal. La masa corporal magra comprende el tejido metabólicamente activo, al que se le conoce como *masa celular corporal*, y la *masa extracelular* sin actividad metabólica. La masa celular corporal representa todo el consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono.⁶¹ La función primaria de la masa extracelular es el transporte intracelular y apoyo estructural. Los pacientes hospitalizados desnutridos tienen una masa corporal 40.5% menor que los no hospitalizados sanos del mismo grupo de edad. La obesidad, grasa corporal expandida en gran medida, debe relacionarse con disminución de la masa corporal magra. Ésta declina con la edad, y es mayor en hombres que en mujeres, además de que se encuentra bastante reducida en pacientes obesos con sarcopenia.

Pruebas funcionales

La función muscular es susceptible a los efectos del retiro de nutrientes y realimentación. Uno de los métodos de la evaluación de la función muscular es la dinamometría de presión manual.⁶² En este método, la fuerza de la presión tiene una sensibilidad de 90% en la predicción de complicaciones posoperatorias. En la dinamometría de presión manual se usa la técnica de estimulación eléctrica del nervio cubital de la muñeca. El índice de relajación del músculo abductor largo del pulgar estimulado por vía eléctrica mide el estado de nutrientes en estados crónicos y en la

anorexia, así como durante el retiro de nutrientes y realimentación en el período posoperatorio.

Marcadores proteínicos en la evaluación nutricional

El objetivo principal de la evaluación nutricional es identificar al paciente que está desnutrido y luego, mediante terapia nutricional, conservar o reabastecer los componentes proteínicos del cuerpo. La evaluación nutricional de laboratorio se realiza de mejor manera por el monitoreo de proteínas séricas seleccionadas. Las proteínas ideales tienen una vida media biológica breve y reflejan los cambios en los estados proteicos a través de la medición de los cambios de concentración en el suero. La concentración de los marcadores proteicos de desnutrición se ve afectada por la desnutrición proteica relacionada con enfermedad renal y hepática en fase terminal e infección grave y, sobre todo, por daño por estrés. Debido a que el efecto de la respuesta inflamatoria se relaciona de manera estrecha con el declive de las proteínas de transporte esenciales, tal vez una separación del estado inflamatorio por desnutrición proteica resulte problemática, excepto por el uso de RFA, como la proteína C-reactiva. Se pretende que el índice nutricional inflamatorio de pronóstico (INIP), en el que se utiliza la proporción del producto CRP-orosomucoide (α_1 -ácido glucoproteína) con el producto albúmina-transtiretina, resuelva este problema.⁶³ En el cuadro 31-7 se ofrece información detallada sobre estos marcadores proteínicos.

CUADRO 31-7. CARACTERÍSTICAS DE LAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS DE INTERÉS NUTRICIONAL

PROTEÍNA	PESO MOLECULAR (KD)	VIDA MEDIA	RANGO DE REFERENCIA
Albúmina	65,000	20 días	33 a 48 g/L
Fibronectina	250,000	15 h	220 a 400 mg/L
Prealbúmina (transtiretina)	54,980	48 h	160 a 350 mg/L
Proteína de unión con retinol	21,000	12 h	30 a 60 mg/L
Factor-1 de crecimiento insulínico	7,650	2 h	0.10 a 0.40 mg/L
Transferrina	76,000	9 días	1.6 a 3.6 g/L

Albúmina

La albúmina se ha usado mucho tiempo en la evaluación de pacientes hospitalizados. La concentración de albúmina en el cuerpo está influida por su síntesis, su degradación y su distribución. Las concentraciones bajas de albúmina sérica tal vez reflejen producción hepática baja o pérdida de la transferencia de albúmina entre el compartimiento extravascular y el vascular. La extensa vida media biológica de la albúmina (20 días) permite cambios en la concentración sérica sólo después de periodos prolongados de desnutrición. A los niveles de albúmina bajos se les identifica como factor de predicción de mortalidad en pacientes atendidos en instalaciones de cuidado a largo plazo. Los pacientes hospitalizados con valores séricos bajos de albúmina experimentan un aumento de cuatro veces en la morbilidad y de seis veces en la mortalidad.^{64,65}

La albúmina sérica no es buen indicador de proteínas de corto plazo y privación energética; sin embargo, los valores de albúmina son buenos indicadores de deficiencia crónica. De manera tradicional, a la albúmina se le ha utilizado para ayudar a determinar dos importantes estados nutricionales. En primer lugar, ayuda a identificar deficiencia crónica de proteína bajo condiciones adecuadas de ingesta calórica no proteica, lo que conduce a hipoalbuminemia marcada. Es posible que ésta se deba a la pérdida neta de albúmina de depósitos intravasculares y extravasculares, lo que causa kwashiorkor. En segundo lugar, las concentraciones de albúmina quizá ayuden a definir el marasmo. Debido a que éste se origina por insuficiencia calórica sin insuficiencia proteica, el valor de albúmina sérica permanece normal pero existe importante pérdida de peso corporal.

En estudios se clasifican varios niveles de desnutrición a través del uso de concentraciones de albúmina. A las concentraciones ≥ 35 g/L se les considera normales. Las de 28-30 a 35 g/L indican desnutrición leve; las de 23-25 a 28-30 g/L, desnutrición moderada; y las menores de 23-25 g/L, reducción grave de la concentración de albúmina. La albúmina sérica es un marcador preciso del estrés catabólico de infección. Un nivel ≤ 32 g/L indica que si un paciente está en el hospital hasta por 10 días, existe un 75% de probabilidad de que desarrolle úlceras en decúbito. Es posible utilizar los valores de albúmina sérica de menos de 25 g/L como medida precisa de la predicción de pronóstico de supervivencia en el 90% de los pacientes con enfermedad crítica.

Transferrina

La transferrina es una glucoproteína con vida media biológica de nueve días (menor que la de la albúmina). Se sintetiza en el hígado y se une al hierro férrico y lo transporta. La síntesis de transferrina está regulada por las reservas de hierro. Cuando el hierro en el hepatocito está ausente o es bajo, las concentraciones de transferrina se elevan en proporción con la deficiencia. Se trata de un indicador temprano de deficiencia de hierro, y la transferrina elevada es el último analito que regresa a la normalidad cuando se corrige la deficiencia de hierro.

La vida media de la transferrina es la mitad que la de la albúmina, además de que su depósito corporal es menor; por tanto, es más probable que la transferrina indique disminución de hierro antes de los cambios en la concentración

de albúmina sérica. Sin embargo, la utilidad de la transferrina en el diagnóstico de desnutrición subclínica, moderada o marginal es cuestionable, debido a que se informa un amplio rango de valores en varios estudios. Es posible que las concentraciones de transferrina desciendan por factores diferentes a la deficiencia de proteínas o energética, como síndrome nefrótico, trastornos hepáticos y enfermedad neoplásica.

En entornos hospitalarios y de enfermería, se han utilizado los valores de transferrina como índices de morbilidad y mortalidad.⁶⁶ Por tanto, la información muestra que las concentraciones de transferrina sérica no son lo bastante sensibles para detectar un cambio en el estado nutricional que ocurre después de dos semanas de nutrición parenteral total.⁶⁷ Además de responder a las concentraciones de hierro en suero, la transferrina sólo es sensible a algunos antibióticos y fungicidas.

Transtiretina

En ocasiones, a la transtiretina se le denomina *prealbúmina* debido a que emigra adelante de la albúmina en la electroforesis habitual de las proteínas plasmáticas y séricas. En situaciones normales, cada subunidad de transtiretina contiene un sitio de unión para PUR. A la transtiretina y PUR se les considera las mejores proteínas de transporte para la tiroxina y vitamina A, respectivamente.

Debido a su vida media breve y reserva corporal pequeña, las transtiretina constituye un indicador más apropiado del estado proteico visceral y del equilibrio positivo de nitrógeno que la albúmina y la transferrina.⁶⁷ La transtiretina es un indicador superior para el monitoreo de los efectos a largo plazo de la terapia nutricional. En el cuadro 31-8 se muestran las características de un marcador proteico ideal de riesgo de desnutrición. La concentración del complejo de transtiretina y PUR, que disminuye en gran medida en caso de desnutrición de proteínas-energía,⁶⁸ regresa a valores normales después del reemplazo nutricional. La transtiretina tiene una baja concentración de reserva en suero, una vida media de dos días y respuesta rápida a la baja ingesta de energía, aun cuando el consumo de proteína es inadecuado durante sólo cuatro días.⁶⁹ Las concentraciones de transtiretina sérica disminuyen en el periodo posoperatorio entre 50 y 90 mg/L durante la primera semana, con capacidad para duplicarse en una semana o cuando menos aumentar de 40 a 50 mg/L en respuesta al apoyo nutricional adecuado. Si la respuesta de transtiretina se incrementa menos de 20 mg/L en una semana como medida del resultado, esto indica apoyo nutritivo inadecuado o respuesta inadecuada.^{67,70}

CUADRO 31-8. CARACTERÍSTICAS DE UN MARCADOR IDEAL

Identifica disminución importante desde el punto de vista clínico
Refleja la gravedad del déficit
Indica el estado actual y el cambio en el estado
Es sensible al descenso
Es sensible a la mejoría
Tiene interferencia mínima

Cuando la transtiretina disminuye a concentraciones menores de 80 mg/L, se desarrolla desnutrición de proteínas-calorías grave; sin embargo, el apoyo nutricional tal vez cause un incremento diario en la transtiretina de hasta 10 mg/L.⁶⁷ Al parecer estas concentraciones no están influenciadas de manera significativa por las fluctuaciones en el estado de hidratación. Aunque pareciera que la enfermedad hepática en fase terminal afecta todos los valores proteicos en el cuerpo, la enfermedad hepática no altera la transtiretina tan pronto o en la misma magnitud que otros marcadores proteínicos séricos, en particular PUR. Sin bien los valores de transtiretina pudieran estar elevados en pacientes con enfermedad renal, si se observa tendencia en dirección de cambio, es probable que los cambios reflejen alteración en el estado nutricional y el equilibrio de nitrógeno. Los esteroides llegan a causar un ligero aumento de la transtiretina, pero aún es posible seguir la tendencia nutricional debido a que la transtiretina responde tanto a la sobrealimentación como a la subalimentación.

La transtiretina se utiliza, también, como indicador de la pertinencia de un plan de alimentación nutricional,⁶⁷ ya que los cambios en la proteína plasmática se correlacionan con el equilibrio de nitrógeno. Las concentraciones de transtiretina aumentan en pacientes con equilibrio de nitrógeno positivo y disminuyen en aquellos con equilibrio negativo. Cuando el valor de transtiretina es ≥ 180 mg/L, esto se vincula con un equilibrio de nitrógeno positivo e indica un retorno al estado nutricional adecuado. Está demostrado tanto en la población pediátrica como en la neonatal que se trata de un marcador bastante preciso y relativamente económico del estado nutricional.^{71,72} Además, se encontró que constituye el indicador más sensible y útil cuando se observa el estado nutricional de pacientes muy enfermos.⁷³

En resumen, la transtiretina demuestra de manera efectiva una respuesta anabólica a la alimentación, y es un buen marcador para la síntesis proteica visceral en pacientes que reciben apoyo metabólico o nutricional.⁷³⁻⁷⁵

Proteína de unión con retinol

A la PUR se le ha utilizado en el monitoreo de cambios a corto plazo en el estado nutricional.⁷⁶⁻⁷⁸ Su utilidad como marcador metabólico se basa en su vida media biológica de 12 horas y pequeño tamaño de reserva corporal. Como cadena de polipéptido sencilla, la PUR interactúa de manera importante con la transtiretina plasmática y circula en plasma como complejo transtiretina-PUR 1:1 mol/L.⁷⁹ Sin embargo, existe un problema potencial en el uso de la PUR como marcador nutricional. Aunque tiene una vida media más breve que la transtiretina (12 h, en comparación con 2 días), se excreta por la orina, y su concentración se eleva en mayor medida que la transtiretina en pacientes con insuficiencia renal. En contraste con la PUR, la concentración de transtiretina sólo aumenta en forma moderada en la insuficiencia renal crónica avanzada.

Factor 1 de crecimiento insulínico

El factor 1 de crecimiento insulínico (FCI-1) (al que antes se le denominaba somatomedina C) es importante para la estimulación del crecimiento. El tamaño y la estructura moleculares del FCI-1 es similar a la proinsulina.⁸⁰ Las concentraciones séricas de FCI-1 están reguladas por la hormona del creci-

miento y la ingesta nutricional. La hormona del crecimiento estimula al hígado para que produzca FCI, que circula unido al FCI-BP3. El FCI-BP3 modula el efecto biológico del FCI-1 en la respuesta por estrés, lo que ocasiona aumentos y descenso en la actividad biológica. Al FCI-1 se le ha utilizado como marcador nutricional en adultos y niños.⁸¹⁻⁸³

Fibronectina

La fibronectina es una glucoproteína opsónica con vida media en seres humanos de alrededor de 15 h. Esta proteína tiene bloques repetidos de una secuencia homogénea de aminoácidos y es una α_2 glucoproteína que desempeña funciones importantes en la adherencia célula a célula y diferenciación celular, curación de heridas, integridad microvascular y opsonización de materia particulada. Se le considera la principal proteína que regula la fagocitosis. Entre los sitios de síntesis se incluyen las células endoteliales, los macrófagos peritoneales, los fibroblastos y el hígado. Las concentraciones de fibronectina tal vez disminuyan después de daño fisiológico causado por choque grave, quemaduras o infección. Los valores regresan a la normalidad en la recuperación. La fibronectina resulta de interés porque no se sintetiza sólo en el hígado.⁸⁴ Además, se trata de un indicador de sepsis en pacientes con quemaduras. Está demostrado que las concentraciones de fibronectina disminuyen durante infección o estrés grave, en particular debido a su propiedad opsónica. Sin embargo, la infección o el traumatismo no disminuye de manera importante la concentración de fibronectina.⁸⁵ Ésta sólo aumenta en caso de infección grave, en la que permanece estable y no aumenta tan pronto como el FCI-1. No se utiliza de manera rutinaria como marcador nutricional.

Equilibrio de nitrógeno

Otra herramienta de la evaluación nutricional, el equilibrio de nitrógeno, constituye la diferencia entre captación y excreción de nitrógeno. Se trata de uno de los indicadores de cambio proteico más utilizados. En la población sana, los índices anabólico y catabólico están en equilibrio, en tanto el equilibrio de nitrógeno se aproxima a cero. En casos de estrés, traumatismo o quemaduras, la captación nutricional disminuye y la pérdida de nitrógeno llega a exceder la captación, lo que conduce a equilibrio de nitrógeno negativo. Durante la recuperación de la enfermedad, el equilibrio de nitrógeno debe volverse positivo con el apoyo nutricional. En seres humanos, 90 a 95% de la pérdida de nitrógeno se explica por eliminación a través de los riñones. Alrededor de 90% de esta pérdida es en forma de urea. Por tanto, la determinación de nitrógeno ureico urinario (UUN) de 24 h constituye un método para calcular la cantidad de excreción de nitrógeno. El equilibrio de nitrógeno se calcula de la siguiente manera⁸⁶:

$$\text{Equilibrio de nitrógeno} = \frac{\text{Captación proteica en 24 horas (g)}}{6.25}$$

$$\frac{\text{UUN 24 h} \times 4}{\text{Volumen total (L)}}$$

(Ec. 31-1)

La captación proteica incluye gramos de proteína que son proporcionados por aminoácidos intravenosos o por

alimentación enteral. La ingesta proteica se convierte en gramos de nitrógeno al dividir entre 6.25. El factor 4 de la ecuación representa un estimado de pérdida de nitrógeno no urinaria (p. ej., de piel, heces, cabello y uñas).⁸⁶ El equilibrio de nitrógeno, de acuerdo a como se calcula por esta ecuación, no es válido en pacientes con estrés grave o sepsis, lo que se observa en áreas de cuidado crítico o en pacientes con enfermedad renal. La determinación de la validez de esta ecuación en otras condiciones clínicas que por lo general implican pérdidas elevadas de nitrógeno tal vez sea difícil o incluso incorrecta.

Proteína C-reactiva

La proteína C-reactiva es una proteína de fase aguda que se incrementa de manera importante bajo condiciones de sepsis, inflamación e infección. La proteína C-reactiva llega a aumentar en forma drástica hasta 1 000 veces después de daño al tejido, lo que es más de dos o tres órdenes de magnitud mayor que cualquier otro reactivo de fase aguda. La concentración de proteína C-reactiva aumenta cuatro a seis horas antes que otros reactivos de la fase aguda.^{87,88}

La fase de flujo de catabolismo marcado se presenta con manifestaciones clínicas de taquicardia, fiebre, aumento de la tasa respiratoria e incremento del ritmo cardíaco. Durante este tiempo, las tasas de síntesis de la proteína C reactiva y otras proteínas de fase aguda se incrementan y la albúmina y la prealbúmina disminuyen⁸⁹ (fig. 31-2). Incluso con este aumento en las proteínas de fase aguda, por lo general ocurre equilibrio de nitrógeno negativo importante secundario al mayor catabolismo proteico.⁹⁰ Se desconoce si este estado catabólico produce desnutrición definida desde el punto de vista clínico o una entidad

separada, pero sin duda origina pérdida de peso con disminución de los valores de albúmina y prealbúmina.

Interleucinas

La investigación nutricional se ha centrado en las interleucinas, un grupo complejo de proteínas y glucoproteínas que llega a ejercer efectos pleiotrópicos sobre varias células objetivo diferentes. La mayor parte de las interleucinas se producen por macrófagos y linfocitos T, en respuesta a la estimulación antigénica o mitogénica, y afectan la función primaria del linfocito T. La mayor parte de las investigaciones nutricionales se realizaron sobre la interleucina 1 (IL-1), IL-6 y FNT- α .

Nutrición parenteral total

La *nutrición parenteral total* (NPT) es un medio de apoyo nutricional intenso muy utilizado en pacientes que se encuentran desnutridos, o en peligro de estarlo, porque son incapaces de consumir los nutrientes requeridos o recibirlos por vía enteral. La terapia con nutrición parenteral implica la administración de cantidades apropiadas de carbohidratos, aminoácidos y soluciones lipídicas, así como electrolitos, vitaminas, minerales y oligoelementos, para satisfacer los requerimientos de nutrientes, proteínas y calorías en tanto se mantiene el equilibrio electrolítico y del agua.⁹¹ Por lo general, las preparaciones nutricionales parenterales se administran a través de un catéter subclavicular. Por vía enteral, un tubo nasogástrico libera nutrientes directo en el estómago o duodeno, o los pacientes sometidos a cirugía gastrointestinal pudieran tener un catéter de alimentación gastrostómica o yeyunostómica instaura-

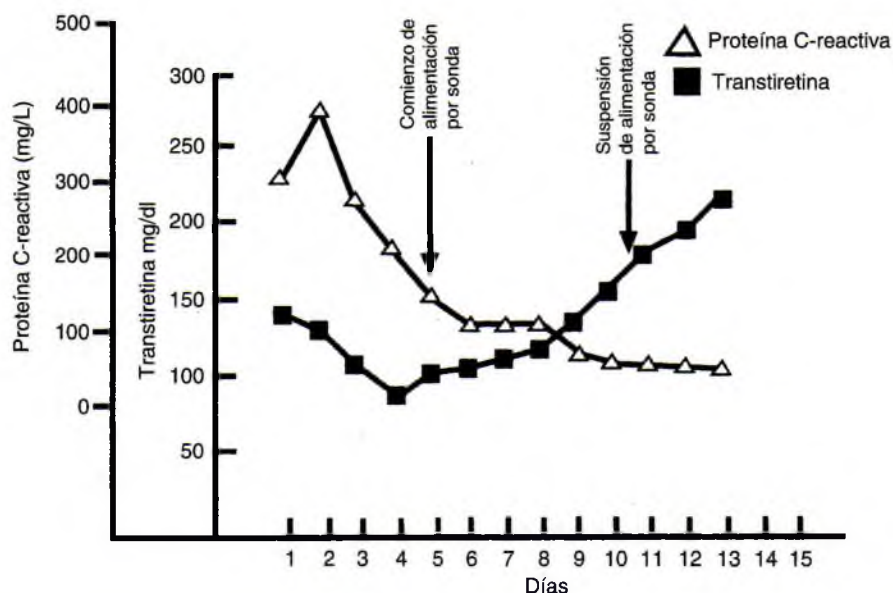


FIGURA 31-2. Se obtuvieron los valores secuenciales de proteína C-reactiva y transtiretina en un hombre de 26 años de edad que sufrió accidente automovilístico. Este patrón muestra una elevación inicial de proteína C-reactiva, que se eleva debido a la respuesta inflamatoria surgida por el accidente automovilístico. A medida que comienza a disminuir, la transtiretina, un reactivo de fase aguda inverso, desciende. A los cinco días, la respuesta de fase aguda está en la parte superior, y la transtiretina se vuelve un marcador nutricional. En este momento, comienza la alimentación por sonda porque el paciente muestra signos bioquímicos y físicos de desnutrición. La alimentación por sonda se suspende cuando la transtiretina alcanza un valor de 180 mg/dl. Esto ilustra el uso de la transtiretina en una situación de respuesta de fase aguda.

do durante el procedimiento quirúrgico. Debido a que la administración para NPT evita las rutas de absorción y circulación normales, el monitoreo cuidadoso de laboratorio de estos pacientes es crítico. El objetivo es proporcionar un estado nutricional óptimo por cualquier medio que asegure la administración de los nutrientes. Una pérdida de peso no intencional de más del 10 a 12% conduce a sospecha de enfermedad o desnutrición. Además, se toman en cuenta la estatura, la edad y el nivel de actividad del paciente.⁹²

Es importante monitorear al paciente con NPT para evitar posibles complicaciones. Dicho monitoreo de laboratorio proporciona la información necesaria requerida para la administración apropiada de la terapia de NPT.

Pruebas urinarias

En lactantes prematuros pequeños, la glucosuria durante la primera fase de la NPT constituye una señal de que la infusión de glucosa es demasiado rápida. Sin embargo, si la glucosa aparece en la orina de lactante pequeños después de que se establece la tolerancia a la glucosa, el médico debe cuestionar la presencia de enfermedad respiratoria, sepsis o cambios cardiovasculares.

Pruebas para monitorear trastornos electrolíticos

La regulación del sodio es un problema en niños durante la NPT. Los requerimientos diarios de sodio llegan a variar, lo que depende de la madurez renal y la capacidad del cuerpo del niño para regular sodio. Los factores que incrementan la cantidad de sodio necesario para mantener las concentraciones normales de sodio sérico tanto en niños como en adultos son la glucosuria, el uso de diuréticos, la diarrea u otra pérdida gastrointestinal excesiva, y el incremento de pérdidas posoperatorias de líquido.

La hiperpotasemia es un problema frecuente en niños cuando la sangre se obtiene por punción del talón. El apretado del talón tal vez cause hemólisis de células rojas, lo que ocasiona concentraciones de potasio falsamente elevadas. Aunque quizá se proporcione una nutrición adecuada para promover el *anabolismo*, pudiera desarrollarse hipopotasemia cuando se utiliza un suministro extracelular para la síntesis celular.

La función primaria del cloruro es la regulación osmótica. La acidosis metabólica por hipercloremia constituye un problema cuando se emplean soluciones cristalinas de aminoácidos, pero es posible prevenir o tratar dicha acidosis al alterar la cantidad de sal de cloruro contenida en la solución de nutrición parenteral. Al cubrir algunos de los requerimientos de sodio y potasio como sales de acetato o fosfato, quizá se reduzca la cantidad requerida de cloruro. La reformulación de soluciones sintéticas de aminoácidos por fabricantes comerciales contribuyó a evitar esta importante complicación. Si ocurre acidosis metabólica por hipercloremia, se utiliza el tratamiento con soluciones de acetato de sodio o potasio porque el acetato se metaboliza con rapidez a bicarbonato. Las sales de acetato son compatibles con todos los demás componentes comunes de nutrición parenteral y son ideales para emplearse cuando la acidosis está presente. No es posible utilizar bicarbonato de sodio en soluciones de nutrición parenteral que contienen calcio porque el carbonato de calcio se precipi-

ta con facilidad. El uso de acetato no sólo incrementa el bicarbonato sérico, sino que también disminuye la cantidad de cloruro liberado al paciente.

Pruebas con minerales para monitorear

Uno de los aspectos más importantes del monitoreo de NPT es la determinación de las deficiencias y los excesos de calcio, fosfato y magnesio. Cuando se regulan de manera inadecuada, estos minerales no sólo afectan la masa ósea, sino que también precipitan situaciones que ponen en peligro la vida. El calcio y el fosfato se relacionan de manera estrecha en la importante función de la mineralización ósea. El calcio está presente en el suero en dos formas: unido con proteínas, o no difundible, y difundible ionizado. El calcio ionizado es la forma con actividad fisiológica, y constituye sólo 25% del calcio sérico total. Independientemente del calcio sérico total, es posible que la disminución del calcio ionizado ocasione tétanos. La reducción del calcio ionizado a menudo se debe a un aumento en el pH sanguíneo (alcalosis). Es importante monitorear el calcio sérico ionizado y el pH sanguíneo, en especial en un paciente con NPT que recibe suplementos de calcio junto con ingredientes en la solución de NPT que llegan a alterar el pH sanguíneo. Aunque el desequilibrio de calcio es frecuente en recién nacidos sometidos a NPT, resulta mucho menos habitual en adolescentes y adultos. Sin embargo, se ha informado hipercalcemia con nefrolitiasis como complicación en pacientes con NPT a largo plazo.

Existe una relación recíproca entre calcio y fósforo. El fosfato intracelular es necesario para promover la síntesis proteica y otras funciones celulares. Se debe monitorear de manera cuidadosa el calcio y fosfato para mantener el equilibrio correcto entre estos dos minerales. Se informa hipofosfatemia grave en pacientes sometidos a NPT prolongada.^{93,94} El magnesio, como un aditivo de la solución de NPT, se relaciona de manera estrecha con el calcio y fósforo. Existe una relación recíproca entre magnesio y calcio y, en ciertas situaciones, entre magnesio y fósforo. Las concentraciones bajas de magnesio tal vez causen tétanos, en tanto que los niveles elevados llegan a aumentar el tiempo de conducción cardíaco auriculoventricular. En el cuadro 31-9 se muestran ciertas anormalidades electrolíticas y minerales relacionadas con la nutrición parenteral.

Oligoelementos para monitorear

Las dietas de la mayoría de los pacientes con NPT deben complementarse con suplementos para mantener niveles óptimos de varios oligoelementos. Además, estos elementos deben monitorearse para prevenir deficiencia o toxicidad. El cobre y cinc son los oligoelementos más frecuentes agregados a las soluciones de NPT. La palidez, la disminución de la pigmentación, el agrandamiento de la vena y el salpullido semejante a dermatitis seborreica representan los principales signos clínicos por deficiencia de cobre, que a veces pasa inadvertida. Algunas otras anormalidades incluyen leucopenia recurrente (recuento de glóbulos blancos, menor de $5 \times 10^9/L$) y neutropenia (neutrófilos, menores de $1.5 \times 10^9/L$).

El diagnóstico de deficiencia de cobre se confirma cuando el cobre sérico y la ceruloplasmina (la glucoproteína de

CUADRO 31-9. ANORMALIDADES ELECTROLÍTICAS Y MINERALES RELACIONADAS CON NPT

ANORMALIDAD	MANIFESTACIONES	CAUSAS HABITUALES
Hipernatremia	Edema, hipertensión, sed, hemorragia intracraneal	Ingesta de sodio inapropiada
Hiponatremia	Debilidad, hipotensión, oliguria, taquicardiaingesta	Ingesta de sodio inadecuada relativa al agua
Hiperpotasemia	Debilidad, parestesia, arritmias cardíacas	Acidosis, insuficiencia renal, ingesta excesiva de potasio
Hipopotasemia	Debilidad, alcalosis, anormalidades cardíacas	Ingesta insuficiente de potasio relacionada con anabolismo proteico
Hipercloremia	Acidosis metabólica	Ingesta excesiva de cloruro, soluciones de aminoácidos con contenido elevado de cloruro
Hipocalcemia	Tétanos, ataques, raquitismo, desmineralización ósea	Ingesta inadecuada de calcio, fósforo y/o vitamina D
Hipofosfatemia	Debilidad, dolor óseo, desmineralización ósea	Ingesta insuficiente de fósforo
Hipomagnesemia	Ataques, neuritis	Ingesta inadecuada de magnesio

unión con el cobre) son bajos. Es difícil realizar este diagnóstico en lactantes prematuros. Sin embargo, debido a sus valores de cobre sérico, permanecen deprimidos hasta cerca de las nueve semanas de edad. Las concentraciones bajas de cobre se han informado, también, en síndrome de malabsorción, enfermedades intestinales de gasto proteico, síndrome nefrítico, traumatismo grave y quemaduras.

Los pacientes con NPT quizá desarrollen deficiencia aguda de cinc.^{95,96} Al principio sufren pérdida urinaria masiva de cinc durante la fase de catabolismo. Cuando se comienza a aumentar de peso, el paciente con deficiencia en cinc quizá experimente diarrea, dermatitis peritoneal y alopecia. Los recién nacidos prematuros están en particular predispuestos a deficiencia de cinc debido a que, en condiciones normales, el cinc se adquiere a razón de alrededor de 500 mg/día durante el último mes de gestación. Para compensar esta deficiencia, los suplementos de cinc para los recién nacidos prematuros deben ser 50% más elevados que para los recién nacidos de término completo. Luego esta concentración se reduce de manera gradual hasta que es igual a la del lactante de término completo.

Las concentraciones de cinc y cobre séricos deben monitorearse de manera semanal o, cuando menos, cada dos meses. El estado de cinc se vigilará incluso con mayor frecuencia en pacientes con pérdida gastrointestinal continua, incluso si reciben suplementos de cinc en sus soluciones parenterales.⁹⁷

Se ha descrito deficiencia de cromo en pacientes con nutrición parenteral de largo plazo.⁹⁸ Los signos y síntomas iniciales incluyen pérdida de peso, aumento de la intolerancia a los carbohidratos y neuropatía. El diagnóstico se apoya por concentraciones bajas de cromo sérico, y por la respuesta clínica a la administración de cromo. La evidencia indica que los valores de cromo en plasma están reducidos, no sólo en la deficiencia sino también en enfermedades agudas.⁹⁹ Se elevan al aumentar las cargas de insulina y glucosa.

Se describe deficiencia de selenio en la NPT a largo plazo.¹⁰⁰ Se le relaciona con cardiomiopatía y malabsorción.

La cardiomiopatía tal vez sea grave, y se ha informado muerte. Sin embargo, se requiere más trabajo para establecer su importancia en la NPT.

Uso de las pruebas con panel

Para regular el estado metabólico de los pacientes con enfermedad crítica sometidos a NPT, es necesario monitorear su terapia nutricional de manera consistente. La constante demanda por monitorear a estos pacientes produce una situación ideal para los paneles de laboratorio. Al solicitar estos paneles, es posible realizar un grupo de pruebas en forma rentable. Esto permite al laboratorio la opción de trabajar con lotes y análisis automatizado, lo que da como resultado el procesamiento de una cantidad menor de muestra, análisis químico más eficiente y, por tanto, contención del costo. Los paneles sólo deben consistir en pruebas rutinarias solicitadas de manera repetida.

RESUMEN

El énfasis actual en la nutrición y salud dio como resultado la creciente importancia de la valoración vitamínica y nutricional en el laboratorio clínico. Las vitaminas, compuestos de bajo peso molecular con un amplio rango de funciones en el tejido biológico, deben obtenerse de forma parcial o completa a partir de fuentes alimenticias y, en algunos casos, de la síntesis bacteriana. La valoración nutricional consiste en la evaluación de las necesidades metabólicas y nutricionales del paciente. Se realiza de mejor manera por mediciones clínicas y de laboratorio del estado nutricional. La valoración nutricional se ha vuelto cada vez más importante en el cuidado médico, en especial en el tratamiento de pacientes con enfermedad crítica y demacración crónica. Es raro identificar pacientes con riesgo de desarrollar complicaciones relacionadas con la nutrición en el curso de una enfermedad. Sin embargo, éste no tiene que ser el caso. Están disponibles estándares para la identificación de pacientes con alto riesgo y el monitoreo de la efectividad de la alimentación para reponer pérdidas nutricionales.

PREGUNTAS DE REPASO

- Vincule la vitamina con su categoría apropiada:
 - Liposoluble; b) Hidrosoluble.
 Vitamina A _____
 Vitamina E _____
 Folato _____
 Biotina _____
 Vitamina K _____
- ¿Cuál de los siguientes describe la fuente correcta, la función y el estado deficiente de la vitamina mencionada?
 - Vitamina E: tejido vegetal, antioxidante, osteomalacia.
 - Tiamina (B₁): granos íntegros, metabolismo de carbohidratos, beriberi.
 - Niacina: carne, reacciones de oxidorreducción, escorbuto.
 - Ácido fólico: productos lácteos, formación de mielina.
- ¿Cuál vitamina sería afectada si el paciente recibió el diagnóstico de trastorno que implica la absorción de grasa?
 - Vitamina B₁₂.
 - Ácido ascórbico.
 - Tiamina.
 - Vitamina K.
- ¿Cuál vitamina es un potente antioxidante, se encuentra sobre todo en aceites vegetales, que protege la membrana eritrocítica del estrés oxidativo?
 - Vitamina K.
 - Vitamina C.
 - Vitamina E.
 - Ácido fólico.
- Un hombre de 70 años se presentó con su médico con un brazo roto. El trabajo de laboratorio indicó tiempo de protrombina elevado, con todos los demás resultados de laboratorio normales. El hombre estuvo tomando un antibiótico para infección respiratoria anterior. ¿Cuál de las siguientes vitaminas, si es que hay alguna, pudiera estar implicada?
 - Vitamina K.
 - Vitamina D.
 - Biotina.
 - Ninguna de las anteriores.
- El método usado con mayor frecuencia para la determinación de la vitamina B₁₂ es:
 - Análisis quimiluminiscente.
 - Inmunoanálisis de separación magnética.
 - Radioinmunoanálisis de unión competitiva con proteína.
 - CLAR.
- El término que describe a los pacientes con desnutrición calórica crónica que pierden tejido adiposo y muscular pero no demuestran deficiencia proteica es:
 - Kwashiorkor.
 - Marasmo.
 - Debilitamiento.
 - Ninguna de las anteriores.
- El porcentaje de pacientes hospitalizados con posible desnutrición es de:
 - 5 a 8%.
 - 10 a 15%.
 - 20 a 25%.
 - 30 a 50%.
- ¿Cuál marcador nutricional se ha encontrado que es el indicador más sensible y útil del estado nutricional en pacientes muy enfermos?
 - Transtiretina.
 - Transferrina.
 - Albumina.
 - Factor 1 de crecimiento insulínico.
- El monitoreo del laboratorio del paciente con terapia de NPT es importante para evitar posibles complicaciones. ¿Cuál oligoelemento debe monitorearse de manera semanal?
 - Cobre.
 - Selenio.
 - Molibdeno.
 - Cromo.

REFERENCIAS

- World Health Organization: Energy and protein requirements. A joint FAO/WHO/UNU expert consultation technical report. Series 724. Geneva, Switzerland: WHO, 1985.
- Kinney JM. Metabolic responses to injury. In: Winters RW, Greene HL, eds. Nutritional Support of the Seriously Ill Patient. New York: Academic Press, 1983:5-12.
- Wilmore DW, Black PR, Muhlbacher F. Injured man: trauma and sepsis. In: Winters RW, Greene HL, eds. Nutritional Support of the Seriously Ill Patient. New York: Academic Press, 1983:33-52.
- Kinney JM. Energy metabolism: heat, fuel and life. In: Kinney JM, Jeejeebhoy KN, Hill GL, Owen OE, eds. Nutrition and Metabolism in Patient Care. Philadelphia: WB Saunders, 1988:3-34.
- Briggs MH, ed. Vitamins in Human Biology and Medicine. Boca Raton, FL: CRC Press, 1981.
- Food and Nutrition Board. Recommended Dietary Allowances, 10th ed. Washington, D.C.: National Academy of Science, 1989.
- Calabrese EJ. The vitamins. In: Nutrition and Environmental Health, Vol. 1. New York: John Wiley & Sons, 1980.

8. Ensminger AH, Ensminger ME, Konlande JE, et al. *Foods and Nutrition Encyclopedia*, 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994:2257–2260.
9. Garry PJ. Vitamin A. In: Labbe RF, ed. *Clinics in Laboratory Medicine*, Vol 1. Laboratory Assessment of Nutritional Status. Philadelphia: WB Saunders, 1981.
10. Book LS. Fat soluble vitamins and essential fatty acids in total parenteral nutrition. In: Leibel E, ed. *Total Parenteral Nutrition: Indications, Utilization, Complications*. New York: Raven Press, 1986:59–81.
11. Underwood BA. Methods for assessment of vitamin A status. *J Nutr* 1990;120(Suppl 11):1459–1463.
12. Bieri JG, Everts RP, Thorp S. Factors affecting the exchange of tocopherol between red cells and plasma. *Am J Clin Nutr* 1977;30:686.
13. Holick ME. The use and interpretation of assays for vitamin D and its metabolites. *J Nutr* 1990;120(Suppl 11):1464–1469.
14. Suttie JW. Role of vitamin K in the synthesis of clotting factors. In: Draper HH, ed. *Advances in Nutritional Research*, Vol 1. New York: Plenum, 1977.
15. Hazell K, Baloch KH. Vitamin K deficiency in the elderly. *Gerontol Clin* 1970;12:10–17.
16. Sitren H. Vitamin K. In: Baumgartner TG, ed. *Clinical Guide to Parenteral Micronutrition*. New York: Fujizawa USA, 1991:411–430.
17. Sitren HS, Bailey LB, Cerda JJ, Anderson CR. Thiamin (vitamin B₁). In: Baumgartner TG, ed. *Clinical Guide to Parenteral Micronutrition*. New York: Fujizawa USA, 1991:431–449.
18. Sitren HS, Bailey LB, Cerda JJ, Anderson CR. Riboflavin (vitamin B₂). In: Baumgartner TG, ed. *Clinical Guide to Parenteral Micronutrition*. New York: Fujizawa USA, 1991:451–468.
19. Bailey LB. Pyridoxine (vitamin B₆). In: Baumgartner TG, ed. *Clinical Guide to Parenteral Micronutrition*. New York: Fujizawa USA, 1991:521–539.
20. Sitren HS, Bailey LB, Cerda JJ, Anderson CR. Niacin (vitamin B₃). In: Baumgartner TG, ed. *Clinical Guide to Parenteral Micronutrition*. New York: Fujizawa USA, 1991:469–486.
21. Bailey LB. Folic Acid. In: Baumgartner TG, ed. *Clinical Guide to Parenteral Micronutrition*. New York: Fujizawa USA, 1991:573–590.
22. Bailey LB. Folate status assessment. *J Nutr* 1990;120(Suppl 11):1508–1511.
23. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, et al. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem* 1993;39:1764–1779.
24. Steinkamp RC. Vitamin B₁₂ and folic acid: clinical and pathophysiological considerations. In: Brewster MA, Naito HK, eds. *Nutritional Elements and Clinical Biochemistry*. New York: Plenum, 1980.
25. Bailey LB. Cobalamine (vitamin B₁₂). In: Baumgartner TG, ed. *Clinical Guide to Parenteral Micronutrition*. New York: Fujizawa USA, 1991:541–572.
26. Roth KS. Biotin in clinical medicine: a review. *Am J Clin Nutr* 1981;34:1967.
27. Englund S, Seifter S. The biochemical functions of ascorbic acid. *Annu Rev Nutr* 1986;6:265–304.
28. Jacob RA. Assessment of human vitamin C status. *J Nutr* 1990;120(Suppl 11):1480–1485.
29. Tanphaichitr V, Leelahagul P. Carnitine metabolism and human carnitine deficiency. *Nutrition* 1993;9:246–254.
30. Simopolis AP. Evolutionary aspects of diet: essential fatty acids. In: Mostofsky D, Yehuda S, Salem Jr N, eds. *Fatty Acids: Physiological and Behavioral Functions*. Totowa, NJ: Humana Press, 2001:3–22.
31. Huang MC, Brenna JT. On the relative efficacy of α -linolenic acid and preformed docosahexaenoic acid as substrates for tissue docosahexaenoate during perinatal development. In: Mostofsky D, Yehuda S, Salem Jr N, eds. *Fatty Acids: Physiological and Behavioral Functions*. Totowa, NJ: Humana Press, 2001:99–113.
32. Lindgren JA, Edenius C, Samuelsson B. Eicosanoid metabolism and function—nutritional modulation. In: Kinney J, Borum P, eds. *Perspectives in Clinical Nutrition*. Baltimore: Urban & Schwarzenberg, 1989:379–391.
33. Spielmann D. Metabolism of unsaturated fatty acids: role of n-3 and n-6 fatty acids in clinical nutrition. In: Kinney J, Borum P, eds. *Perspectives in Clinical Nutrition*. Baltimore: Urban & Schwarzenberg, 1989:351–378.
34. Meguid MM, Mughal MM, Meguid V, et al. Risk-benefit analysis of malnutrition and preoperative nutrition support: a review. *Nutr Int* 1987;3:25.
35. Bistrian BR, Blackburn GL, Vitale J, et al. Protein status in general medical patients. *JAMA* 1976;235:1567.
36. Reilly JJ Jr, Hull SF, et al. Economic impact of malnutrition: a model system for hospitalized patients. *J Parenter Enteral Nutr* 1988;12:371.
37. Weinsier RL, Hunker EM, Krumdieck GL, et al. A prospective evaluation of general medical patients during the course of hospitalization. *Am J Clin Nutr* 1979;32:419.
38. Bistrian BR, Blackburn GL, Hollwell H, et al. Protein status of general surgical patients. *JAMA* 1974;230:858.
39. Reinhardt GF, Myskofski JW, Wilkins DB, et al. Incidence and mortality of hypoalbuminemic patients in hospitalized veterans. *J Parenter Enteral Nutr* 1980;4:357.
40. Cannon PR, Wissler RW, Woolridge RL, et al. The relationship of protein deficiency to surgical infection. *Ann Surg* 1944;120:514.
41. Cahill GF Jr. Starvation: some biological aspects. In: Kinney JM, Jeejeebhoy KN, Hill GL, Owen OE, eds. *Nutrition and Metabolism in Patient Care*. Philadelphia: WB Saunders, 1988:193–204.
42. Ingenbleek Y, Bernstein L. The stressful condition as a nutritionally dependent adaptive dichotomy. *Nutrition* 1999;15(4):305–320.
43. Ingenbleek Y, Bernstein LH. The nutritionally-dependent adaptive dichotomy (NDAD) and stress hypermetabolism. In: Bernstein LH, Ingenbleek Y, eds. *Nutrition-Disease Interactions, Part I. J Clin Ligand Assay* 1999;22(3):259–267.
44. Kinney JM. Metabolic responses to injury. In: Winters RW, Greene HL, eds. *Nutritional Support of the Seriously-Ill Patient*. New York: Academic Press, 1983:5–12.
45. Kinney JM, Elwyn DH. Protein metabolism and injury. *Annu Rev Nutr* 1983;3:433–466.
46. Molawer LL, Fong Y, Marano MA, Lowry SF. Role of interleukins and tumor necrosis factor in regulating skeletal protein mass during inflammation. In: Kinney JM, Borum PR. *Perspectives in Clinical Nutrition*. Baltimore: Urban & Schwarzenberg, 1989:307–321.
47. Jeejeebhoy KN. Nutritional support in the malnourished patient. *Nutritional Support of the Seriously Ill Patient*. New York: Academic Press, 1983:207–222.
48. Bernstein LH, Shaw-Stiffel TA, Schorow M, et al. Financial implications of malnutrition. In: Labbe R, ed. *Clinics in Laboratory Medicine*. Philadelphia: WB Saunders, 1993:1.
49. Detsky AS, Baker JP, Mendelson RA, et al. Evaluation of accuracy of nutritional assessment techniques applied to hospitalized patients: methodology and comparisons. *J Parenter Enteral Nutr* 1984;8:153.
50. Studley HO. Percentage of weight loss: a basic indicator of surgical risk in patients with chronic peptic ulcer. *JAMA* 1936;106:458.
51. Morgan DB, Hill GL, Burkinshaw L. The assessment of weight loss from a single measurement of body weight: the problems and limitations. *Am J Clin Nutr* 1980;33:210.
52. Blackburn GL, Bistrian BR, Maim BS, et al. Nutritional and metabolic assessment of the hospitalized patient. *J Parenter Enteral Nutr* 1977;1:11.
53. Brugler L, DiPrinzio MJ, Bernstein LH. The five year evolution of a malnutrition treatment program in a community hospital. *Joint Comm J Qual Improvement* 1999;25(4):191–206.
54. Mears E. Linking serum prealbumin measurements to managing a malnutrition clinical pathway. *J Clin Ligand Assay* 1999;22(3):296–303.

55. Forbes GB, Bruining GJ. Urinary creatinine excretion and lean body mass. *Am J Clin Nutr* 1976;20:1359.
56. Christou NV, Meakins JL. Neutrophil function in anergic surgical patients: neutrophil adherence and chemotaxis. *Ann Surg* 1979;190:557.
57. Moore FD, Oleson KH, McMurphy JD, et al. The body cell mass and its supporting environment: body composition in health and disease. Philadelphia: WB Saunders, 1963.
58. Klidjian AM, Foster KJ, Kammerling RM, et al. Anthropometric and dynamometric variables to serious postoperative complications. *Br Med J* 1980;281:899.
59. Ingenbleek Y, Carpentier YA. Prognostic inflammatory and nutritional index scoring critically ill patients. *Int J Vitam Nutr Res* 1985;55:91.
60. Seltzer MH, Bastidas JA, Cooper DM, et al. Instant nutritional assessment. *J Parenter Enteral Nutr* 1979;3:157.
61. Forse RA, Shizgal HM. Serum albumin and nutritional status. *J Parenter Enteral Nutr* 1980;4:450.
62. Grant JP, Custer PB, Thurlow J. Current techniques of nutritional assessment. *Surg Clin North Am* 1981;61:437.
63. Royle GT, Kettlewell MGW. Liver function tests in surgical infection and malnutrition. *Ann Surg* 1980;192:459.
64. Apelgren KN, Rombeau JL, Twomey PL, et al. Comparison of nutritional indices and outcome in critically ill patients. *Crit Care Med* 1982;10:305.
65. Ingenbleek Y, Van Den Schrieck H-G, De Nayer P, et al. Albumin, transferrin and thyroxine-binding prealbumin/retinol-binding protein (TBPA-RBP) complex in assessment of malnutrition. *Clin Chem Acta* 1975;63:61.
66. Georgieff MK, Amarnath UM, Murphy EL, et al. Serum transferrin levels in the longitudinal assessment of protein-energy status in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989;8:234.
67. Ingenbleek Y, De Visscher M, De Nayer P. Measurement of prealbumin as an index of protein-calorie malnutrition. *Lancet* 1972;2:106.
68. Smith FR, Goodman DS, Zaklama MS, et al. Serum vitamin A, retinol-binding protein, and prealbumin concentrations in protein calorie malnutrition. I. Functional defect in hepatic retinol release. *Am J Clin Nutr* 1973;26:973.
69. Bernstein LH, Leukhardt-Fairfield CJ, Pleban W, et al. Usefulness of data on albumin and prealbumin concentrations in determining effectiveness of nutritional support. *Clin Chem* 1989;35:271.
70. Large S, Neal G, Glover J, et al. The early changes in retinol-binding protein and prealbumin concentrations in plasma of protein-energy malnourished children after treatment with retinol and an improved diet. *Br J Nutr* 1980;43:393.
71. Georgieff MK, Sasanow SR, Pereira GR. Serum transthyretin levels and protein intake as predictors of weight gain velocity in premature infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1987;6:775.
72. Giacoia GP, Watson S, West K. Rapid turnover transport proteins, plasma albumin, and growth in low birth weight infants. *J Parenter Enteral Nutr* 1984;8:367.
73. Moskowitz SR, Pereira G, Spitzer A, et al. Prealbumin as a biochemical marker of nutritional adequacy in premature infants. *J Pediatr* 1983;102:749.
74. Church JM, Hill GL. Assessing the efficacy of intravenous nutrition in general surgical patients: dynamic nutritional assessment with plasma proteins. *J Parenter Enteral Nutr* 1987;11:135.
75. Tuten MB, Wogt S, Dasse F, et al. Utilization of prealbumin as a nutritional parameter. *J Parenter Enteral Nutr* 1985;9:709.
76. Cavarocchi NC, Au FC, Dalal FR, et al. Rapid turnover proteins as nutritional indicators. *World J Surg* 1986;10:468.
77. Carlson DE, Cioffi WG Jr, Mason AD Jr, et al. Evaluation of serum visceral protein levels as indicators of nitrogen balance in thermally injured patients. *J Parenter Enteral Nutr* 1991;15:440.
78. Ingenbleek Y, Van Den Schrieck HG, De Nayer P, et al. The role of retinol-binding protein in protein-calorie malnutrition. *Metabolism* 1975;24:633.
79. Smith FR, Suskind R, Thanangkul O, et al. Plasma vitamin A, retinol-binding protein and prealbumin concentrations in protein-calorie malnutrition. III. Response to varying dietary treatments. *Am J Clin Nutr* 1975;28:732.
80. Baxter RC. The somatomedins: Insulin-like growth factors. *Adv Clin Chem* 1986;25:49.
81. Isley WL, Lyman B, Pemberton B. Somatomedin-C as a nutritional marker in traumatized patients. *Crit Care Med* 1990;18:795.
82. Clemmons DR, Underwood LE, Dickerson RN, et al. Use of plasma somatomedin-C/insulin-like growth factor I measurements to monitor the response to nutritional repletion in malnourished patients. *Am J Clin Nutr* 1985;41:191.
83. Unterman TG, Vazquez RM, Slas AJ, et al. Nutrition and somatomedin. XIII. Usefulness of somatomedin-C in nutritional assessment. *Am J Med* 1985;78:228.
84. Mosher DE. Physiology of fibronectin. *Annu Rev Med* 1984;35:561.
85. Saba TM, Blumenstock FA, Shah DM, et al. Reversal of opsonic deficiency in surgical, trauma, and burn patients by infusion of purified human plasma fibronectin. *Am J Med* 1986;80:229.
86. Spiekerman AM. Laboratory tests for monitoring total parenteral nutrition (TPN). *Clin Chem* 1987;27:1.
87. Deodhar SD. C-Reactive protein: the best laboratory indicator available for monitoring disease activity. *Cleve Clin J Med* 1989;56:126.
88. Hokama Y, Nakamura RM. C-Reactive protein: current status and future perspectives. *J Clin Lab Anal* 1987;1:15.
89. Wilmore DW, Black PR, Muhlbacher F. Injured man: trauma and sepsis. In: Winters RW, Greene M, eds. Nutritional support of the seriously ill patient. New York: Academic Press, 1983:33-52.
90. Cerra FB. Hypermetabolism, organ failure, and metabolic support. *Surgery* 1987;101:1.
91. Dudrick SJ. A clinical review of nutritional support of the patient. *J Parenter Enteral Nutr* 1979;3:444.
92. Howard L, Meguid MM. Nutritional assessment in total parenteral nutrition. *Clin Lab Med* 1981;1:611.
93. Takala J, Neuvonen P, Klossner J. Hypophosphatemia in hypercatabolic patients. *Acta Anaesthesiol Scand* 1985;29:65.
94. Tovey SJ, Benton KGF, Lee HA. Hypophosphatemia and phosphorus requirements during intravenous nutrition. *Postgrad Med* 1977;53:289.
95. Gordon EF, Gordon RC, Passal DB. Zinc metabolism: basic clinical and behavioral aspects. *J Pediatr* 1981;99:341.
96. Jeejeebhoy KN. Zinc and chromium in parenteral nutrition. *Bull N Y Acad Med* 1984;60:118.
97. Lockitch G, Godolphin W, Pendray MR, et al. Serum zinc, copper, retinol-binding protein, prealbumin and ceruloplasmin concentrations in infants receiving intravenous zinc and copper supplement. *J Pediatr* 1983;102:304.
98. Freund H, Atamian S, Fischer JE. Chromium deficiency during total parenteral nutrition. *JAMA* 1979;241:496.
99. Jeejeebhoy KN, Chu RC, Marliss EB, et al. Chromium deficiency, glucose intolerance, and neuropathy reversed by chromium supplementation in a patient receiving long-term total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr* 1977;30:531.
100. Sjils ME, Levander OA, Alcock NW. Selenium levels in long-term TPN patients. *Am J Clin Nutr* 1982;35:838.

Química clínica y el paciente geriátrico

Larry H. Bernstein

CAPÍTULO

32

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- EL IMPACTO DE LOS PACIENTES GERIÁTRICOS EN EL LABORATORIO CLÍNICO
- TEORÍAS DEL ENVEJECIMIENTO
- CAMBIOS BIOQUÍMICOS Y FISIOLÓGICOS DEL ENVEJECIMIENTO
 - Cambios de la función endocrina
 - Diabetes mellitus y resistencia a la insulina
 - Cambios en la función renal
 - Cambios en la función hepática
 - Función pulmonar y cambios electrolíticos
 - Cambios lipídicos y cardiovasculares
 - Cambios enzimáticos

- RESULTADOS DE QUÍMICA CLÍNICA Y ENVEJECIMIENTO
 - Establecimiento de intervalos de referencia en ancianos
 - Variables preanalíticas, los ancianos y los resultados químicos
 - Monitoreo de la terapéutica con fármacos en el anciano
 - Los efectos del ejercicio y la nutrición en ancianos y resultados químicos
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Definir envejecimiento, apoptosis, aterosclerosis, radicales libres, geriatría, gerontología, homeostasis, menopausia y osteoporosis.
- Analizar el impacto de los pacientes geriátricos en el laboratorio clínico.
- Describir las teorías actuales del envejecimiento.
- Evaluar los cambios fisiológicos que ocurren con el proceso de envejecimiento.
- Identificar los cambios relacionados con la edad en los analitos de la química clínica.

- Explicar los problemas relacionados con el establecimiento de los intervalos de referencia para los ancianos.
- Describir los efectos de la medicación en los resultados de la química clínica en los ancianos.
- Analizar los efectos del ejercicio y la nutrición en los resultados químicos en los ancianos.
- Correlacionar los cambios fisiológicos vinculados con la edad y los resultados con condiciones patológicas.

TÉRMINOS CLAVE

Apoptosis
Aterosclerosis
Envejecimiento

Geriatría
Gerontología

Homeostasis
Menopausia

Osteoporosis
Radical libre

El envejecimiento es un proceso complejo que no está comprendido de manera adecuada. No existe una definición universal aceptada del *envejecimiento*. Una definición es “la pérdida progresiva y desfavorable de adaptación, que conduce a aumento de la vulnerabilidad, disminución de la viabilidad y reducción de la esperanza de vida”.¹ El problema con esta definición radica en que los procesos de envejecimiento son variables con respecto a la edad y pérdida de la función. En efecto, es posible que exista pérdida temprana o pérdida marginal y tardía a una edad avanzada. Además, la función mental tal vez se mantenga independiente del índice de pérdida de funcionamiento físico. ¿Cómo se refleja esta “pérdida progresiva y desfavorable de adaptación” en los resultados del laboratorio clínico, de manera específica en los resultados de la química clínica? Este capítulo se centra en el laboratorio de química clínica y los procesos bioquímicos y fisiológicos del envejecimiento.

EL IMPACTO DE LOS PACIENTES GERIÁTRICOS EN EL LABORATORIO CLÍNICO

Además de la definición de envejecimiento, el lector debe familiarizarse con los términos *gerontología* y *geriatria*. La *gerontología* es el estudio de los procesos de envejecimiento. La *geriatria* es la rama de la medicina general que trata con los problemas fisiológicos, psicológicos, económicos y sociológicos del envejecimiento. Aunque no existe una base fisiológica específica, como pubertad o menopausia, para la distinción en nuestra sociedad, por lo general se utilizan los términos *ancianos*, *personas mayores* y *pacientes geriátricos* para incluir a cualquier persona de más de 65 años de edad. Sin embargo, debido a que el clínico se enfrenta con variación importante en la pérdida relacionada con la edad, también hay personas mayores jóvenes y ancianos jóvenes y mayores, que van de los 60 a los 75

años de edad, o incluso llegan a los 85 años con buen funcionamiento. Para propósitos de este capítulo, la información se vincula sobre todo con individuos de 65 años de edad y mayores, excepto donde se indique lo contrario.

Debido a los avances en el cuidado médico, la mejor nutrición y el énfasis en el ejercicio, una cantidad creciente de personas vive hasta los 65 de edad y más. Por tanto, en la población de Estados Unidos el porcentaje global de ancianos continúa en aumento. Entre éstos, las personas más grandes (es decir, aquellos de 85 de edad o más) representan el grupo de edad de más rápido crecimiento. De acuerdo con un informe de la Oficina de Censos de Estados Unidos, la cantidad de personas de 65 años de edad y más se incrementó en un factor de 11 entre 1900 y 1994, de 3.1 millones a 33.2 millones. En 1994, 1 de cada 8 estadounidenses era anciano, pero la proyección para el año 2030 es de 1 de cada 5.² En la figura 32-1 se muestra el aumento en el porcentaje de la población de Estados Unidos con 65 años de edad y más de 1900 a 2040.

El aumento en el porcentaje de ancianos plantea un reto importante para los sistemas de cuidado de la salud y sociales, así como para el laboratorio clínico. En Estados Unidos, el establecimiento de los beneficios de Medicare a los 65 años de edad se basó en el estimado de que 1% de la población tendría 65 años cuando los beneficios fueran requeridos, sin consecuencias para la economía. Esta visión cambió.

Los laboratoristas clínicos deben familiarizarse con problemas únicos o frecuentes de la población geriátrica. Es necesario que sean conscientes de las consideraciones especiales con respecto a la recolección de muestras sanguíneas, el desarrollo de intervalos de referencia, el efecto de los medicamentos en los resultados químicos y el diagnóstico de enfermedades en los ancianos. Sin embargo, lo más importante es comprender por completo los efectos del envejecimiento en los valores del laboratorio.

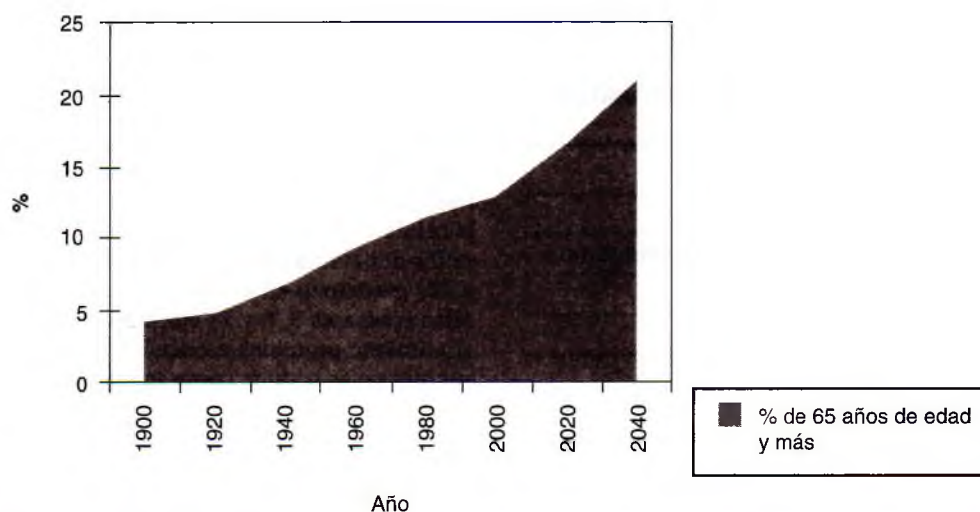


FIGURA 32-1. Porcentaje de la población de Estados Unidos con 65 años de edad y más (1900-2040). Las cantidades para 2000, 2020 y 2040 son proyecciones. (Fuente: U.S. Bureau of the Census, Current Population Reports, Special Studies, P23-190, 65+ in the United States, Washington, D.C., U.S. Government Printing Office, 1996.)

TEORÍAS DEL ENVEJECIMIENTO

En las teorías del envejecimiento se describen factores tanto intrínsecos (genéticos) como extrínsecos (ambientales) que están relacionados con cambio en la estructura y daño celular, una combinación atribuible al proceso de envejecimiento. En el cuadro 32-1 se incluyen: a) daño genético aleatorio, b) glucación, c) procesos de desarrollo que implican los sistemas inmunitario y endocrino, d) programación genética y e) daño de radicales libres.^{3,4}

La teoría que abarca daño al DNA no es aleatoria, ya que incluye daño o alteración de los materiales genéticos por mutágenos, como radiación de fondo (ultravioleta), lo que causa daño al cromosoma o DNA.³ Este daño es acumulativo, pero la falla relacionada con el envejecimiento constituye una disminución de la capacidad para reparar el DNA dañado.^{3,5} La teoría del "error catastrófico" requiere la modificación postranslacional de proteínas que conducen a anomalías genéticas y al final a muerte de la célula.³ La pérdida de un aminoácido no esencial en una proteína, como sucede con las isoformas de CK-MM, representa un cambio no funcional. En la teoría de glucación se establece que la interacción no enzimática de glucosa con numerosas proteínas forma productos finales glucados y moléculas proteicas de vínculo cruzado. Al final, estas proteínas modificadas pudieran acumularse e interferir con la estructura y función celular. Es posible que este proceso ocasione varios problemas característicos de los ancianos (p. ej., entumecimiento o pérdida de flexibilidad).^{3,6}

Las teorías de desarrollo del envejecimiento implican a los sistemas inmunológico y neuroendocrino. Ninguna de ellas proporciona una explicación plausible del envejecimiento. La capacidad de sistema inmunitario declina con la edad.³ La atrofia de timo ocurre al comienzo del proceso de envejecimiento. La reducción de la población de células T con pérdida relacionada de células B conduce a disminución de la respuesta a nuevos antígenos. Sin embargo, la exposición a neoantígenos es más elevada a una edad temprana. Además, las anomalías desdobladas, que

ocurren en varias formas de amiloidosis, no sólo se relacionan con infección crónica y trastornos autoinmunitarios. La polineuropatía amiloidea familiar relacionada con polimerización de la molécula transtiretina (55 mutantes) es un ejemplo de esta afección limitada a comunidades de Portugal, Brasil, Japón y Suecia. Esta teoría y el modelo endocrino no son suficientes para explicar varias enfermedades y desórdenes de tipo infeccioso (p. ej., trastornos autoinmunitarios, leucemia linfocítica y cáncer) en el anciano.^{3,6,7} La teoría del envejecimiento que abarca el sistema neuroendocrino se centra en el sistema hipotalámico-hipofisario y sus glándulas objetivo. Los cambios más notables que implican el declive en la función endocrina ocurren en mujeres posmenopáusicas e incluyen pérdida de estrógeno y calcio óseo. En hombres, las concentraciones de testosterona disminuyen con la edad.¹

En la teoría del envejecimiento genéticamente programado se sugiere que los genes desempeñan una función en el proceso de envejecimiento, y que cada uno de ellos está "programado" por sus genes para vivir una cierta cantidad de años.³ El respaldo de esta teoría se basa en observaciones generales del período de vida en familias y varios síndromes de envejecimiento, como progeria, síndrome de Werner y síndrome de Down.³ Existen trabajos más convincentes en la ciencia básica en los que se ha abierto un gran ámbito de estudio para la señalización y muerte celular. Los genes contienen instrucciones no sólo para el crecimiento y desarrollo, sino también para la destrucción celular, lo que causa declinación del cuerpo y al final la muerte. A la muerte celular preprogramada se le denomina *apoptosis*, del término en griego que significa *abandono*. La apoptosis se describió por primera vez en 1972 como un proceso en el desarrollo y envejecimiento celular distinto de la necrosis.⁸ Mientras que las células necróticas aumentan de tamaño, las células apoptóticas suelen reducirse y separarse de las células parenquimatosas circundantes. Al mismo tiempo, el volumen celular disminuye y la cromatina se condensa al borde del núcleo. Las células apoptóticas mueren por diseño, en tanto las células necróticas lo hacen por accidente y lesión letal.⁸ La investigación sobre la apoptosis fue conducida por la observación del nematodo *Caenorhabditis elegans*, seguida por la identificación de los homólogos del gen de la muerte en otros organismos.⁹ La regulación aberrante de la apoptosis contribuye a patologías bien conocidas, como enfermedades autoinmunitarias, cáncer, e infecciones virales.¹⁰ Durante la apoptosis, la célula es destruida por una clase de proteasas a las que se les denomina *caspasas*. Ciertas caspasas (es decir, la 8 y 10) participan en el comienzo de la apoptosis, en tanto otras (caspasas 3, 6 y 7) ejecutan la orden de destrucción al eliminar proteínas esenciales de la célula. El proceso apoptótico se resume como se muestra a continuación:

Activación de las caspasas de inicio por señales específicas.

Activación de las caspasas ejecutantes por las caspasas de inicio, que pueden adherirse a caspasas inactivas en sitios específicos.

Degradación de proteínas celulares esenciales por la actividad proteasa de las caspasas ejecutantes.

CUADRO 32.1. ALGUNAS TEORÍAS ACTUALES DEL ENVEJECIMIENTO

Daño genético aleatorio

Daño por radiación mutágena o de fondo

Errores en la traducción o transcripción cromosómica

Glucación de proteínas

Desarrollo

Declive del sistema inmunitario

Neuroendocrino

Genéticamente programado

Muerte celular preprogramada (apoptosis)

Daño por radicales libres (p. ej., OH·, O₂·⁻)

Adaptado de Knight JA, Laboratory Medicine and the Aging Process. Chicago: American Society of Clinical Pathologists, 1996.

La mitocondria juega un papel primordial en el mecanismo de la apoptosis.

Además, ocurren cambios por la acción de las especies oxígeno reactivas generadas y rescatadas de manera incompleta a lo largo del ciclo celular que afectan las interacciones celulares a través de alteraciones en la matriz intracelular, el intercambio intercelular de factores trópicos, la liberación de mediadores de citocina inflamatorios y otros efectos. La base de la teoría de los radicales libres es que los radicales libres de oxígeno causan daño progresivo y aleatorio a los componentes celulares. Un *radical libre* es un átomo o molécula con uno o más electrones impares; por tanto, los radicales libres tienen una cantidad impar de electrones, lo que produce un enlace abierto, o una enlace medio, de modo que se vuelven bastante reactivos. El radical libre se representa por un punto de exponente que indica el electrón impar, por ejemplo, $H_2O = HO\cdot + H\cdot$. El ion hidroxilo ($HO\cdot$) es un radical libre bastante reactivo y quizás uno de los más dañinos para las células. Además, los radicales libres son electrofilicos y atacan sitios de densidad electrónica incrementada (p. ej., DNA, RNA, proteínas, membranas). Al final, el daño del radical libre a los componentes celulares causa la muerte de la célula.^{3,5,11}

El superóxido ($O_2^{\cdot-}$) es otro radical libre generado en el cuerpo por varias reacciones, entre las que se encuentran fosforilación oxidativa y reacciones citoplásmicas. Por fortuna, el cuerpo tiene una manera de manejar la mayor parte de estos radicales libres. Por ejemplo, la superóxido dismutasa, una enzima presente en todas las células del cuerpo, convierte el superóxido a peróxido de hidrógeno. Luego otras enzimas (p. ej., glutatión peroxidasa y catalasa) inactivan el peróxido de hidrógeno. Los radicales hidroxilo se neutralizan por compuestos no enzimáticos, como las vitaminas C y E y la provitamina A y β -caroteno (los antioxidantes).^{3,6,11} En fecha reciente, surgió bastante apoyo e investigación en esta particular teoría de envejecimiento.¹¹

Aunque hay muchas teorías del envejecimiento propuestas, no se ha comprobado por completo ningún mecanismo a través de investigación. De hecho, en estudios de varias especies, la única intervención conocida para retardar el envejecimiento es la restricción calórica. En roedores, por ejemplo, la restricción calórica aumentó el promedio de

esperanza de vida y el lapso de vida máximo, y retardó el inicio de algunas enfermedades típicas relacionadas con la edad, así como el deterioro de los procesos fisiológicos (p. ej., capacidad de respuesta del sistema inmunitario y metabolismo de glucosa).⁴ Las razones de estos efectos al parecer sólo se relacionan con la restricción calórica y no con la reducción de algún factor dietético, como la ingesta de grasa, o suplemento dietético, como vitaminas o antioxidantes. Por desgracia, aún se desconoce el impacto de la restricción calórica en el envejecimiento en seres humanos.⁴

CAMBIOS BIOQUÍMICOS Y FISIOLÓGICOS DEL ENVEJECIMIENTO

Las teorías del envejecimiento tienen puntos de intersección y no son excluyentes entre sí. Existen muchos cambios bioquímicos y fisiológicos relacionados con el envejecimiento. En términos generales, el envejecimiento está relacionado con disminución de la eficiencia en la adaptación al estrés. Los sistemas de envejecimiento continúan funcionando de manera adecuada siempre y cuando no estén sometidos a estrés fisiológico excesivo. La capacidad del cuerpo para afrontar con éxito el estrés disminuye con el avance de la edad y varía entre los individuos. La magnitud y el índice en que declina la capacidad de adaptación depende de muchos factores, como la herencia, el estilo de vida y la nutrición; por tanto, se vuelve difícil generalizar en cuanto al complejo proceso de envejecimiento. Existe un envejecimiento relacionado con la disminución del agua corporal total, la masa muscular, el aumento de densidad ósea con remodelación (y disminución de la masa con la osteoporosis); incremento de lípidos (p. ej., colesterol, colesterol de lipoproteína de alta densidad [HDL] y triglicéridos); y un declive gradual en las funciones respiratorias, cardiovasculares, renales, hepáticas, gastrointestinales, inmunitarias, neurológicas y del sistema endocrino.^{1,4,6,12,13}

Además, el envejecimiento suele vincularse con el desarrollo de varias enfermedades y trastornos.^{4,14} En el cuadro 32-2 se muestran algunas enfermedades frecuentes y trastornos relacionados con el proceso de envejecimiento. Las causas principales de muerte en personas de 65 años de edad y más se enumeran en el cuadro 32-3.

Los cambios bioquímicos y fisiológicos específicos del proceso de envejecimiento, puestos que se relacionan con las pruebas de química clínica, se analizan en las siguientes secciones. En el cuadro 32-4 se resumen los cambios en los analitos químicos relacionados con el proceso de envejecimiento. Los cambios de los analitos son aquellos que suelen mencionarse en la literatura.^{4,13} Siempre que sea posible, los laboratoristas deben examinar la posibilidad del establecimiento de intervalos de referencia ajustados con la edad basados en los valores de analitos determinados para adultos mayores sanos.

Cambios de la función endocrina

Durante mucho tiempo se ha sabido que las anormalidades relacionadas con la función endocrina son habituales en el anciano, y su frecuencia tiende a aumentar durante

CUADRO 32-2. ENFERMEDADES Y TRASTORNOS QUE SUELEN RELACIONARSE CON EL ENVEJECIMIENTO^{3,11}

Aterosclerosis (p. ej., infarto al miocardio, enfermedad renal, derrame cerebral)

Cáncer

Diabetes mellitus

Hiperparatiroidismo

Hipertiroidismo

Hipotiroidismo

Gammopatías monoclonales (p. ej., mieloma múltiple)

Osteoporosis

CUADRO 32-3. LAS 10 PRINCIPALES CAUSAS DE MUERTE (65 AÑOS DE EDAD Y MÁS)

1. Enfermedad del corazón
2. Neoplasma maligno
3. Enfermedad cerebrovascular
4. Enfermedad pulmonar obstructiva crónica y trastornos relacionados
5. Neumonía e influenza
6. Diabetes mellitus
7. Accidentes y efectos adversos
8. Nefritis, síndrome nefrótico y nefrosis
9. Enfermedad de Alzheimer
10. Septicemia

Tomado de Birth and Deaths: United States, 1996. Mon Vital Stat Rep 1997;46(1 Supl 2):1-40.

CUADRO 32-4. CAMBIOS EN ANALITOS DE QUÍMICA CLÍNICA SELECCIONADOS CON LA EDAD^{1,3,4,6,18-20,25,28}

AUMENTO	DISMINUCIÓN	SIN CAMBIO
GGT	Albúmina	Cloruro
Fosfatasa alcalina, mujeres	Aldosterona	Cortisol
α_1 -Antitripsina	Bilirrubina	T ₄ libre
Amilasa	Eliminación de creatinina	Haptoglobina
AST	DHEA	Insulina, en ayunas
NUS	Hormona del crecimiento	PCO ₂ , o aumento ligero
Creatina cinasa ligero	PO ₂	pH, o disminución ligera
γ -Globulina, ligero	T ₃	Sodio
Glucosa, en ayunas	Proteína total	T ₄ , o decremento ligero
HDL	Transferrina	Globulina unida a la tiroides (GUT)
Fosfato inorgánico		
Lactato deshidrogenasa (LD)		
PCO ₂		
Potasio, ligero		
Colesterol total		
Triglicéridos		
TSH, ligero		
Ácido úrico		

Nota: Los cambios de los analitos son aquellos que suelen citarse en la literatura. Tal vez exista un poco de variación en los resultados de estudios sobre envejecimiento y en los resultados de laboratorio (es decir, tal vez un autor informe que no hay cambio importante para un analito; en tanto otro pudiera informar un decremento o incremento ligero para el mismo analito).

el proceso de envejecimiento. No sólo hay cambios obvios en la producción de hormonas por los órganos sexuales, sino que también existen variaciones en la función tiroidea, hipofisaria y suprarrenal. Los cambios más notables se relacionan con las hormonas gonadales y tiroideas.

Varios cambios hormonales complejos e importantes que se relacionan con la función gonadal ocurren tanto en hombres como en mujeres, entre los que se encuentran disminución de la producción gonadal de estrógeno en mujeres (menopausia) y testosterona en hombres (andropausia); producción suprarrenal de dehidroepiandrosterona (DHEA) y sulfato de DHEA (DHEAS) (adrenopausia); y decremento en la actividad de la hormona del crecimiento (GH)/eje del factor de crecimiento semejante a la insulina (FCI) (somatopausia).^{15,16} Como resultado, se desarrollan regímenes de reemplazo hormonal como estrategia para retrasar o prevenir algunas consecuencias del envejecimiento. Entre los 60 y 80 años de edad, la proporción entre testosterona y estradiol cae de 12:1 a 2:1.^{1,4} La disminución de testosterona se vincula de manera primordial a la disminución de la función testicular.^{1,17} En mujeres, los cambios en el sistema endocrino se relacionan sobre todo con la menopausia, momento en que hay cese de la producción de estrógeno ovárico. La *menopausia* es la suspensión permanente de la menstruación causada por declive de la actividad folicular ovárica; por lo general, ocurre entre los 38 y 58 años de edad. El proceso de apoptosis, muerte celular desinflamatoria y no traumática, equilibra la proliferación celular y mantiene la *homeostasis*. El envejecimiento interrumpe la regulación ordenada de la retroalimentación neuroendocrina de la secreción de GH, hormona luteinizante (LH), hormona foliculo estimulante (FSH) y hormona adrenocorticotropina (ACTH).¹⁷ Los productos específicos del gen promueven (Bax) la muerte celular regulada a través de efectos mitocondriales o se oponen a la misma (Bcl-2). A la desregulación de la apoptosis se le ha implicado en el desarrollo de enfermedades que son más frecuentes en individuos de edad avanzada, como cáncer y trastornos neurodegenerativos (enfermedades de Alzheimer y Parkinson). Las principales consecuencias de la deficiencia de estrógeno son la osteoporosis y la enfermedad cardíaca coronaria (ECC).^{18,19}

La *osteoporosis* es un problema tanto de hombres como de mujeres de edad avanzada, pero en particular en mujeres después de la menopausia (alrededor de los 50 años de edad). En esta población, se calcula que alrededor de 30% de las mujeres y 20% de los hombres padecen osteoporosis.^{18,19} La osteoporosis implica una pérdida gradual de la masa ósea. El esqueleto se debilita y se vuelve menos denso como resultado del aumento del desequilibrio de la resorción ósea debido a la remodelación ósea. Las células osteoblásticas mantienen la homeostasis del hueso. La resorción y formación óseas se llevan a cabo en una secuencia ordenada a lo largo de la vida por los osteoclastos y los osteoblastos. Los osteoclastos eliminan la matriz ósea a una tasa de 150 $\mu\text{m}/\text{día}$; el recambio se realiza por los osteoblastos a una tasa de 1 $\mu\text{m}/\text{día}$. El recambio del hueso aumenta la fuerza del mismo por la estructura del osteón. El recambio, controlado en parte por la tensión muscular, se ve afectado por el estrógeno. Es posible que la pérdida descompensada de masa esquelética conduzca a microfracturas y dolor.

Por lo general, los valores de química clínica presentes en la osteoporosis son normales, entre los que se encuentran calcio, fósforo, magnesio y fosfatasa alcalina séricos, y las hormonas paratiroides y tiroides,^{18,19} debido a que la pérdida ósea no se relaciona con eliminación masiva rápida de minerales, como por hiperparatiroidismo (hipercalcemia paratiroidea) o enfermedad de Paget (renovación ósea incontrolada). Después de que se establece el diagnóstico de osteoporosis, las pruebas de laboratorio para evaluar el metabolismo óseo (renovación) son útiles al seguir su progreso en respuesta para la terapia. Los factores principales de riesgo son la dieta, el estilo de vida inactivo, la predisposición genética, el tabaquismo, los trastornos endocrinos y los medicamentos.²⁰ El problema secundario más importante de la osteoporosis es la fractura de cadera, que es discapacitante y se relaciona con la falta de curación en la población de mayor edad. Por tanto, la osteoporosis, es un problema importante entre los ancianos, que ocasiona incremento de la morbilidad y de los costos para el cuidado de la salud. Además, existe una relación importante entre la hipovitaminosis D y el hiperparatiroidismo secundario (fosfatasa alcalina elevada y cambios osteoporóticos) en ancianos.^{21,22} Es posible que esto se relacione con ingesta dietética, falta de exposición a luz del sol y reducción de la conversión de 25-hidroxivitamina D₃ a la forma 1,25 por el riñón.

La glándula tiroides es fundamental para la regulación del proceso metabólico (p. ej., regulación de la tasa metabólica). Aunque existe poca evidencia de cambios en la función tiroidea en ancianos, la incidencia del hipotiroidismo y del hipertiroidismo se eleva.^{1,3,4} Se informa que la prevalencia de hipotiroidismo en ancianos está entre 0.5% y 4.4%, en tanto que la del hiperparatiroidismo se encuentra entre 0.5% y 3%.²³ El hipotiroidismo, aunque más frecuente en ancianos, a menudo resulta más difícil de diagnosticar.²⁴ Por lo general, los signos y síntomas del hipotiroidismo se interpretan de manera inadecuada tan sólo como "vejez".³ En el hipotiroidismo subclínico, por ejemplo, los pacientes tienen pocos o nulos síntomas clínicos, pero presentan un valor normal de tiroxina (T₄) con concentración elevada de la hormona estimulante de la tiroides (TSH).²⁴ La determinación de si se tratará a estos pacientes con hormona tiroides o se les dará seguimiento con pruebas periódicas de la tiroides es controversial. La interpretación de la función tiroidea en pacientes muy enfermos y hospitalizados también es difícil debido al efecto de la enfermedad no relacionada con la tiroides sobre las pruebas habituales de la

función tiroidea.²⁴ La enfermedad llega a deprimir las concentraciones en suero de la triyodotironina (T₃) y T₄, mientras que la TSH permanece normal o incluso disminuye. Las alteraciones en la unión proteica, el metabolismo hormonal de la tiroides y supresión de la liberación pituitaria de TSH quizá expliquen estos hallazgos en la enfermedad no relacionada con la tiroides. Por lo general, a estos pacientes se les considera eutiroideos (es decir, tienen función tiroidea normal) y no se prescriben suplementos hormonales.²³ En muchos de los primeros estudios se atribuyeron los cambios en la función de la tiroides al proceso de envejecimiento natural. Sin embargo, en estudios más recientes se indica que la función tiroidea anormal tal vez sea secundaria a algún trastorno subyacente o relacionado, y no sólo a la vejez.³ Debido a que los trastornos de la tiroides quizá se presenten de manera sutil y a menudo son difíciles de diagnosticar, la evaluación del laboratorio se vuelve importante. En personas sanas de edad avanzada, en esencia no existe ningún cambio en T₄, T₄ libre, globulina de unión a la tiroides y concentraciones de T₃ inversas.^{6,23,24} Sin embargo, en algunos estudios se demostró una disminución importante en los valores de T₃ después de los 50 años de edad, con un ligero aumento en la TSH, quizá como respuesta normal a la baja concentración de T₃. Aún no está claro si estos cambios están relacionados con la edad o son resultado de una enfermedad subyacente.^{6,23}

Existen pocos cambios morfológicos del páncreas en ancianos, más allá de cierto grado de atrofia y aumento de la incidencia de tumores.²⁵ Aunque otros aspectos de la función endocrina, como el sistema hipotálamo-hipófisis anterior y las glándulas suprarrenales, no muestran alteración en la producción de cortisol, tanto la aldosterona como la DHEA declinan con la edad.^{26,27} La prevalencia de la hipertensión también se incrementa con la edad: alrededor de 60% de las personas mayores de 60 años padecen esta afección.²⁷ Entre las causas se incluyen incremento de la resistencia periférica debido a la aterosclerosis, trastornos endocrinos y renales crónicos y medicaciones múltiples. En términos generales, existe un declive en la deficiencia de la regulación homeostática.^{4,27}

Diabetes mellitus y resistencia a la insulina

La tolerancia a la glucosa disminuye con la edad. Las personas de edad avanzada presentan un valor de glucosa sérica en ayunas un poco mayor que los adultos más jóvenes. La

ESTUDIO DE CASO 32-1

Una mujer de 65 años de edad hospitalizada debido a neumonía y diabetes incontrolada tuvo los resultados de prueba de la tiroides que se muestran en el cuadro 32-1.1 de estudio de caso.

Pregunta

1. Con base en el estado del paciente y los resultados de la prueba de laboratorio, ¿cómo se explican los datos de la tiroides?
2. ¿Habría que realizar alguna prueba adicional?

CUADRO 32-1.1 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

PRUEBA	RESULTADO	RANGO DE REFERENCIA
TSH sérica	1.5 µU/ml	0.5 a 5 µU/ml
T ₄ total	3.8 µg/dl	4.5 a 12 µg/dl
T ₃ total	55 ng/dl	60 a 220 ng/dl

glucosa en ayunas se eleva alrededor de 1 a 2 mg/dl (0.11 mmol/L) por década a lo largo de la vida.^{6,28} El umbral renal (el límite en que la glucosa desemboca en la orina) también se incrementa con la edad. Además, existe alteración de la respuesta de la insulina a la glucosa.^{1,13} La diabetes mellitus es un problema frecuente en ancianos, con una prevalencia de alrededor de 18.4% en personas de 65 años de edad y más. Las observaciones anteriores sobre los valores esperados en ancianos sanos tal vez resulten engañosas. La definición de diabetes y prediabetes se revisó para valores de glucosa por arriba de 126 mg/dl y 100-126 mg/dl, respectivamente. Se observa un aumento alarmante de la obesidad con incremento de la diabetes tipo 2 y aumento relacionado de hipertensión y riesgo cardiovascular. Este síndrome se caracteriza por grados variables de intolerancia a la glucosa, valores de colesterol y/o triglicéridos anormales, presión sanguínea elevada, obesidad corporal alta, todos factores de riesgo independientes para la enfermedad cardíaca. En el estudio PROCAM (*Prospective Cardiovascular Munster*), donde se examinó la relación entre varios factores de riesgo cardíaco y la incidencia de ataque cardíaco en 2 754 hombres de 40 a 65 años en un período de cuatro años, se demostró que tan sólo la presencia de diabetes o presión arterial elevada aumentó 2.5 veces el riesgo de ataque cardíaco. Cuando estuvieron presentes tanto diabetes como presión sanguínea elevada, el riesgo se incrementó ocho veces. Un perfil lipídico aumentó el riesgo 16 veces; cuando se observaron valores lipídicos anormales con presión sanguínea elevada o diabetes, o ambas, el riesgo fue 20 veces mayor. Estas anomalías constituyen el síndrome de resistencia a la insulina. A éste se le describió por primera vez en 1988, cuando se sugirió que el defecto estaba relacionado con la insulina.²⁹ Se calcula que este síndrome afecta entre 70 y 80 millones de estadounidenses.³⁰ Debido a que por lo general la resistencia se desarrolla mucho antes de que aparezcan estas enfermedades, la identificación y el tratamiento de los pacientes con resistencia a la insulina tiene un valor potencialmente preventivo enorme. La afección es frecuente entre personas con obesidad (definida como índice de masa corporal [IMC] de 30 kg por m² o más). El patrón de obesidad también es muy importante. Existe fuerte relación entre la obesidad abdominal y el grado de resistencia a la insulina, lo que es independiente del peso corporal total.³¹ Es posible calcular el grado de obesi-

dad abdominal por el uso de la circunferencia de la cintura o la proporción cintura-cadera. La cintura suele medirse en su punto más estrecho, y la cadera en su punto más amplio alrededor de las nalgas. Una proporción cintura-cadera mayor de 1.0 en hombres o de 0.8 en mujeres se correlaciona en gran medida con obesidad abdominal y resistencia a la insulina, y confiere un mayor riesgo de enfermedades relacionadas. Se da por hecho que los productos finales de glucación avanzada (FGA) desempeñan un papel clave en la nefropatía diabética (ND) y otras complicaciones diabéticas. Éstos ejercen efectos marcados en células endoteliales, monocitos, macrófagos y unión a receptores FGA (RFGA). Los FGA se forman por la unión de aldosa en grupos NH₂ libres en las proteínas. La unión de FGA a RFGA activa las células endoteliales, los monocitos y los macrófagos, que, al activarse, producen citocinas y expresan moléculas de adhesión y factores tisulares. Éstos participan en el incremento del estrés oxidante y las lesiones microvasculares en la diabetes.³² Además, existe también una relación compleja entre la masa adiposa, el factor α de necrosis tumoral (FNT- α) y la resistencia a la insulina. Sin embargo, aún se desconocen los mecanismos por los que FNT- α induce resistencia a la insulina. Los genes inductores de FNT- α incluyen factores de transcripción implicados en la expresión del gen preadipocito o activación del factor- α B nuclear, citocinas y proteínas inducidas por citocina, factores de crecimiento, enzimas y moléculas de señalización.³³ Con base en esto, la diabetes tipo 2 es más sospechosa como enfermedad inflamatoria crónica que como trastorno de la disfunción endocrina pancreática.

Cambios en la función renal

Todos los aspectos de la función renal se ven afectados por el proceso de envejecimiento. La edad de comienzo, los cambios específicos y las consecuencias son lo que varía en esta población.³⁴ La función renal comienza a declinar después de los 30 años de edad y, para los 60 años, se reduce a la mitad.³⁴ Este declive se atribuye a la pérdida gradual de nefronas, disminución de la actividad enzimática y metabólica de las células tubulares y aumento de la incidencia de procesos patológicos (p. ej., aterosclerosis).³⁴

La función renal se evalúa a cualquier edad a través de pruebas clínicas, como volumen urinario, análisis de

ESTUDIO DE CASO 32-2

Un hombre de 70 años de edad por lo demás sano ingresó al hospital para someterse a cirugía abdominal. Los resultados de prueba química preoperatoria se muestran en el cuadro 32-2.1 del estudio de caso.

Pregunta

1. ¿Cuál es la proporción NUS/creatinina en este paciente?
2. ¿Qué sugieren estos datos?
3. ¿Qué resultados de prueba apoyan esta conclusión?
4. ¿Qué tan frecuente es este trastorno en ancianos?

CUADRO 32-2.1 DE ESTUDIO DE CASO. RESULTADOS DE LABORATORIO

PRUEBA	RESULTADO	RANGO DE REFERENCIA
Albúmina	53 g/L	35 a 50 g/L
NUS	40 mg/dl	8 a 26 mg/dl
Creatinina	1.6 mg/dl	0.9 a 1.5 mg/dl
Osmolalidad sérica	330 mosm/kg	275 a 295 mosm/kg
Sodio	150 mmol/L	135 a 145 mmol/L

constituyentes y concentración, nitrógeno ureico sanguíneo (NUS), ácido úrico y varias pruebas de eliminación.³⁴ La eliminación de creatinina, la tasa de filtración glomerular (TFG) y el flujo del plasma renal disminuyen con la edad.^{6,34} Los analitos, el NUS, el ácido úrico y el fosfato inorgánico que refleja la TFG se elevan.⁶

En términos generales, los ancianos padecen disminución de la capacidad para conservar agua a través de los riñones y una sensación mucho más baja de sed.³⁵ Esto, por supuesto, llega a conducir a deshidratación, un problema habitual y subestimado en ancianos. La deshidratación no sólo es un hallazgo frecuente en personas de edad avanzada, sino que también pudiera ser grave, lo que conduciría a una mayor tasa de mortalidad.³ Entre las pruebas de laboratorio clínico indicativas de deshidratación se incluyen hipernatremia, aumento de la proporción NUS/creatinina, incremento de osmolalidad sérica y elevación de gravedad específica de la orina.³

Además de los cambios renales característicos del envejecimiento ya mencionados, existe mayor incidencia de enfermedad renal y reducción de la capacidad para controlar la excreción de fármacos. Los problemas que afectan la función renal se relacionan con daño por infecciones o fármacos (medicaciones), hipertensión o trastornos como diabetes mellitus, tuberculosis y nefritis.³⁴

Cambios en la función hepática

En términos generales, la atrofia y la reducción del peso hepático, así como el declive de la función del hígado, son frecuentes en ancianos.^{3,36} Aunque el hígado realiza muchas funciones (capítulo 22, *Función hepática*), en esta sección se tratan tres de sus papeles más importantes (síntesis, excreción y secreción y destoxificación y metabolismo de fármacos) con relación a los procesos de envejecimiento.

La función sintética del hígado se monitorea por medio de las concentraciones de proteínas en plasma. Tietz y colegas informaron una ligera disminución de la proteína total en personas ancianas "adaptadas".²⁸ Se observa una declinación, también, de la albúmina y transferrina. Hay que tomar esta observación con cierta reserva. La homogenización de la muestra de población de edad avanzada adaptada se tomará con reserva. El descenso en la albúmina y transferrina pudiera atribuirse a un grado importante de desnutrición y enfermedad hepática en la población estudiada. No se descuenta la existencia de desnutrición, enfermedad hepática alcohólica, depresión e ingesta deficiente de nutrientes en la población ambulatoria de edad avanzada. En la población de asilo, las tasas de desnutrición energética proteica alcanzan hasta 40 a 50%. Si la tasa de desnutrición fuera de 10% y las personas ambulatorias de edad avanzada tuvieran albúmina de 2.8 g/dl, la concentración de albúmina sérica para una muestra de 10000 personas a un nivel de 3.5 g/dl disminuiría a 3.4 g/dl. Además, la diabetes tipo 2 quizá esté relacionada con esteatosis no alcohólica y esteatohepatitis, lo que conduciría a reducción de la albúmina y transferrina e incremento de la fosfatasa alcalina. Sin embargo, la γ -globulina y la α_1 -antitripsina se elevan un poco con la edad, en tanto la haptoglobulina permanece en esencia igual que en adultos

jóvenes.²⁸ Asimismo, las inmunoglobulinas se reducen en una parte de la población.

Ciertas enzimas también cambian. La fosfatasa alcalina (ALP) y la lactato deshidrogenasa (LD), por ejemplo, aumentan tanto en hombres como en mujeres, pero es poco probable que estos cambios se relacionen con la edad. La síntesis de la urea, un proceso que ocurre en los hepatocitos, y el metabolismo de la bilirrubina declinan con la edad.^{3,36} La función de destoxificación o metabolismo del fármaco por parte del hígado es importante al tomar en cuenta el aumento de las cantidades de medicaciones que por lo general se prescriben para pacientes ancianos. Aunque la población de 65 años de edad y más es alrededor del 12% de la población de Estados Unidos, recibe cerca de la tercera parte de todas las medicaciones prescritas.³ Además de las posibles interacciones farmacológicas, la toxicidad del fármaco representa un problema potencial. Como ya se mencionó, con el proceso de envejecimiento existe cierta atrofia del hígado, así como reducción en el flujo sanguíneo hepático. Esto, a su vez, tal vez conduzca a la acumulación de algunos fármacos (p. ej., lidocaína y morfina) y la posibilidad de toxicidad.³ El tema de las medicaciones en el envejecimiento se analiza más adelante con mayor detalle.

Función pulmonar y cambios electrolíticos

Durante el proceso de envejecimiento, ocurren varios cambios anatómicos y fisiológicos conocidos en la función cardiopulmonar. En realidad la función pulmonar comienza a declinar después de los 25 años de edad como resultado de cambios en el pulmón, la caja torácica, los músculos respiratorios y los centros respiratorios del sistema nervioso central.³⁷ Desde luego, la función pulmonar es, quizá, más afectada por hábitos personales, como el tabaquismo, y por contaminación ambiental.³⁷

Entre los cambios descritos más a menudo relacionados con la función pulmonar en ancianos se incluyen los valores de PO_2 y PCO_2 . Estos cambios reflejan la disminución de la capacidad vital (pulmón) encontrada en la mayoría de la gente de edad avanzada.³⁷ El PO_2 arterial, por ejemplo, disminuye durante el proceso de envejecimiento, en tanto se informa que el PCO_2 aumenta un poco o permanece intacto.^{4,37} Está documentado que el valor del pH sanguíneo permanece bastante constante o disminuye sólo de manera ligera.^{6,37}

En los electrolitos de sodio, potasio y cloruro se observa poco cambio en ancianos sanos en comparación con los encontrados en adultos más jóvenes.²⁷ El sodio permanece muy constante en el comienzo de la edad adulta a la madurez. Los valores de cloruro son, también, muy constantes, pero se ha encontrado que son un poco más elevados en personas mayores de 90 años de edad. Sin embargo, el potasio se incrementa ligeramente a partir de los 60 a 90 años.²⁷

Las enfermedades relacionadas con el sistema respiratorio son frecuentes en ancianos, y explican 25% de todas las muertes en individuos mayores de 85 años.³⁷ Entre las enfermedades respiratorias de ancianos se encuentran bronquitis crónica, enfisema, neoplasia e infecciones pulmonares, en particular tuberculosis y neumonía.³⁷

Cambios lipídicos y cardiovasculares

La enfermedad cardiovascular aún constituye una causa importante de muerte tanto en hombres como en mujeres de edad avanzada. En Estados Unidos, la aterosclerosis, un tipo de arteriosclerosis, es la causa principal de muerte por enfermedad cardiovascular.³ La *aterosclerosis*, un proceso patológico progresivo que comienza en etapas tempranas de la vida, comprende alteraciones vasculares caracterizadas por acumulaciones de grasa en las paredes vasculares.³ La aterosclerosis se desarrolla con lentitud a través de los años. Entre las consecuencias de la aterosclerosis se incluyen hipertensión, hemorragia, trombosis, derrame cerebral y enfermedad cardíaca coronaria (ECC). La ECC, a la que también se le denomina *enfermedad cardíaca isquémica*, todavía es causa principal de discapacidad y muerte en Estados Unidos. Su prevalencia se incrementa con el aumento de edad.³⁸ Los factores de riesgo para ECC abarcan la edad, el sexo, la predisposición genética, la obesidad, la hipertensión, el estado físico deficiente, la diabetes mellitus, el consumo de tabaco y la hiperlipidemia.³

Está demostrado que los lípidos desempeñan un papel importante en el proceso aterosclerótico y el riesgo de ECC son colesterol de HDL y lipoproteína de baja densidad (LDL), colesterol total y triglicéridos. En un estudio de Tietz y colegas con ancianos en buen estado de adaptación, se encontró elevación del colesterol total, el colesterol HDL y los triglicéridos como parte del proceso de envejecimiento.²⁸ Sin embargo, se consideró al colesterol HDL, o colesterol “bueno”, como un factor de riesgo *opuesto* importante para ECC, con valores de menos de alrededor de 35 mg/dl que indican riesgo elevado y valores de más de 35 mg/dl que indican riesgo bajo.³

Cambios enzimáticos

Los cambios en los valores enzimáticos durante el proceso de envejecimiento están estudiados de manera exhaustiva. Son variados y complejos. La concentración y síntesis enzimática están bajo control genético y son afectadas por hormonas, sustratos y otros factores. Al parecer las enzimas no siguen ningún patrón en particular relacionado con la edad; aumentan, disminuyen o permanecen constantes durante el proceso de envejecimiento. Sin embargo, se encontró que la capacidad para comenzar los cambios de adaptación en la actividad de las enzimas se altera con la edad.³

Entre las enzimas que se informa que cambian en las personas ancianas sanas se encuentran la aspartato aminotransferasa (AST), alanino aminotransferasa (ALT), ALP, γ -glutamilttransferasa (GGT), creatina cinasa (CK), lactato deshidrogenasa y amilasa.²⁸ Se observa que la AST, GGT, LD y amilasa aumentan tanto en hombres como en mujeres. Las concentraciones de ALT sólo se incrementan de manera marginal en hombres, en tanto que en mujeres no se observa cambio. Sin embargo, la ALP aumenta de manera importante en mujeres, mientras que en los hombres no se eleva hasta los 90 años de edad. Los valores de CK en hombres aumentan un poco entre los 60 y 69 años de edad; sin embargo, entre los 70 y 90 años, disminuyen. En mujeres, los valores de CK también se incrementan ligeramente de los 60 a 70 años de edad, pero disminuyen en mayores de 70 años. La lipasa sólo aumenta un poco,

si es que lo hace, entre los 60 y 90 años de edad, pero se eleva en forma definitiva en mayores de 90 años.²⁸

RESULTADOS DE QUÍMICA CLÍNICA Y ENVEJECIMIENTO

Además del conocimiento de los cambios bioquímicos y fisiológicos del envejecimiento, es necesario que los laboratoristas clínicos comprendan otros factores que tal vez afecten los resultados químicos clínicos en ancianos. Por ejemplo: ¿el proceso de envejecimiento afecta lo bastante los resultados de pruebas de laboratorio para garantizar intervalos de la referencia separados en esta población? ¿Cuáles variables preanalíticas (p. ej., dieta, postura, medicaciones) relacionadas con los ancianos afectan los resultados de química clínica? ¿De qué manera el proceso de envejecimiento afecta la interpretación de los valores del fármaco en el anciano? ¿Cuáles son los efectos del ejercicio y la nutrición en personas de edad avanzada y los resultados químicos? En el cuadro 32-5 se muestran algunos factores que los laboratoristas deben tomar en cuenta al momento de interpretar los valores de laboratorio en ancianos.

Establecimiento de intervalos de referencia en ancianos

La interpretación de los resultados de las pruebas y de los intervalos de referencia para ancianos tal vez sea confusa y compleja. Además, al parecer existe cierta confusión respecto al tema de los intervalos de referencia para los ancianos entre expertos en el campo de la química clínica y el envejecimiento.

CUADRO 32-5. FACTORES PARA TOMAR EN CUENTA EN LA INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE LABORATORIO CLÍNICO EN ANCIANOS^{3,22,33}

Ejercicio
Duración
Tipo
Medicaciones
Polifarmacia
Movilidad
Inmovilidad
Postura
Estado nutricional
Hábitos personales
Uso del alcohol
Tabaquismo
Presencia de varios trastornos crónicos o subclínicos
Validez del intervalo de referencia
Variables para la recolección de la muestra
Lugar
Traumatismo
Volumen

Como ya se mencionó, muchos intervalos de referencia para analitos varían en comparación con los intervalos de referencia de adultos más jóvenes. Ciertos analitos, como las concentraciones de hormonas masculinas y femeninas, son resultado indiscutible de los órganos en envejecimiento. Sin embargo, con otros analitos, el caso quizá no sea tan claro.³ La variación en los niveles de los analitos pudiera ser resultado de varios trastornos secundarios (p. ej., enfermedades subclínicas, fármacos, inactividad, nutrición) y no sólo del proceso de envejecimiento; por ejemplo, la relación entre diabetes mellitus no dependiente de la insulina y aumento de las concentraciones de glucosa sérica.

Con frecuencia, los resultados de pruebas anormales en ancianos se interpretan como “normales” para la edad del individuo y no como un signo de un trastorno o enfermedad.¹¹ Sin embargo, en la investigación actual se demuestra que, en muchos casos, los resultados de laboratorio anormales en individuos considerados sanos tal vez estén relacionados, de hecho, con trastornos subclínicos no reconocidos o con otras afecciones secundarias.^{3,11} El hecho de que no se determinen con facilidad intervalos de referencia, incluso en poblaciones de adultos sanos más jóvenes, aumenta el problema. A menudo, los intervalos de referencia se definen de manera inadecuada y no siempre se determinan a través de un proceso uniforme.³⁹ El establecimiento de los intervalos de referencia implica un protocolo bien definido, que incluye selección cuidadosa de los individuos de referencia, control de factores preanalíticos, una lista completa de interferencias analíticas, recolección consistente y cuidadosa de muestras para un analito dado, análisis de las muestras bajo condiciones bien definidas e identificación de errores en los datos.³⁹ Está claro que la determinación de los intervalos de referencia en personas de edad avanzada llega a ser problemática debido a un gran porcentaje de ancianos que padecen alguna anormalidad patológica obvia o subclínica. El *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) de Estados Unidos publicó una directriz importante (C28-A), respecto a la determinación de los intervalos de referencia válidos para pruebas de laboratorio clínicas cuantitativas;⁴⁰ sin embargo, la directriz es inadecuada para la validación o determinación de los intervalos de referencia debido al potencial inadecuado, el sesgo de la muestra y la falta de control de condiciones que producen confusión en la población de la muestra.

Aunque el proceso de envejecimiento afecta ciertos analitos seleccionados, la relación entre el envejecimiento y los cambios en otros analitos está menos comprendido. Por lo general, médicos y laboratoristas están de acuerdo en la necesidad de separar intervalos de referencia en ancianos para prevenir resultados anormales falsos. Knight recomienda que hasta que se logre una mejor comprensión de las relaciones entre el envejecimiento verdadero, los trastornos relacionados con la edad y varios resultados de laboratorio, los médicos y laboratoristas deben mantener los intervalos de referencia normales establecidos para adultos sanos más jóvenes.³ Resulta útil, también, comparar los valores actuales de una persona con aquellos obtenidos a lo largo de su vida adulta. En cualquier caso, los médicos y científicos del laboratorio clínico tendrán que tomar en cuenta todos los factores que afectan la interpretación de los resultados de la prueba de laboratorio en ancianos.

Variables preanalíticas, los ancianos y los resultados químicos

Muchas variables preanalíticas pudieran afectar la interpretación de los resultados químicos. Sin embargo, las variables preanalíticas quizá tengan mucho mayor efecto en ancianos. Entre las variables analíticas que se relacionan con el paciente se incluyen dieta, género, postura (p. ej., sentado o acostado), hábitos personales (p. ej., consumo de tabaco y de alcohol), composición corporal, actividad física, y medicaciones prescritas.⁴¹ Cualquiera de éstas llega a afectar la concentración de varios analitos; por ejemplo, los cambios de la composición corporal con la edad. En personas sanas, la grasa corporal se eleva y la masa corporal magra disminuye con la edad. Dado el aumento de la diabetes tipo 2, la grasa corporal y los riesgos de salud inherentes, la referencia a personas “sanas” tal vez sea injustificada. Además, la masa corporal y la altura disminuyen alrededor de los 60 años de edad en adelante.⁴¹ A su vez, es probable que estos cambios afecten los valores de varios analitos (p. ej., creatinina).

Otras variables preanalíticas que afectan los resultados de laboratorio en ancianos comprenden la recolección de las muestras para su análisis.⁴² Varios cambios físicos y fisiológicos del envejecimiento afectan la recolección y calidad de una muestra, y hacen que la flebotomía sea un desafío para el flebotomista. Debido a que los pacientes de edad avanzada pueden presentar enfermedades como artritis, desnutrición o deshidratación, además del proceso de envejecimiento en sí, tal vez haya disminución del tono muscular y la elasticidad de la piel (es decir, piel floja). Las venas llegan a ser difíciles de encontrar o inapropiadas para su uso, lo que hace que la flebotomía sea difícil y causa hemólisis y aumento de la probabilidad de elevación de hemoglobina plasmática y lactato deshidrogenasa.⁴² Además, es posible que las venas de los pacientes de edad avanzada proporcionen flujo sanguíneo deficiente, lo que da como resultado una muestra menos que adecuada para algunas pruebas de laboratorio.⁴²

Monitoreo de la terapéutica con fármacos en el anciano

Los ancianos, en Estados Unidos 12% de su población, utilizan 30% de las medicaciones de prescripción y a menudo se encuentran bajo regímenes de medicaciones múltiples.⁴³ Por desgracia, la sobredosis y las reacciones adversas a fármacos (debido a medicaciones múltiples) son problemáticas en ancianos. Con el proceso de envejecimiento normal, existen muchos cambios en la manera en que el cuerpo utiliza los fármacos.⁴³ La absorción, la distribución, el metabolismo y la excreción de un fármaco se ven afectados por el proceso de envejecimiento. (Véase el capítulo 28, *Monitoreo de fármacos terapéuticos*, para conocer más información sobre la farmacocinética de los fármacos). Por ejemplo, el tiempo de vaciado gástrico llega a prolongarse en los ancianos, lo que causa retraso en la absorción del fármaco.^{43,45} Además, la absorción por inyecciones intramusculares se altera debido a la disminución del flujo sanguíneo.⁴⁴ El metabolismo o la biotransformación de fármacos, que es controlado sobre todo por el hígado, quizá se dañe como

resultado de la disminución relacionada con la edad, de la masa hepática y el flujo sanguíneo.⁴⁴

El cambio farmacocinético más importante está relacionado con la eliminación de fármacos a través de los riñones. La masa renal y el flujo sanguíneo descienden con la edad.⁴⁴ La albúmina sérica tal vez también disminuya debido a la desnutrición por energía proteica, lo que afecta los fármacos que se transportan ligados a la albúmina. Asimismo, la tasa de filtración glomerular (al medirla por eliminación de la creatinina) declina de manera lineal con la edad.⁴⁴ En fármacos excretados sobre todo por la orina, se debe tener precaución en el tratamiento para evitar cualquier sobredosificación o efectos tóxicos.⁴⁴

La dosis del fármaco se ajusta a la eliminación de la creatinina a través de la fórmula de Cockcroft-Gault:⁴³

$$Cl_{cr} = \frac{(140 - \text{edad}) (\text{peso en kg})}{(72) (\text{creatinina sérica})} \quad (\text{Ec. 32-1})$$

En mujeres, hay que multiplicar por 0.85. El peso ideal, más que el peso habitual, corrige el peso en individuos obesos. Debido a que la creatinina sérica menor a 0.9 proporciona eliminación de creatinina falsamente elevada, se debe redondear la creatinina.

Los factores psicosociales frecuentes entre ancianos, como la depresión, demencia, pobreza y soledad, también son factores que contribuyen a los problemas de medicación. Los pacientes ancianos, por ejemplo, tal vez sean menos dóciles (p. ej., debido a la pobreza) o incapaces de seguir las instrucciones de medicación, lo que aumenta el problema.⁴⁴ Debido a que es más probable que los efectos de los fármacos sean exagerados en ancianos, los laboratoristas deben dominar los principios del monitoreo terapéutico del fármaco y los efectos del envejecimiento en la vigilancia terapéutica del fármaco. Para proporcionar la mejor calidad de atención a los ancianos, tal vez sean necesarios el monitoreo frecuente del fármaco y el desarrollo de rangos terapéuticos para personas de edades avanzadas.

Los efectos del ejercicio y la nutrición en ancianos y resultados químicos

En muchos estudios se indica que el ejercicio constituye una estupenda manera para que el anciano mantenga la salud y aumente la longevidad. Rowe, en un estudio con más de 40 000 mujeres posmenopáusicas durante un periodo de siete años, informó que aquellas que practicaban ejercicio regular tenían 20% menos probabilidad de morir que aquellas que eran sedentarias.³⁵ Shephard concluye que el ejercicio pudiera beneficiar a la población sedentaria de edad avanzada (75 a 80 años) al mejorar su salud general, aumentar los contactos sociales y elevar la función cerebral.⁴⁶ La obesidad, como resultado de cambios metabólicos, actividad reducida y alteraciones relacionadas con la edad en músculos, constituye un problema frecuente en ancianos, que también resulta beneficiado por el ejercicio.^{47,48} En otros estudios se indica que: *a*) cuanto más frecuente sea el ejercicio, mayor será el beneficio, *b*) el ejercicio moderado (p. ej., caminar) es casi tan benéfico como el ejercicio vigoroso y *c*) el ejercicio llega a anular los efectos adversos de otros factores de riesgo, como presión sanguínea elevada e hiperglucemia.²⁷ Entre los beneficios a la salud debido al ejercicio se encuen-

tran la disminución del riesgo cardiovascular, el control del peso, el incremento de la capacidad funcional, la mayor captación de nutrientes y mejor sueño.^{3,47,48}

A medida que una mayor cantidad de personas de edad avanzada busque la participación en programas del ejercicio, los laboratoristas necesitarán una mejor comprensión de la manera en que el ejercicio afecta los resultados de las pruebas de estos individuos; por ejemplo, el ejercicio afecta los lípidos al reducir los triglicéridos y aumentar el colesterol HDL, la insulina disminuye y la hormona del crecimiento se incrementa.⁴⁷

Se tomarán en cuenta el tipo de ejercicio, la sincronización de la recolección de la muestra y las medicaciones prescritas. La glucosa e insulina, por ejemplo, no responden de la misma manera a diferentes tipos de ejercicio. Ambas permanecen estables en esencia durante ejercicio isométrico con grupos de músculos grandes, en tanto la insulina disminuye durante ejercicio dinámico de intensidad moderada a elevada.⁴⁷ La sincronización de la recolección de la muestra es importante porque la secreción de glucagon se estimula después de ejercicio intenso en pacientes con diabetes tipo 2, lo que ocasiona aumento transitorio de las concentraciones de glucosa durante alrededor de una hora después del ejercicio.⁴⁷

Los problemas nutricionales son frecuentes en pacientes de edad avanzada. Existe un volumen creciente de información sobre las necesidades nutritivas de esta población. Los ancianos están en mayor riesgo de estado nutricional deficiente (p. ej., desnutrición calórica-proteica) en comparación con adultos más jóvenes, como resultado de factores fisiológicos y psicológicos, entre los que se encuentran cambios en el sabor y olor relacionados con la edad; malabsorción causada por medicamentos o cambios en la acidez estomacal; y movilidad, discapacidad, depresión y pobreza.^{46,49,50} Se informa que la incidencia de desnutrición entre residentes de edad avanzada de centros de cuidado de la salud a largo plazo oscila entre 50 y 85%; en hospitales de cuidado intensivo, el porcentaje va de 17 a 65%.⁵¹

Las relaciones entre nutrición, salud general, envejecimiento y enfermedad son importantes y requieren de investigación adicional. Un déficit calórico-proteico quizá conduzca a disminución de la resistencia a la infección y linfopenia. El exceso de calorías da como resultado obesidad y la probabilidad de diabetes tipo 2. Las deficiencias en las vitaminas A, C y E (los antioxidantes) quizá conduzcan a aterosclerosis y aumento del riesgo de cáncer.⁸ Las dietas bajas en fibra tal vez produzcan diverticulitis y cáncer de colon.³

A través de la valoración nutricional, habría la posibilidad de prevenir e identificar deficiencias nutricionales en ancianos, para evitar muchas enfermedades crónicas de envejecimiento y promover una mejor salud.^{38,52,53} En el laboratorio clínico, la valoración nutricional incluye la medición de varias proteínas (p. ej., albúmina, prealbúmina, transferrina y proteína unida con retinol) y las concentraciones vitamínicas. En el capítulo 31, *Vitaminas, grasas esenciales y macronutrientes*, se muestra un análisis detallado sobre la valoración nutricional y las vitaminas.

RESUMEN

En Estados Unidos, la proporción de personas de edad avanzada va en aumento entre la población, lo que cons-

tituye un desafío primordial para el sistema de cuidado de la salud.³⁸ Con este incremento, se volverá cada vez más importante que los laboratoristas clínicos conozcan el proceso de envejecimiento y sus efectos en los resultados de la química clínica.³ Se ha descrito al proceso de envejecimiento como una pérdida de adaptación con disminución en la viabilidad y esperanza de vida. El conocimiento del proceso de envejecimiento y las enfermedades crónicas relacionadas con dicho proceso constituyen la base para comprender los cambios en los valores del laboratorio. Aunque se han descrito teorías del envejecimiento, ninguna es adecuada.

El envejecimiento está relacionado con varios cambios fisiológicos: disminución de la eficiencia en el mantenimiento de la homeostasis; reducción de la masa muscular y descenso de las funciones respiratoria, cardiovascular, renal, hepática, inmunitaria, neurológica y del sistema endocrino. El metabolismo de carbohidratos, proteínas, lípidos y calcio cambia con la edad. En el cuadro 32-4 se muestran los cambios específicos en analitos químicos

seleccionados. Además del conocimiento de los cambios bioquímicos y fisiológicos básicos del envejecimiento, es necesario que los laboratoristas clínicos comprendan otros factores que pudieran afectar los resultados de la prueba de química clínica, que incluyen el establecimiento y la interpretación de los intervalos de referencia, ciertas variables preanalíticas, medicaciones prescritas y los efectos del ejercicio y la nutrición.

Sin embargo, el laboratorista clínico tiene que recordar que el envejecimiento no está determinado por la biología de un individuo o por un marco de tiempo específico. Existe extensa individualidad entre las personas con respecto al ritmo en que ocurre el envejecimiento. Los factores del medio ambiente y sociales también son importantes y desempeñan una función en el proceso de envejecimiento. Con el incremento de la proporción de ancianos en la población, se vuelve aún más importante investigar los aspectos fisiológicos y psicosociales del envejecimiento.

PREGUNTAS DE REPASO

- ¿Cuál de los siguientes analitos del suero permanece esencialmente intacto en adultos ancianos sanos?
 - Triglicéridos.
 - Glucosa.
 - Cloruro.
 - Bilirrubina.
- ¿Cuál de los siguientes constituye un trastorno habitual y subvalorado en ancianos?
 - Hiponatremia.
 - Deshidratación.
 - Amiloidosis.
 - Mieloma múltiple.
- ¿Cuál de las siguientes NO es una de las diez causas principales de muerte en personas mayores de 65 años de edad?
 - Enfermedad de Alzheimer.
 - Neumonía.
 - Diabetes mellitus.
 - Diverticulitis.
- Al interpretar resultados de pruebas de laboratorio en ancianos, los laboratoristas clínicos deben tomar en cuenta todo lo siguiente, EXCEPTO:
 - Medicación múltiple (polifarmacia).
 - Nutrición deficiente o desnutrición.
 - Trastornos subclínicos.
 - Cociente de inteligencia (IQ).
- ¿Cuál de las siguientes teorías de envejecimiento implica la acumulación de productos de desecho que impiden a la célula llevar a cabo sus funciones normales?
 - Teoría de la programación genética.
 - Teoría proteica de la glucación.
 - Teoría del daño genético aleatorio.
 - Teoría del radical libre.

REFERENCIAS

- Liew CC. Biochemical aspects of aging. In: Gornall AG, ed. *Applied Biochemistry of Clinical Disorders*, 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1986:558-565.
- U.S. Bureau of the Census. *Current Population Reports, Special Studies, P23-190, 65+ in the United States*. Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office, 1996.
- Knight JA. *Laboratory Medicine and the Aging Process*. Chicago, IL: American Society of Clinical Pathologists, 1996.
- Resnick NM. Part 1: Introduction to Clinical Medicine. Chapter 9. Geriatric Medicine. Harrison's on-line available at: www.harrisonsonline.com. New York: McGraw-Hill, 1998.
- Strehler BL. A critique of theories of biological aging. In: Dietz AA, ed. *Aging: Its Chemistry*. Washington, D.C.: American Association of Clinical Chemistry, 1980:25-45.
- Gorman LS. Aging: laboratory testing and theories. *Clin Lab Sci* 1995;8:24-30.
- Cearlock DM, Laude-Flaws M. Stress, immune function and the older adult. *Med Lab Observer* 1997;29(10):36-46.
- Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Brit J Cancer* 1972;26:239-257.
- Sulston JE, Horvitz HR. Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Develop Biol* 1977;56:110-156.
- Carson DA, Ribeiro JM. Apoptosis and disease. *Lancet* 1993;341(885):1251-1254.
- Miller SM. Antioxidants and aging. *Med Lab Observer* 1997;29:42-51.
- Etnyre-Zacher P, Isabel JM. The impact of an aging population on the clinical laboratory. *MLO Med Lab Observer* 1997;29(4):48-54.

13. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. Washington, D.C.: AACC Press, 1993.
14. Knight JA. Laboratory issues regarding geriatric patients. *Lab Med* 1997;28(7):458-461.
15. Merry BJ, Holehan AM. Aging of the male reproductive system. In: Timiras PS, ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*, 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994:171-178.
16. Merry BJ, Holehan AM. Aging of the female reproductive system: the menopause. In: Timiras PS, ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*, 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994:147-170.
17. Pincus S, Mulligan T, Iranmanesh A, et al. Older males secrete luteinizing hormone and testosterone more irregularly, and jointly more asynchronously, than younger males. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:14100-14105.
18. Kane RL, Ouslander JG, Abrass IB. *Essentials of Clinical Geriatrics*, 3rd ed. New York: McGraw-Hill, 1994.
19. Meier DE. Osteoporosis and other disorders of skeletal aging. In: Cassel CK, et al, eds. *Geriatric Medicine*, 3rd ed. New York: Springer-Verlag, 1997:411-432.
20. Davies MD, Blizotes M. Osteoporosis: risk factors, diagnosis and therapy. *Lab Med* 1998;29:418-421.
21. Komar L, Nieves J, Cosman F, et al. Calcium homeostasis of an elderly population upon admission to a nursing home. *J Am Geriatr Soc* 1993;41:1057-1064.
22. Perry HM III, Miller DK, Morley JE, et al. A preliminary report of vitamin D and calcium metabolism in older African Americans. *J Am Geriatr Soc* 1993;41:612-616.
23. Timiras PS. Aging of the thyroid gland and basal metabolism. In: Timiras PS, ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*, 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994:179-189.
24. Simons RJ, Demers LM. Thyroid disorders in the elderly. In: Faulkner WR, Meites S, eds. *Geriatric Clinical Chemistry: Reference Values*. Washington, D.C.: AACC Press, 1994:103-116.
25. Timiras PS. The endocrine, pancreas and carbohydrate metabolism. In: Timiras PS, ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*, 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994:191-197.
26. Timiras PS. Aging of the adrenals and pituitary. In: Timiras PS, ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*, 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994:133-146.
27. Timiras PS. Cardiovascular alterations with age: atherosclerosis, coronary heart disease, hypertension. In: Timiras PS, ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*, 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994:199-214.
28. Tietz NW, Shuey DF, Wekstein DR. Laboratory values in fit aging individuals: sexagenarians through centenarians. In: Faulkner WR, Meites S, eds. *Geriatric Clinical Chemistry: Reference Values*. Washington, D.C.: AACC Press, 1994:145-184.
29. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Banting lecture* 1988. *Diabetes* 1988;37:1595-607.
30. American Diabetes Association. Consensus Development Conference on Insulin Resistance. November 5-6, 1997. *Diabetes Care* 1998;21:310-314.
31. Karter AJ, Mayer-Davis EJ, Selby JV, et al. Insulin sensitivity and abdominal obesity in African-American, Hispanic, and non-Hispanic white men and women. The Insulin Resistance and Atherosclerosis Study. *Diabetes* 1996;45:1547-1555.
32. Wautier JL, Guillausseau PJ. Advanced glycation end products, their receptors and diabetic angiopathy (review). *Diabetes Metab (Paris)* 2001;27:535-542.
33. Ruan H, Hachohen N, Golub TR, et al. Tumor necrosis factor-alpha suppresses adipocyte-specific genes and activates expression of pre-adipocyte genes in 3T3-L1 adipocytes: nuclear factor-kappa B activation by TNF-alpha is obligatory. *Diabetes* 2002;51:1319-1336.
34. Timiras ML. The kidney, the lower urinary tract, the prostate, and body fluids. In: Timiras PS, ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*, 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994:235-246.
35. Rowe JW, Kahn RL. *Successful Aging*. New York: Pantheon Books, 1998.
36. Timiras PS. Aging of the gastrointestinal tract and liver. In: Timiras PS, ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*, 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994:247-257.
37. Timiras PS. Aging of respiration, erythrocytes, and the hematopoietic system. In: Timiras PS, ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*, 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994:225-233.
38. Institute for Health and Aging Report. University of California, San Francisco. *Chronic Care in America: A 21st Century Challenge*. Princeton, NJ: Robert Wood Johnson Foundation, 1996. (Best-Assembly@worldnet.att.net)
39. Sasse EA. The determination of reference intervals. In: Faulkner WR, Meites S, eds. *Geriatric Clinical Chemistry: Reference Values*. Washington, D.C.: AACC Press 1994:6-17.
40. NCCLS Approved Guideline. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1995.
41. Young DS. Pre-analytical variability in the elderly. In: Faulkner WR, Meites S, eds. *Geriatric Clinical Chemistry: Reference Values*. Washington, D.C.: AACC Press, 1994:19-39.
42. Klosinski DD. Collecting specimens from the elderly patient. *Lab Med* 1997;28(8):518-522.
43. Bloom HG, Shlom EA. *Drug Prescribing for the Elderly*. New York: Raven Press, 1993.
44. Beizer JL, Timiras ML. Pharmacology and drug management in the elderly. In: Timiras PS, ed. *Physiological Basis of Aging and Geriatrics*, 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1994:279-284.
45. Warner A. Therapeutic drug monitoring in the elderly. In: Faulkner WR, Meites S, eds. *Geriatric Clinical Chemistry: Reference Values*. Washington, D.C.: AACC Press, 1994:134-144.
46. Shephard RJ. The scientific basis of exercise prescribing for the very old. *J Am Geriatr Soc* 1990;38:62-70.
47. Cearlock DM, Nuzzo NA. Evaluating the benefits and hazards of exercise in the older adult. *Med Lab Observer* 1997;29(6):40-49.
48. Holloszy JO. Health benefits of exercise in middle-aged and older people. In: Kotsonis FN, Mackey MA, eds. *Nutrition in the '90s: Current Controversies and Analysis*. New York: Marcel Dekker, 1994:81-97.
49. Blair SN. Physical activity, fitness, and health. In: Kotsonis FN, Mackey MA, eds. *Nutrition in the '90s: Current Controversies and Analysis*. New York: Marcel Dekker, 1994:61-79.
50. Ham RJ. The signs and symptoms of poor nutritional status. In: Ham JR, ed. *Primary Care: Nutrition in Old Age*. Philadelphia: WB Saunders, 1994:33-54.
51. Garry PJ. Nutrition and aging. In: Faulkner WR, Meites S, eds. *Geriatric Clinical Chemistry: Reference Values*. Washington, D.C.: AACC Press, 1994:48-72.
52. Miller SM. Nutrition, the elderly, and the laboratory. *Med Lab Observer* 1997;29(3):23-30.
53. Gallagher-Allred CR, Emley S. Specific dietary interventions: diabetes, osteoporosis, renal disease. In: Ham JR, ed. *Primary Care: Nutrition in Old Age*. Philadelphia: WB Saunders, 1994:175-89.

Química clínica pediátrica

Michael J. Bennett

CAPÍTULO

33

CONTENIDO DEL CAPÍTULO

- CAMBIOS EN EL DESARROLLO DEL NEONATO AL ADULTO
 - Respiración y circulación
 - Crecimiento
 - Desarrollo orgánico
 - Problemas de premadurez e inmadurez
- FLEBOTOMÍA Y ELECCIÓN DE LA INSTRUMENTACIÓN PARA MUESTRAS PEDIÁTRICAS
 - Flebotomía
 - Aspectos preanalíticos
 - Elección del analizador
- ANÁLISIS EN LOS PUNTOS DE ATENCIÓN EN PEDIATRÍA
- REGULACIÓN DE LOS GASES SANGUÍNEOS Y DEL pH EN NEONATOS E INFANTES
 - Medición del gas sanguíneo y acidobase
- REGULACIÓN DE LOS ELECTRÓLITOS Y DEL AGUA: FUNCIÓN RENAL
 - Trastornos que afectan el equilibrio electrolítico y del agua
- DESARROLLO DE LA FUNCIÓN HEPÁTICA
 - Ictericia fisiológica
 - Metabolismo energético
 - Diabetes
 - Metabolismo del nitrógeno
 - Productos nitrogenados finales como marcadores de la función renal
 - Pruebas de la función hepática
- CALCIO Y METABOLISMO ÓSEO EN PEDIATRÍA
 - Hipocalcemia e hipercalcemia
- FUNCIÓN ENDOCRINA EN PEDIATRÍA
 - Secreción hormonal
 - Sistema hipotalámico-hipofisario-tiroideo
 - Sistema hipotalámico-hipofisario-corteza suprarrenal
 - Factores del crecimiento
 - Control endocrino de la maduración sexual
- DESARROLLO DEL SISTEMA INMUNITARIO
 - Conceptos básicos de inmunidad
 - Componentes del sistema inmunitario
 - Producción de anticuerpos en neonatos y lactantes
 - Trastornos de la inmunidad
- ENFERMEDADES GENÉTICAS
 - Fibrosis quística
 - Valoración del recién nacido en poblaciones completas
 - Diagnóstico de enfermedad metabólica en clínica
- METABOLISMO DE FÁRMACOS Y FARMACOCINÉTICA
 - Monitoreo terapéutico del fármaco
 - Problemas toxicológicos en química clínica pediátrica
- RESUMEN
- PREGUNTAS DE REPASO
- REFERENCIAS

OBJETIVOS

Al completar este capítulo, el laboratorista clínico podrá:

- Definir los cambios de adaptación que ocurren en el recién nacido.
- Describir los cambios del desarrollo que ocurren durante la niñez.
- Analizar los problemas relacionados con la recolección de sangre en niños pequeños.
- Comprender el papel de las pruebas en el punto de atención en el entorno pediátrico.
- Resumir los cambios que ocurren en niños con respecto al equilibrio electrolítico y del agua, la

función endocrina, la función hepática y el metabolismo óseo.

- Explicar de qué manera el tratamiento de fármacos y la farmacocinética diferencian entre niños y adultos.
- Analizar los procedimientos usados para diagnosticar enfermedades metabólicas hereditarias.
- Describir el desarrollo y los trastornos del sistema inmunitario.

TÉRMINOS CLAVE

Crecimiento
Desarrollo fisiológico
Enfermedad genética

Espectrometría de masas
en tándem
Inmunidad

Madurez sexual
Metabolismo del
fármaco

Pruebas en el punto
de atención
Sistema endocrino

CAMBIOS EN EL DESARROLLO DEL NEONATO AL ADULTO

La medicina del laboratorio pediátrico proporciona muchas oportunidades únicas para estudiar la manera en que evolucionan los mecanismos fisiológicos y homeostáticos que controlan el desarrollo humano normal. Con estas opciones para estudiar el desarrollo, surge un conjunto por completo nuevo de desafíos, muchos basados en la insuficiencia de algún componente del proceso del desarrollo normal y la enfermedad resultante. Con esto en mente, se hace evidente que el ambiente para el laboratorista pediátrico es diferente al encontrado en la práctica con adultos, en la que el *desarrollo fisiológico* no constituye un aspecto primordial. Por tanto, las enfermedades observadas en la práctica pediátrica difieren en gran medida de aquellas que se detectan en adultos. Más aún, la naturaleza del tamaño corporal y, de igual manera, el volumen sanguíneo disponible crean problemas adicionales para el análisis con respecto a la elección de la instrumentación y el menú de pruebas.

El reto pediátrico más importante se relaciona con el nacimiento de un infante. En ese momento existe el requerimiento de una rápida adaptación de la vida intrauterina, en la que la homeostasis se conserva por medios placentarios y maternos, al automantenimiento necesario para la adaptación a la vida extrauterina. Los problemas relacionados con esta adaptación se complican aún más por el estado prematuro o el retraso en el crecimiento intrauterino (RCI), cuando muchos sistemas orgánicos no alcanzan la madurez suficiente para habilitar al recién nacido para adaptarse a los cambios necesarios al momento del parto.¹

Respiración y circulación

Al nacer, el lactante normal se adapta con rapidez al iniciar la respiración activa. Entre los estímulos para comenzar este proceso se encuentran el pinzamiento del ombligo, el cortado del suministro materno de oxígeno y la primera respiración del bebé. El inicio de la respiración requiere la expresión normal de surfactante en los pulmones. El surfactante es necesario para la expansión y contracción normales de los alveolos, y permite que tenga lugar el intercambio gaseoso.

El comienzo de la respiración y expansión del volumen pulmonar causa aumento del flujo sanguíneo pulmonar y reduce la presión sanguínea. Esto, a su vez, ocasiona el cierre de los conductos arteriosos y cambio en el flujo sanguíneo a través del corazón que permite que la sangre recién oxigenada de los pulmones se dirija a través del lado izquierdo del corazón hacia el cuerpo. El flujo sanguíneo ahora va del lado derecho del corazón hacia los pulmones para la oxigenación. El cierre de los conductos arteriosos es esencial para que ocurra este proceso.

Crecimiento

Un bebé normal que nace a término pesa cerca de 3.2 kg. Un bebé que pesa menos de 2.5 kg a término se le considera pequeño para la edad gestacional (PEG), lo que por lo general es resultado de RCI. A los bebés de bajo peso que nacen antes de término se les considera prematuros. En los primeros días de vida, la pérdida de peso se origina por pérdida de agua insensible a través de la piel. Por lo general, esto es compensado por ganancia de peso de 6 g/kg por día cuando se inicia la alimentación. El peso corporal del lactante se duplicará en cuatro a seis meses. Los bebés prematuros tienden a desarrollarse a un ritmo lento, y a menudo pesan aún menos que un bebé a término al equivalente de éste.

Desarrollo orgánico

La mayor parte de los órganos no están desarrollados por completo al nacer. La tasa de filtración glomerular del riñón y la función tubular renal maduran durante el primer año de vida, en el cual los marcadores de laboratorio indican valores de adulto aproximados de la función renal. La maduración completa de la función hepática llega a tardar de dos a tres meses. La función motora y la agudeza visual se desarrollan durante el primer año de vida. Este desarrollo se acompaña por cambios en el electroencefalograma hasta que se observa el cuadro del "adulto" normal. Existen cambios importantes en la hematopoyesis a medida que tiene lugar el cambio de la hemoglobina fetal a la adulta. Esto coincide con hiperbilirrubinemia importante cuando la hemoglobina fetal que se degrada es coincidente con vías hepáticas inmaduras del metabolismo de la bilirrubina. El crecimiento óseo de las fases de crecimiento rápido en los primeros años de vida y en la pubertad ocasiona cambios cíclicos en los marcadores del crecimiento óseo. La *madurez sexual* produce cambios endocrinos importantes, en particular en la ruta hormonal hipotálamica-hipofisaria-gonadal, lo que conduce al desarrollo constitutivo de las características sexuales secundarias del adulto y finalmente a las del adulto.

Problemas de premadurez e inmadurez¹

El desarrollo intrauterino está programado para una gestación normal de 38 a 40 semanas. Muchos órganos no están por completo preparados para tratar con la vida extrauterina antes de ese tiempo. Esta inmadurez orgánica ocasiona muchos de los problemas clínicos que están relacionados con el nacimiento prematuro, que incluyen dolor respiratorio (inmadurez pulmonar), desequilibrio electrolítico y de agua (inmadurez renal) e ictericia excesiva (inmadurez hepática). Los lactantes que nacen antes de la fecha adecuada constituyen un problema importante

en el laboratorio. No sólo presentan parámetros bioquímicos anormales que requieren extracciones sanguíneas frecuentes, sino que también tienen volúmenes sanguíneos pequeños disponibles para dicho efecto.

FLEBOTOMÍA Y ELECCIÓN DE LA INSTRUMENTACIÓN PARA MUESTRAS PEDIÁTRICAS

Flebotomía

La recolección de sangre de lactantes y niños pequeños es complicada debido al tamaño del paciente, y a menudo por la aptitud del mismo para comunicarse con el flebotomista. El volumen sanguíneo pequeño de pacientes pequeños establece tanto la cantidad de pruebas que es posible realizar en forma segura en el paciente como el número de veces que se extraerá la sangre de manera segura para repetir análisis.² En el cuadro 33-1 se muestra el porcentaje de sangre corporal total que se obtiene de un individuo con una extracción de 10 ml. Este volumen es estándar en medicina de laboratorio para adultos, pero en el cuadro se observa con claridad que esta cantidad de sangre representa cerca de 5% del volumen total en un neonato prematuro. Desde luego, las tomas sanguíneas frecuentes de esta naturaleza conducirán de inmediato a anemia y la necesidad de una transfusión sanguínea. En el cuadro 33-2 se muestran las pautas para la recolección del volumen sanguíneo desarrolladas por el Centro Médico Infantil de Dallas. En ocasiones, es necesario advertir al médico que un conjunto particular de pedidos quizá ocasionará agotamiento sanguíneo excesivo y requerimiento de transfusión.

Los lactantes y niños tienen venas más pequeñas que los adultos; para asegurar que las venas pequeñas no se colapsen, por lo general se utilizan agujas de calibre pequeño para la punción. Agujas de menor calibre incrementan el riesgo de hemólisis e hiperpotasemia.

Con frecuencia, resulta imposible obtener un acceso adecuado a las venas en un paciente pediátrico con líneas intravenosas y centrales instauradas. Cuando no se dis-

CUADRO 33-1. IMPLICACIONES DE LA EXTRACCIÓN SANGUÍNEA DE 10 ml EN UNA POBLACIÓN INFANTIL

EDAD	PESO (kg)	VOLUMEN SANGUÍNEO TOTAL (%)
26 semanas de gestación	0.9	9.0
32 semanas de gestación	1.6	5.5
34 semanas de gestación	2.1	4.0
Término	3.4	2.5
3 meses	5.7	2.0
6 meses	7.6	1.6
12 meses	10.1	1.4
24 meses	12.6	1.0

CUADRO 33.2. VOLÚMENES RECOMENDADOS PARA LA EXTRACCIÓN SANGUÍNEA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS^a

PESO (lb)	VOLUMEN POR CASO (ml)	VOLUMEN POR HOSPITALIZACIÓN (ml)
<2	1.0	8
2 a 4	1.5	12
4 a 6	2.0	17
6 a 8	2.5	23
8 a 10	3.5	30
10 a 15	5.0	40
15 a 20	10	60
20 a 25	10	70
25 a 30	10	80
30 a 35	10	100
35 a 40	10	130
40 a 45	20	140

^aCentro Médico Infantil de Dallas, Dallas, Tx.

pone de venas convenientes, suelen recolectarse muestras capilares. Éstas, sea por punzado del talón o del dedo pulgar, se obtendrán por flebotomistas con experiencia pediátrica. Habrá que calentar y puncionar de manera adecuada el talón para "arterializar" los capilares. Es posible lograr esto por frotación ligera del área o por inmersión en agua caliente. La perforación con bisturí será en un área del talón alejada del hueso. La punción del hueso da como resultado osteomielitis. La presión o extracción excesiva en el sitio del bisturí tal vez ocasione hemólisis e hiperpotasemia facticia debido a la filtración del líquido tisular.

Aspectos preanalíticos

Existe una tendencia creciente hacia la automatización frontal completa en los laboratorios de química clínica. La ventaja clara de la automatización del manejo de la muestra es que se eliminan los cuellos de botella tradicionales en los sitios de ingreso de datos y centrifugación, y se reducen los tiempos de respuesta. Varios problemas retrasaron la introducción de la automatización pediátrica. Un laboratorio químico pediátrico típico recibe muestras en tubos de muchos tamaños diferentes, que varían de tubos estándar para adultos a "peditubos" pequeños. Hasta el momento, no se han desarrollado sistemas automatizados que controlen este rango de tubos.

Un segundo problema importante se relaciona con la evaporación de la muestra de tubos abiertos. La mayor parte de los sistemas automatizados de manejo de muestras requieren tubos con la parte superior abierta para su procesamiento. Con volúmenes grandes de muestras, el efecto de la evaporación es mínimo. Con volúmenes pequeños que tienen áreas de superficie relativamente grandes para el volumen total, es posible que la evaporación sea importante y afecte los resultados hasta en un 10%.

Elección del analizador

La inspección y selección cuidadosa de los sistemas analíticos sigue siendo crucial para el manejo de las muestras pediátricas. Hasta fecha reciente, sólo unos cuantos analizadores eran capaces de realizar varios procedimientos analíticos en volúmenes pequeños de muestra (5 a 50 µl). Hoy en día, la mayor parte de los analizadores desempeñan esta función. La elección del analizador se volvió dependiente de cuestiones como:

1. ¿Cuánto volumen muerto existe en el sistema? Cuanto menor volumen muerto, mayor cantidad de pruebas será posible realizar.
2. ¿La detección de un coágulo o burbuja permite la recuperación de la muestra? Todos los analizadores detectan coágulos, pero no todos permiten la recuperación de la muestra.
3. ¿Realmente el sistema es de acceso aleatorio? Esto permite selectividad de opciones para una muestra dada.

Por lo general, el tiempo de procesamiento de la muestra no es tanto un problema, en la medida en que en las instalaciones pediátricas se tienda a obtener menos muestras que en los ocupados servicios para adultos.

ANÁLISIS EN LOS PUNTOS DE ATENCIÓN EN PEDIATRÍA³

Las *pruebas en el punto de atención* (PPDA), o pruebas cerca del paciente, desempeñan un papel importante y en expansión en la práctica pediátrica. Los dispositivos de las pruebas que son portátiles y fáciles de usar, requieren un volumen de muestra pequeño, no necesitan preparación de ésta y proporcionan resultados rápidos a un costado de la cama, y se suministran al momento para incrementar las PPDA.

Para proporcionar rentabilidad y aseguramiento de la calidad para las PPDA, es necesario abordar varios factores.

1. ¿El analito realmente requiere tiempo de respuesta inmediato para el control óptimo del paciente? Se empieza a disponer de analizadores que miden cantidades crecientes de diferentes analitos al lado de la cama del paciente. Por lo general, el costo de la medición de PPDA es mayor que la medición del laboratorio tradicional. La idea de resultados instantáneos es tan seductora que los usuarios no laboratoristas a menudo ignoran los factores económicos. En la institución del autor de este libro, el laboratorio clínico juega un papel preponderante al determinar cuáles análisis de PPDA estarán disponibles y en cuál situación clínica tienen valor real (cuadro 33-3).
2. ¿Quién elige el dispositivo de PPDA? Puesto que el campo de PPDA se está expandiendo, la cantidad de dispositivos en el mercado también aumenta. El laboratorio clínico constituirá el sitio en que se evalúen por primera vez los dispositivos de PPDA para uso institucional. El laboratorio realizará selecciones en cuanto a la instrumentación. Entre las características importantes de un buen dispositivo de PPDA se incluyen las siguientes:
 - La capacidad para bloquear a los usuarios sin preparación. Sólo se permitirá acceso a individuos acreditados para el uso del dispositivo a través de un código personal.

CUADRO 33-3. PRUEBAS PEDIÁTRICAS EN EL PUNTO DE ATENCIÓN IMPORTANTES Y SITIOS DE ANÁLISIS

Pruebas

Gas sanguíneo

Electrólitos

Glucosa

Tiempo de coagulación activado

Hemoglobina

Hemoglobina glucada

Embarazo

Urianálisis

Tiempo de protrombina

Estreptococos rápidos

Sitios de análisis

Unidad de cuidado coronario/unidad de cuidado intensivo

Unidad de traumatismo/urgencias

Clínica de diabetes

Transporte

Cirugía

Sitios de oxigenación de membrana extracorporeal

- No se permitirá que el dispositivo pase al análisis de la muestra del paciente sin ejecutar y validar los procedimientos de aseguramiento de la calidad apropiados.
- Posibilidad de descargar los datos en el sistema de información de laboratorio (SIL) del hospital para su evaluación por parte del responsable del aseguramiento de la calidad del hospital. Además, la descarga de los datos permitirá el registro y la entrada de datos en las gráficas de evolución del paciente, funciones que se pierden con rapidez cuando se utilizan analizadores que no se vinculan con el SIL.

Los datos generados por dispositivos de PPDA tienen limitaciones. La interpretación analítica típica no es tan buena como el analizador de laboratorio principal. Los datos de PPDA son menos precisos y no son adecuados para monitorear la terapia en circunstancias donde los cambios pequeños son importantes. El rango lineal de la mayor parte de los dispositivos de PPDA no es tan amplio como el analizador químico principal. Es necesario que los usuarios sean conscientes de estas limitaciones. Un ejemplo primordial en la institución del autor es el uso de analizadores de PPDA de glucosa. El instrumento usado para el control diabético agudo pierde linealidad por arriba de los 400 mg/dl, en particular en pacientes que son hemoconcentrados. El autor recomienda que cualquier concentración de glucosa de PPDA por arriba de los 400 mg/dl se verifique de inmediato en el laboratorio central. La hipoglucemia también es bastante frecuente en pediatría y suele ser difícil de cuantificar con precisión a través de dispositivos de PPDA. Además, las concentraciones bajas de glucosa se verificarán con un analizador del laboratorio central más sensible.

REGULACIÓN DE LOS GASES SANGÜÍNEOS Y DEL pH EN NEONATOS E INFANTES

El mantenimiento primario de la homeostasis del gas sanguíneo y del pH después del nacimiento requiere que los pulmones y riñones estén lo bastante maduros para regular el metabolismo ácido y base. Alrededor de las 24 semanas de gestación, el pulmón expresa dos distintos tipos de células: neumocitos tipo 1 y tipo 2. Los neumocitos tipo 2 son responsables de la secreción de surfactante, que contiene la lecitina y esfingomielina de fosfolípidos. El surfactante es necesario para la expansión de los pulmones y la transferencia de gases sanguíneos después del parto. El oxígeno atraviesa la circulación y el dióxido de carbono se elimina y espira. La inmadurez del sistema surfactante como resultado de estado prematuro o RCI ocasiona síndrome del dolor respiratorio (SDR). En este último, hay insuficiencia para excretar dióxido de carbono y, como resultado, los valores de CO_2 aumentan, lo que causa acidosis respiratoria. Las concentraciones de oxígeno son bajas y producen requerimientos adicionales de oxígeno para el bebé.

Las cantidades relativas de lecitina y esfingomielina son críticas para la función normal del surfactante. La medición de lecitina/esfingomielina del líquido amniótico (índice L/E) se ha utilizado por muchos años para predecir la madurez pulmonar fetal. A un índice menor de 1.5 se le considera indicativo de deficiencia de surfactante.

La prueba de la fibronectina fetal es una nueva prueba promisorio diseñada para determinar la probabilidad de parto prematuro y riesgo de madurez fetal.⁴ La fibronectina es una proteína secretada sólo por el feto; hacia el término, se encuentra en el líquido cervical materno. Se encuentra disponible un dispositivo de PPDA, que está diseñado para su uso en el consultorio del obstetra. Posee elevado valor de predicción de parto temprano inminente del bebé y es posible emplearlo para alertar al pediatra del potencial de SDR.

El traumatismo y la anoxia relativa durante el parto inducen, también, acidosis en el recién nacido. Por lo general, se trata de acidosis metabólica relacionada con incremento en la producción de ácido láctico. En esta situación, las concentraciones de bicarbonato sérico son reducidas en comparación con la acidosis respiratoria en presencia de SDR. La acidosis metabólica persistente en el recién nacido que es difícil de corregir con reemplazo de bicarbonato constituye una indicación de evaluación adicional intensa para detectar posible error innato del metabolismo u otras etiologías que requieren diferenciación (cuadro 33-4).

La alcalosis es inusual en pediatría. Una causa importante es la hiperamonemia, la cual puede ser secundaria a algunas etiologías, incluyendo enfermedad hepática y errores del metabolismo en el recién nacido (cuadro 33-4).

Medición del gas sanguíneo y acidobase

Es posible medir con facilidad el estado de oxígeno a través del monitoreo transcutáneo no invasor. Está demostrada la buena correlación entre la presión arterial de

CUADRO 33-4. CAUSAS DE ACIDOSIS Y ALCALOSIS EN NEONATOS Y LACTANTES

ACIDOSIS RESPIRATORIA	HIPOVENTILACIÓN/RETENCIÓN DE CO_2
Acidosis metabólica	Pérdida de bicarbonato tubular renal
	Anoxia
	Perfusión tisular deficiente
	Enfermedad metabólica
Alcalosis respiratoria	Hiperventilación
	Amoniaco sanguíneo elevado/enfermedad metabólica
Alcalosis metabólica	Estenosis pilórica/pérdida de ácido gástrico
	Administración excesiva de bicarbonato
	Potasio sanguíneo bajo

oxígeno y la medición transcutánea. Los monitores de CO_2 transcutáneos también se utilizan de manera extensa. La medición del estado acidobase requiere el muestreo sanguíneo. La mayor parte de los analizadores de gas sanguíneo/acidobase se adaptan para la obtención de muestras capilares pequeñas, que se recolectan de manera rutinaria en situaciones pediátricas. Es importante que la persona que extraiga la sangre capilar lo haga en forma anaeróbica, lo que requiere el calentamiento completo del sitio capilar y la recolección de una muestra sanguínea de flujo libre a partir de una perforación con bisturí. Se debe sellar la muestra para asegurar un mínimo intercambio de gas. El análisis se realizará de inmediato para no afectar la integridad de la muestra. En el laboratorio donde labora el autor de este libro se mantiene un objetivo de tiempo de respuesta de 10 min a partir de la recepción de la muestra.

La mayoría de los analizadores de gas sanguíneo miden PO_2 , PCO_2 , y el pH por electrodos del ion específico y calculan la concentración del bicarbonato por la ecuación de Henderson-Hasselbalch. Ésta es menos válida cuando el pH está lejano, fuera del rango fisiológico normal (acidosis o alcalosis extrema). En esas ocasiones, puede volverse importante medir la concentración de bicarbonato usando una medición directa.

En años recientes se han mejorado muchos analizadores de gas sanguíneo para medir analitos adicionales, entre los que se incluyen sodio, potasio y cloruro sanguíneos, a través de electrodos específicos del ion y lactato y urea. La principal ventaja de este tipo de analizador en pediatría es que se puede utilizar sangre entera. Por lo general, los volúmenes son más pequeños que los que se requieren para el analizador químico central, y la falta de necesidad de centrifugación acorta el tiempo de respuesta. Una desventaja del uso de sangre entera es que el analista no puede detectar si una muestra está hemolizada.

CUADRO 33-5. DESARROLLO DE LA FILTRACIÓN GLOMERULAR EN EL RECIÉN NACIDO

EDAD	ÍNDICE DE FILTRACIÓN GLOMERULAR (ml/min por 1.73 m ² MEDIA)	RANGO
1 día	24	3 a 38
2 a 8 días	38	17 a 60
10 a 22 días	50	32 a 68
37 a 95 días	58	30 a 86
1 a 2 años	115	95 a 135 ^a

^aValores de adultos.

REGULACIÓN DE LOS ELECTRÓLITOS Y DEL AGUA: FUNCIÓN RENAL

A partir de la semana 35 de gestación, los riñones fetales se desarrollan con rapidez en preparación para la vida extrauterina.¹ Los riñones, órganos críticos para el mantenimiento de la homeostasis electrolítica y del agua, controlan la proporción de pérdida y retención de sal y agua. Al término, ni los glomérulos ni los túbulos renales funcionan al ritmo normal. El índice de filtración glomerular es de alrededor de 25% del que se observa en niños más grandes y no alcanza potencial completo hasta los 2 años de edad (cuadro 33-5). La función tubular también se desarrolla a un ritmo similar. La eficacia de concentración máxima del riñón sólo es de alrededor de 78% de la del riñón de adultos en este momento, aunque la respuesta tubular a la hormona antidiurética al parecer es normal. Este proceso gradual del desarrollo renal en el recién nacido ocasiona disminución de la filtración y alteración de la reabsorción de sal y agua; por tanto, en el periodo de recién nacido e infancia temprana, se observan grandes cambios en los valores electrolíticos séricos. Estos problemas se exacerban en el lactante pretérmino con la función renal, que incluso es menos madura.

Además, los riñones mantienen de manera primaria la pérdida y retención de agua. Sin embargo, en el periodo de recién nacido, la pérdida insensible de agua a través de la piel también es causa importante del desequilibrio de agua y electrolitos. La pérdida de agua y la consecuente hemoconcentración a menudo se originan por el uso de calentadores radiantes que se emplean para mantener la temperatura corporal. Asimismo, ocurre incremento de la pérdida de agua a través de la respiración en niños con SDR. A través de esta vía llega a presentarse hasta una tercera parte de la pérdida insensible de agua. El contenido de agua corporal total de un recién nacido es de alrededor de 80%; 55% es líquido intracelular y 45%, líquido extracelular. El agua extracelular es 20% agua de plasma y 80% intersticial. Durante el primer mes de vida extrauterina, el contenido de agua corporal total disminuye cerca de 60%, sobre todo como resultado de la pérdida del componente intersticial.¹

Trastornos que afectan el equilibrio electrolítico y del agua

En el cuadro 33-6 se enumeran las causas de hipernatremia (sodio, >145 meq/L) e hiponatremia (sodio, <130 meq/L). Ambos trastornos llegan a presentar resultados

nefastos, con riesgo elevado de ataques. Esto es resultado del cambio de agua dentro o fuera de las células cerebrales, con reducción o expansión concurrente de estas células. La hipernatremia se origina por pérdida de líquido hipertónico. La hiponatremia se debe, también, a contenido excesivo de agua corporal y es necesario distinguirla de la pérdida hipertónica. La evaluación clínica y la medición de otros componentes, como el hematócrito, la albúmina sérica, la creatinina y el nitrógeno de la urea sanguínea, se utilizan para diferenciar estas etiologías. Todos estos componentes serán elevados con hemoconcentración. Desde el punto de vista clínico, en condiciones normales es posible distinguir la deshidratación de la hidratación excesiva.

El tratamiento de la pérdida de electrolitos y agua se dirige al reemplazo de la pérdida para recobrar los valores fisiológicos normales. Se debe tener cuidado de evitar un reemplazo demasiado apresurado, en particular en la deshidratación hipertónica. Si el reemplazo de agua se realiza muy rápido, tal vez ocurra expansión rápida del volumen celular neuronal, lo que ocasiona ataques.

Las causas de la hiperpotasemia e hipopotasemia se muestran en el cuadro 33-7. Los síntomas de la hiperpotasemia (potasio sérico, >6.5 meq/L) comprenden debilidad muscular y defectos en la conducción cardíaca que quizá produzcan insuficiencia cardíaca. En pediatría, es muy importante reconocer la hiperpotasemia artificial como resultado de hemólisis y recolección sanguínea capilar deficiente, sin hemólisis pero con filtración elevada de potasio tisular.

Debido a que la situación con respecto a la homeostasis electrolítica y del agua puede cambiar con rapidez en infantes pequeños, es importante monitorear con frecuencia la intervención terapéutica.^{1,2} La disponibilidad de dispositivos de PPDA en los que se usan volúmenes pequeños

CUADRO 33-6. CAUSAS DE LA HIPERNATREMIA E HIPONATREMIA

Hipernatremia

Pérdida excesiva de agua a través de calentamiento radial elevado

Pérdida de fluido gastrointestinal

Suspensión de líquidos

Pérdida renal de agua/diabetes insípida nefrogénica

Administración de líquidos hipertónicos que contienen sodio

Hiponatremia

Secreción inapropiada de ADH debido a traumatismo o infección

Administración de líquidos hipotónicos

Acidosis tubular renal

Hiperplasia suprarrenal congénita con pérdida de sal (deficiencia de 21-hidroxilasa)

Fibrosis quística

Diuréticos

Insuficiencia renal

CUADRO 33-7. CAUSAS DE HIPERPOTASEMIA E HIPOPOTASEMIA

Hiperpotasemia

Suspensión de líquidos/deshidratación que causa filtración tisular

Hemorragia intravascular que causa liberación de células rojas

Traumatismo/daño tisular

Insuficiencia renal aguda

Hiperplasia suprarrenal con pérdida de sal (véase hiponatremia)

Transfusión de intercambio que usa sangre almacenada

Hipopotasemia

Secreción inapropiada de ADH

Diuréticos, en particular frusemida

Alcalosis

Estenosis pilórica

Acidosis tubular renal secundaria a la pérdida de bicarbonato

de sangre entera ayuda al control de estos desequilibrios, con la única advertencia de que es imposible detectar hemólisis e hiperpotasemia artificial en una muestra de sangre entera.

DESARROLLO DE LA FUNCIÓN HEPÁTICA

Ictericia fisiológica

El hígado es un órgano esencial para muchos procesos metabólicos. El procesamiento de muchas vías metabólicas normales y el metabolismo de compuestos exógenos, en particular de agentes farmacológicos, es más lento en neonatos. El efecto más destacado de un hígado inmaduro, incluso en un bebé normal a término, es la incapacidad para metabolizar de manera adecuada bilirrubina. Ésta constituye un intermediario de la degradación de las moléculas hemo, que se acumulan a medida que la hemoglobina fetal se destruye y reemplaza con rapidez por la hemoglobina del adulto. En condiciones normales, el hígado conjuga bilirrubina con ácido glucurónico a través de la enzima bilirrubina UDP-glucuroniltransferasa. La bilirrubina conjugada se excreta con rapidez en la bilis o a través de los riñones. En el nacimiento, esta enzima es demasiado inmadura para completar el proceso y se producen concentraciones elevadas de bilirrubina no conjugada e ictericia "fisiológica". En este momento, un bebé normal tendrá un valor de bilirrubina sérica por arriba de 15 mg/dl, la mayor parte sin conjugar. Este valor, que sería alarmante en la práctica con adulto, regresará al límite basal alrededor de los 10 días de edad. Debido a que es posible que la ictericia excesiva conduzca a kernícterus y ocasione daño cerebral grave, la medición de la bilirrubina sanguínea conjugada y sin conjugar tiene un papel importante en pediatría. Un medio alternativo para reducir los valores elevados de bilirrubina circulante no conjugada es la fototerapia con luz

ultravioleta, que hace que la bilirrubina se convierta a un metabolito potencialmente menos tóxico y que se excrete con mayor rapidez. En varios casos se requerirá transfusión de intercambio. La ausencia completa de la enzima que conjuga bilirrubina produce ictericia grave persistente y la enfermedad de Crigler-Najjar, una *enfermedad genética* rara. Es importante diferenciar la enfermedad de Crigler-Najjar de la inmadurez fisiológica debido a que las opciones de tratamiento varían en gran medida.

Metabolismo energético

El hígado desempeña un papel esencial en el metabolismo energético de todo el cuerpo (cuadro 33-8). Los carbohidratos provenientes de la dieta, como disacáridos o polisacáridos, conforman la mayor parte de las fuentes de energía. Se degradan en monosacáridos simples, que alcanzan el hígado a través del sistema sanguíneo portal. Los azúcares primarios de recién nacidos e infantes provienen de la degradación del disacárido lactosa de la leche. La lactosa se descompone en glucosa y galactosa. Cuando llega a los hepatocitos, la galactosa se convierte a glucosa por una serie de reacciones enzimáticas que tiene importancia pediátrica única. La deficiencia genética de cualquiera de las reacciones ocasiona insuficiencia para convertir galactosa a glucosa, y reduce en esencia el contenido energético de la leche en 50%. La causa más frecuente de insuficiencia para convertir galactosa a glucosa produce galactosemia o deficiencia de galactosa-1-fosfato uridiltransferasa, una enfermedad genética importante del recién nacido. En esta enfermedad, se acumula galactosa-1-fosfato en las células hepáticas, lo que causa daño hepatocelular en insuficiencia hepática rápida. Otros órganos también se ven afectados por esta enfermedad, entre los que se incluyen los túbulos renales y ojos. La acumulación de la galactosa-1-fosfato causa insuficiencia tubular renal

CUADRO 33-8. PROCESOS BIOQUÍMICOS IMPORTANTES EN EL HÍGADO

Catabólicos

Transaminación

Oxidación de aminoácidos para producir cetonas y acetil CoA

Oxidación de ácidos grasos para producir cetonas

Ciclo de la urea para eliminar el amoníaco

Metabolismo de la bilirrubina (degradación de la hemoglobina)

Fármacos y compuestos xenobióticos exógenos metabolizados

Anabólicas

Síntesis de la albúmina

Síntesis del factor de coagulación

Síntesis de lipoproteínas, lipoproteínas de muy baja densidad

Gluconeogénesis (síntesis de glucosa)

Síntesis de ácidos biliares

ESTUDIO DE CASO 33-1

Un lactante prematuro de 30 semanas desarrolló hiperbilirrubinemia progresiva que no respondió de inmediato a la fototerapia. Debido a que existió riesgo de que desarrollara kernícterus, el bebé recibió dos transfusiones de intercambio. Después de la segunda transfusión, se notó que el bebé estaba nervioso y tuvo un ataque.

Preguntas

1. ¿Cuál es la causa bioquímica más probable del ataque?
2. ¿Cuál es el mecanismo para esta anormalidad?
3. ¿Qué otra anormalidad metabólica puede ocasionar un ataque neonatal?

aguda y pérdida tubular de glucosa, fosfato y aminoácidos. La pérdida de glucosa junto con el daño hepático produce hipoglucemia grave. La acumulación de galactosa en el ojo origina la formación de cataratas. Una prueba simple que conduce al diagnóstico de galactosemia es la prueba de sustancia de reducción de la orina. Ésta detecta la presencia de azúcares que no se reducen a glucosa (galactosa) en la orina cuando un niño es sintomático. La importancia clínica de establecer un diagnóstico está claro; la galactosemia a menudo es fatal si no se descubre, pero es tratable por completo mediante restricción dietética de la lactosa cuando se establece el diagnóstico.

Otro proceso crítico del metabolismo energético de los carbohidratos en el recién nacido implica a la gluconeogénesis. Al nacer, un bebé a término cuenta con suficientes reservas de glucógeno hepático para proporcionar glucosa como fuente energética y mantener la euglucemia. Si el parto es muy estresante, es posible que estas reservas de energía se agoten de manera prematura. En la actualidad, la función fisiológica normal de la gluconeogénesis, que en esencia consiste en convertir el aminoácido alanina a glucosa, se ha vuelto crítica en el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa. Este mecanismo no siempre está maduro en el nacimiento y su operación subóptima da como resultado lo que se conoce como *hipoglucemia fisiológica*. Los recién nacidos sobreviven con valores de glucosa sanguínea por debajo de los 30 mg/dl, aunque a estos niveles los adultos entrarían a coma hipoglucémico rápido y tendrían riesgo de muerte súbita. Por lo general, la hipoglucemia fisiológica se corrige tan rápido como maduran los sistemas enzimáticos o por infusión intravenosa simple de glucosa. La hipoglucemia persistente y grave alertará al médico respecto a un posible error innato del metabolismo, como galactosemia, gluconeogénesis o trastornos en el metabolismo oxidante de ácidos grasos.

Diabetes

La homeostasis de la glucosa sanguínea y el metabolismo hepático de la glucosa se mantienen por las acciones concertadas de varias hormonas.⁵ Después de una comida, la

concentración de glucosa en la circulación aumenta, lo que desencadena el incremento de la síntesis y la liberación de la insulina por las células β pancreáticas de los islotes de Langerhans. El aumento de las concentraciones de insulina en la circulación hace que la glucosa sea captada por ciertas células, como los hepatocitos y las células musculares, y se convierta en glucógeno como fuente futura de energía. Como resultado de la acción de la insulina, los valores de glucosa sanguínea comienzan a caer al nivel preprandial. El glucagon, una hormona secretada por las células α de los islotes de Langerhans, tiene un efecto opositor al de la insulina. En términos generales, se cree que la proporción insulina/glucagon, más que las cantidades absolutas de ambas, constituye el principal modulador endocrino de las concentraciones circulantes de la glucosa. Otras hormonas, que incluyen el cortisol, la adrenalina y el factor de crecimiento homólogo a la insulina, también afectan los valores de glucosa. Estas hormonas se secretan en respuesta al estrés, y quizá afecten la medición de la glucosa cuando las muestras se recolectan bajo situaciones estresantes.

La diabetes mellitus, un trastorno en el que el control endocrino del metabolismo de la glucosa es anormal, suele relacionarse con insuficiencia del mecanismo regulador de la insulina. La diabetes tipo 1 (dependiente de la insulina) es la más frecuente en pediatría. Se origina por insuficiencia del páncreas para secretar insulina o por la presencia anticuerpos insulínicos circulantes que reducen la capacidad de la acción endocrina. Un paciente típico presenta cetoacidosis diabética, con hiperglucemia profunda y acidosis metabólica que se deben al aumento del metabolismo hepático de ácidos grasos y producción excesiva de cuerpos cetónicos.

La diabetes tipo 2 (no dependiente de la insulina) tiene una incidencia mucho más baja en la población pediátrica, y en condiciones normales está relacionada con incremento de la resistencia a la insulina secretada en forma normal en individuos obesos. Por desgracia, a la diabetes tipo 2 se le está reconociendo con mayor frecuencia en niños a medida que aumenta la cantidad de niños obesos en la población. Tal vez pronto se vuelva más predominante en niños que el tipo 1.

Es importante reconocer a la diabetes como causa de hiperglucemia en niños y distinguirla de otras causas médicas de elevación del azúcar sanguíneo, que abarcan enfermedad pancreática aguda o hipersecreción de las hormonas contrarreguladoras, como hormona del crecimiento, cortisol o catecolaminas. La hiperglucemia crónica tal vez se distinga con rapidez de las causas agudas por medición simple de la concentración sanguínea de la hemoglobina glucada o hemoglobina A_{1c} , un marcador bien establecido para la hiperglucemia a largo plazo. Este análisis también es muy valioso en el monitoreo del cumplimiento diabético en pacientes bajo tratamiento.

Metabolismo del nitrógeno

El hígado desempeña un papel central en el metabolismo del nitrógeno. Participa en las interconversiones de aminoácidos y la síntesis de aminoácidos no esenciales. El hígado sintetiza muchas proteínas del cuerpo, que incluyen la mayor parte de las proteínas encontradas en la cir-

culación, como la albúmina, la transferrina y los factores de coagulación de complemento. El hígado no sintetiza inmunoglobulinas. Además, es responsable de completar el metabolismo de los productos de degradación del recambio de nitrógeno, como amoniaco y urea a través del ciclo de la urea y creatinina y ácido úrico a partir de los depósitos de energía y ácidos nucleicos, respectivamente. Las concentraciones de amoniaco sanguíneo son más elevadas en el período de recién nacido que en etapas posteriores de la vida, lo que tal vez se deba a la inmadurez de las enzimas del ciclo de la urea y la circulación portal. A un valor de amoniaco sanguíneo de 100 $\mu\text{mol/L}$ en un recién nacido se le consideraría menos importante que la misma cifra un año después. Las concentraciones de amoniaco elevadas de manera persistente alertarán al investigador sobre posible daño hepático e insuficiencia secundaria del ciclo de la urea. Los valores elevados de amoniaco sugieren un posible defecto primario en el ciclo de la urea, y se evaluará a los pacientes respecto a dicho defecto.

Productos nitrogenados finales como marcadores de la función renal

En contraste con los valores elevados de amoniaco neonatal, las concentraciones de creatinina y ácido úrico son más bajas en recién nacidos. Ambos metabolitos aumentan al final a rangos normales del adulto. Las concentraciones de creatinina en sangre se incrementan con la masa muscular y son independientes de la dieta. Se filtran en los glomérulos y no se absorben de manera extensa por los túbulos renales. Su medición como índice de eliminación en sangre y en una muestra de orina de 24 h se ha utilizado como marcador de la filtración glomerular durante muchos años. La cistatina C sérica, un marcador nuevo y quizá más sensible, apareció en fecha reciente en el mercado como sustituto potencial de la creatinina.⁶ Se espera mayor evaluación de este marcador en poblaciones pediátricas, pero tal vez reemplace el análisis de eliminación de creatinina y suprima la necesidad de la difícil recolección de la orina de 24 h en niños. Las recolecciones incompletas forman la base de la mayor parte de los errores en este análisis.

Pruebas de la función hepática

Como ya se mencionó, el hígado es responsable de la realización de una gran parte de procesos sintéticos y catabólicos, y la función hepática normal es primordial para el mantenimiento de la homeostasis del cuerpo. Han surgido varias pruebas de laboratorio a las que en términos generales se les clasifica como pruebas de la función hepática.

La medición de la albúmina sérica y de la bilirrubina total y conjugada son pruebas verdaderas de la función hepática debido a que miden las rutas sintéticas y metabólicas de esos compuestos. En la desnutrición proteica-calórica, la reducción de la disponibilidad de aminoácidos para la síntesis de nuevas proteínas ocasiona disminución del índice sintético funcional y bajas concentraciones de proteínas sintetizadas recientemente, como la albúmina. Los valores muy bajos de albúmina indican exposición prolongada a restricción proteica, y a menudo se utiliza su medición en sangre como guía del estado nutricional

y la enfermedad hepática crónica de otra etiología. Además, la alteración de la función hepatocelular produce menor capacidad reducida para conjugar bilirrubina, con el aumento resultante de la forma no conjugada, que en condiciones normales es apenas perceptible.

Otras pruebas, como la medición de las enzimas hepáticas, en realidad reflejan más la integridad de la célula hepática y no son análisis funcionales en sentido estricto. Elevaciones grandes en AST y ALT séricas indican daño hepatocelular y filtración resultante de los contenidos celulares en el suero, en tanto la ALP elevada sugiere alteración biliar hepática, pero proporciona poca información funcional.

CALCIO Y METABOLISMO ÓSEO EN PEDIATRÍA

El crecimiento óseo normal, que es paralelo al crecimiento corporal, requiere la integración del metabolismo del calcio, fósforo y magnesio, con regulación endocrina de la vitamina D, hormona paratiroides (PTH) y calcitonina.⁵ El metabolito activo de la vitamina D es la 1,25-dihidroxit vitamina D. La hidroxilación de la vitamina D de la dieta tiene lugar en el hígado y en los riñones, y requiere el funcionamiento normal de estos órganos. La absorción de la vitamina D del tracto gastrointestinal, la conversión a su forma activa en el riñón, y la incorporación de calcio y fósforo en el hueso en crecimiento requiere, en condiciones normales, la PTH activa. A su vez, la secreción de PTH está regulada por los valores de calcio y magnesio séricos. Las concentraciones bajas de ambos cationes divalentes inhiben la secreción de PTH. La calcitonina tiene un efecto antagonista en la acción de la PTH.

El rápido crecimiento óseo que ocurre durante la infancia, y más tarde durante la pubertad, requiere la coordinación óptima de la absorción mineral, el transporte y la incorporación endocrina controlada de los minerales en el hueso en crecimiento. Alrededor de 98% del contenido de calcio corporal total está presente en el hueso, y menos del 1% es medible en la sangre. El calcio sérico se encuentra presente como fracción ionizada libre (alrededor de 50% del total en sangre), con el resto unido a proteína (40%) o quelado a aniones en la circulación, como fósforo y citrato. Las concentraciones séricas de calcio ionizado y ligado son reguladas y mantenidas en gran parte dentro de límites homeostáticos estrictos. Las anomalías de cualquiera de los componentes regulatorios tienen profundos efectos clínicos sobre los niños.

Hipocalcemia e hipercalcemia

La hipocalcemia se define como el calcio sérico total por debajo de 7.0 mg/dl o calcio ionizado por debajo de 3.0 mg/dl. En recién nacidos y en particular en los inmaduros, estos valores suelen encontrarse a menudo con pocos síntomas. Sin embargo, la hipocalcemia llega a producir irritabilidad, contracciones y ataques. Por lo general, el calcio sérico se mide en lactantes con ataques de etiología desconocida. La hipocalcemia prolongada da como resultado reducción del crecimiento óseo y raquitismo. En el cuadro 33-9 se enumeran las causas de hipocalcemia. Con frecuencia aparece hipomagnesemia en presencia de hipocalcemia. Debido a que las bajas concentraciones séricas de

CUADRO 33-9. CAUSAS DE HIPOCALCEMIA

Estado prematuro
Acidosis metabólica
Deficiencia de vitamina D
Enfermedad hepática (insuficiencia para activar la vitamina D)
Enfermedad renal (insuficiencia para activar la vitamina D)
Hipoparatiroidismo
Ingesta baja de calcio
Ingesta elevada de fósforo
Uso de diuréticos
Hipomagnesemia
Transfusión de intercambio (anticoagulantes en sangre transfundida)

CUADRO 33-10. CAUSAS DE HIPERCALCEMIA^a

Hiperparatiroidismo
Insuficiencia renal aguda
Ingesta excesiva de vitamina D
Hipercalcemia idiopática de la infancia

^aMenos frecuente que la hipocalcemia en lactantes.

magnesio también inhiben la secreción de PTH, es importante tomar en cuenta la posibilidad de hipomagnesemia concurrente en un niño con ataques de hipocalcemia, y corregir cualquier anomalía que se identificará en el estado de magnesio, al igual que el calcio.

La hipercalcemia se define como calcio sérico total mayor de 11.0 mg/dl. Se trata de un hallazgo poco habitual en pediatría (cuadro 33-10), pero tiene implicaciones clínicas potencialmente graves. Los pacientes con hipercalcemia presentan tono muscular deficiente, estreñimiento, falla para prosperar, y desarrollan cálculos renales que conducen a insuficiencia renal.

FUNCIÓN ENDOCRINA EN PEDIATRÍA

El campo de la endocrinología proporciona varios ejemplos de las “diferencias” que ocurren en la química clínica entre niños y adultos.² El proceso de maduración en un adulto sexualmente fértil, por ejemplo, requiere un proceso de desarrollo complejo mediado por mecanismos endocrinos que se activa durante la niñez. Como se describió en la sección anterior, el crecimiento óseo que acompaña al crecimiento sistémico también requiere un proceso complejo, que está bajo control endocrino.

Secreción hormonal

El sistema endocrino se relaciona con un grupo de hormonas que por lo general se producen y secretan por un tipo de célula en la circulación, donde su efecto se ejerce en

otras células objetivo. Algunas de estas hormonas son polipéptidos, otras son derivados de aminoácidos o esteroides.

Se han descrito cuatro *sistemas endocrinos* principales. Todos ellos desempeñan funciones críticas en el desarrollo humano normal. Estos sistemas implican al hipotálamo como centro de control cerebral principal más elevado, a la glándula hipofisaria como principal secretor de hormonas y luego a varios órganos terminales, que presentan elementos sensibles para la hormona hipofisaria, y afectan muchas funciones metabólicas y del desarrollo. Entre estos órganos terminales se incluyen la glándula tiroides, la corteza suprarrenal, el hígado y las gónadas. Cada sistema abarca la secreción regulada de una hormona trófica por el hipotálamo, que, a su vez, controla la secreción endocrina por la hipófisis y, en ocasiones, la secreción hormonal secundaria por el órgano terminal, mismo que luego produce el efecto endocrino apropiado. Existe retroalimentación en el hipotálamo por el producto final del proceso (retroalimentación de ciclo largo) y, también, por el producto endocrino de la hipófisis (retroalimentación de ciclo corto). La retroalimentación regula el control hipotalámico del mecanismo. Sin duda, existen muchas áreas que llegan a funcionar de manera inadecuada en cada una de estas vías, que dan como resultado la enfermedad. Ciertos trastornos patológicos son exclusivos de niños y se analizan más adelante.

Sistema hipotalámico-hipofisario-tiroideo⁵

El hipotálamo secreta una hormona liberadora de tirotropina (TRH), un péptido 3-aminoácido. La TRH hace que las células especializadas de la hipófisis anterior secreten hormona estimulante de la tiroides (TSH), un polipéptido constituido de dos cadenas (α y β). La TSH se libera dentro de la circulación y se dirige a su órgano terminal, la glándula tiroides. Los receptores únicos de la TSH de la glándula tiroides, cuando se ocupa por una molécula de TSH, hacen que la glándula tiroides sintetice y libere **hormonas tiroides en la circulación**. La síntesis de hormona tiroides consta de varias etapas complejas en las que el yodo queda atrapado dentro del tejido tiroideo y se usa para convertir el aminoácido tiroxina en triyodotironina (T_3) y tetrayodotironina (T_4). Más de 99% de las hormonas tiroides están ligadas a proteínas transportadoras específicas en la sangre a las que se les denomina *globulinas de unión con la tiroides*. La hormona tiroides libre, en particular la T_3 libre, es activa y reacciona con muchos tejidos periféricos para originar aumento del metabolismo y estimular el crecimiento y desarrollo normales. Los valores de T_4 , T_3 (ciclo largo) y TSH (ciclo corto) se retroalimentan en el hipotálamo para regular la producción de TRH.

En pediatría, se debe tomar en cuenta dos áreas de disfunción principales en esta vía endocrina: el hipotiroidismo primario e hipotiroidismo secundario. El hipotiroidismo primario se origina por cualquier defecto que causa insuficiencia de la glándula tiroides para sintetizar y secretar hormona tiroides. Esto produce una enfermedad frecuente a la que se conoce como *hipotiroidismo congénito*, que está presente en uno de cada 4 000 nacimientos. Los pacientes con esta enfermedad no tratados padecen retardo mental grave con aspectos faciales raros. Por lo

general, el tratamiento con terapia de reemplazo tiroideo produce buenos resultados al establecer el diagnóstico. La mejor prueba de diagnóstico es medir las concentraciones séricas de TSH, que se elevan debido a la insuficiencia del ciclo de retroalimentación largo. Los valores de hormona tiroidea en pacientes no tratados son muy bajos.

El hipotiroidismo secundario es resultado de la falla de la glándula hipófisis para secretar TSH, lo que origina falta de estimulación de la glándula tiroidea y producción subsiguiente de hormona tiroidea. El diagnóstico diferencial se establece a través de la medición de concentraciones bajas de TSH circulante. Debido a que la hipófisis está implicada con todos los sistemas endocrinos principales, es importante estudiar las otras vías de la parte inferior para determinar si el hipotiroidismo es resultado de un defecto aislado de la TSH o del panhipopituitarismo que abarca todas las otras vías. El panhipopituitarismo constituye una situación compleja desde el punto de vista clínico, que tal vez incluya hipoglucemia, pérdida de sales, crecimiento somático y óseo deficiente, falla para prosperar e insuficiencia para desarrollar las características sexuales secundarias.

Sistema hipotalámico-hipofisario-corteza suprarrenal⁵

Este sistema es esencial para regular el metabolismo mineral y de carbohidratos. El hipotálamo secreta la hormona liberadora de corticotropina (CRH), un polipéptido 41-aminoácido, que reacciona con la hipófisis anterior, lo que desencadena la liberación de la hormona corticotropina o adrenocorticotrópica (ACTH). La ACTH se libera en la circulación y llega a su órgano terminal, la corteza suprarrenal, que luego es estimulada para secretar las hormonas esteroides, cortisol y aldosterona. Esta vía resulta estimulada, también, por estrés en el centro cerebral superior. La ACTH actúa como control de retroalimentación de ciclo corto. Las hormonas esteroides secretadas por la corteza suprarrenal son reguladores de ciclo largo. La aldosterona funciona en los riñones, y regula el equilibrio de sales y agua. El cortisol actúa en muchos tejidos periféricos y tiene muchas reacciones, entre las que se encuentran regulación del metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos. Además, tiene la función de proporcionar resistencia a la infección e inflamación, un mecanismo poco estudiado que explica el uso terapéutico de esteroides en estas situaciones clínicas. Al igual que con todos los sistemas endocrinos, ocurren enfermedades que se originan de la hiperfunción o hipofunción de esta vía. Las enfermedades son primarias, ocasionadas por la disfunción del órgano terminal, o secundarias, debidas a enfermedad hipofisaria o hipotalámica. En el cuadro 33-11 se muestran las enfermedades pediátricas relacionadas con trastornos primarios de la corteza suprarrenal. Muchas de las afecciones que se enumeran son enfermedades genéticas raras; sin embargo, una enfermedad en particular, la deficiencia de esteroide 21-hidroxilasa, es lo bastante frecuente (alrededor de 1 por cada 5 000 nacimientos) para ameritar la valoración de la población completa por los laboratorios que examinan el estado. Este trastorno produce falla para sintetizar de manera adecuada tanto la aldosterona como el cortisol. La deficiencia de la aldosterona ocasiona crisis de pérdida de sal, y los pacientes en periodo de recién nacidos

llegan a volverse muy hiponatremicos e hiperpotasémicos. La falla para sintetizar cortisol provoca hipoglucemia inducida por estrés. Además, los intermediarios del metabolismo de los esteroides, que se acumulan como resultado del bloqueo metabólico, causan androgenización. Las niñas que nacen con este trastorno con frecuencia presentan genitales ambiguos, y es posible que se les clasifique en primera instancia como niños. Los niños tal vez no tengan dichas anomalías pronunciadas al nacer, pero quizá desarrollen crisis electrolítica. Por lo general, este problema se detecta por la medición de los valores de 17-hidroxiprogesterona en muestras sanguíneas neonatales.

Factores del crecimiento

El hipotálamo secreta dos hormonas reguladoras que afectan el crecimiento. La hormona liberadora de hormona del crecimiento es un polipéptido 40-aminoácido que estimula la liberación de hormona del crecimiento (GH) a partir de la hipófisis anterior. El factor que inhibe la hormona del crecimiento, también conocido como *somatostatina*, inhibe la secreción de GH. Los factores adicionales de los centros cerebrales superiores, entre los que se incluyen catecolaminas, serotonina y endorfinas, tienen un efecto positivo en la secreción de GH. La inhibición de la secreción de GH ocurre, también, cuando a los niños se les aísla del contacto social. Se desconoce el mecanismo de esta inhibición reversible, pero la negligencia y el abuso infantil potencial constituyen los principales diferenciales en niños con crecimiento retardado.

La GH es un polipéptido 191-aminoácido, con el hígado como su principal sitio de acción. Los receptores de la GH del hígado que son ocupados por una molécula de GH hacen que el hígado secrete un grupo de hormonas polipéptidas relacionadas, a las que se denomina *factores de crecimiento semejantes a la insulina (IGF)*, y sus proteínas de unión, conocidas como *proteínas de unión con IGF*. EL IGF-1 y IGF-BP3 son los productos más importantes de la actividad de la GH en el hígado. La IGF-1 tiene una estructura molecular similar a la insulina; sin embargo, es un estimulador mucho más potente del crecimiento lineal y el aumento del metabolismo en niños.

Esta vía de crecimiento tal vez representa la ruta endocrina más importante responsable del crecimiento normal; las deficiencias de cualquier componente de la vía son conocidas por producir crecimiento deficiente, lo que ocasiona adultos de baja estatura.

CUADRO 33-11. ENFERMEDADES CONGÉNITAS DE LA CORTEZA SUPRARRENAL

PERFIL METABÓLICO	
21-hidroxilasa ^a	↑ 17-hidroxiprogesterona, ↓ cortisol
3β-hidroxideshidrogenasa	↑ dehidroepiandrosterona (DEA)
11β-hidroxilasa	↑ 11-desoxicortisol, ↓ cortisol
17α-hidroxilasa	↑ 17-cetosteroides, ↓ testosterona
18-hidroxilasa	↓ aldosterona, ↑ renina

^aTrastorno frecuente valorado en todos los recién nacidos.

ESTUDIO DE CASO 33-2

A un niño de 5 años de edad se le lleva con su pediatra debido a retraso en el crecimiento. El pequeño se encuentra por debajo del tercer percentil para su peso y altura. No hay historial de traumatismo ni antecedente familiar o hallazgos clínicos pertinentes.

Preguntas

1. ¿Cuáles trastornos pudieran estar relacionados con retraso en el crecimiento?
2. ¿Qué trastorno hay que considerar de manera primordial en este paciente?
3. ¿Qué pruebas se realizarán para confirmar el diagnóstico?
4. ¿Es probable que el paciente responda a la terapia?

Debido a la dificultad para medir GH en suero como resultado de una variación diurna y de varios efectores relacionados con el estrés (p. ej., catecolaminas), un solo nivel bajo de GH quizá no sea suficiente para confirmar deficiencia de GH. Es importante determinar deficiencia orgánica verdadera, causada por enfermedad hipotalámica o hipofisaria, a partir de deficiencia emocional porque sólo la deficiencia orgánica responde a la costosa terapia de reemplazo de GH, en tanto la deficiencia inorgánica de GH responderá a cambios emocionales del estilo de vida. El traumatismo en la cabeza también llega a causar insuficiencia de la secreción de GH por la hipófisis a través de daño anóxico directo a las células secretoras de GH. Este tipo de insuficiencia en el crecimiento responderá a la terapia con GH. Se han elaborado varias pruebas de estimulación para valorar la capacidad de la hipófisis para secretar GH, que incluyen inducción de hipoglucemia con insulina o estimulación directa con glucagon. Esta prueba requiere la obtención de hasta cinco muestras sanguíneas en la posestimulación de dos horas y la determinación del nivel máximo de secreción de GH. Si éste es menor de 10 ng/ml, el paciente padece deficiencia orgánica de GH, y es probable que responda a la terapia con GH.

En fecha reciente, se pusieron disponibles pruebas de IGF-1 e IGF-BP3 que garantizan la identificación de la deficiencia de GH debido a que esos compuestos no son liberados por el hígado en los estados de deficiencia de GH, y sus concentraciones basales al parecer no tienen la gran variación que ocurre en la GH. Además, los defectos en la síntesis y secreción de IGF y IGF-BP se reconocen como causa de insuficiencia en el crecimiento de ciertos lactantes. Es poco probable que los individuos con estos defectos respondan al tratamiento con GH.

Control endocrino de la maduración sexual

El hipotálamo secreta un ácido péptido 10-aminoácido denominado *hormona liberadora de gonadotropina (GnRH)*.

Esta hormona produce la liberación de dos hormonas polipeptídicas más grandes, conocidas como *hormona foliculo estimulante (FSH)* y *hormona luteinizante (LH)*, tanto en hombres como en mujeres. La FSH y la LH son similares desde el punto de vista estructural a la TSH y, también, a la gonadotropina coriónica humana (hCG), que no se analiza en este capítulo.

Las concentraciones basales de FSH y LH son bajas en lactantes como resultado de la supresión de GnRH y se requieren inmunoanálisis sensibles basados en quimiluminiscencia para su detección precisa.

La FSH y la LH tienen distintos efectos en hombre y mujeres, tanto antes de la pubertad como durante la misma. En hombres, la actividad hormonal se dirige a los testículos, lo que causa la liberación de andrógenos, sobre todo testosterona y androstenediona. En mujeres, el sitio primario de acción es el ovario, que da como resultado la excreción de una familia diferente de hormonas esteroideas: los estrógenos, principalmente estradiol. Antes de la pubertad, los valores circundantes de andrógenos y estrógenos son bajos, aunque a menudo se solicita al laboratorio clínico pediátrico la medición de estas hormonas cuando un niño al parecer muestra pubertad prematura. En particular, la testosterona es difícil de medir en niños prepúberes en la medida que la mayor parte de los análisis comerciales detecta un compuesto de interferencia, lo que origina la elevación de la concentración hormonal.

En la pubertad, se elimina la supresión de GnRH, y hay un aumento gradual de la secreción de FSH y LH, con incremento concomitante de andrógenos en hombres y de estrógenos y progesterona en mujeres. Esto produce el desarrollo de características sexuales secundarias y el comienzo de la menarca en mujeres. Además, este período se relaciona con sobrecarga importante en el crecimiento lineal y óseo hasta que se alcanzan las proporciones de adulto.

Los trastornos de esta vía endocrina se relacionan con pubertad prematura o precoz, o retraso en el comienzo de la pubertad. La medición de FSH, LH, testosterona y estradiol es útil en la evaluación de trastorno de la pubertad. A menudo, las alteraciones de otros sistemas endocrinos afectan la pubertad. La hiperplasia suprarrenal congénita, el trastorno descrito bajo enfermedades de la corteza suprarrenal, origina exceso de secreción de esteroides semejantes a andrógenos que llegan a afectar la pubertad. Los trastornos del hipotálamo y la hipófisis llegan a afectar la secreción de FSH y LH, y causar retraso en la pubertad.

DESARROLLO DEL SISTEMA INMUNITARIO

En entornos clínicos pediátricos, la mayor parte de visitas y admisiones hospitalarias se relaciona con complicaciones que provienen de enfermedades infecciosas. Al mismo tiempo, aunque los parientes o cuidadores quizá estén expuestos a las mismas etiologías infecciosas, no se enferman tanto para requerir atención médica. Esto se debe a que el niño no tiene el mismo grado de *inmunidad* a la enfermedad al nacer o durante la infancia.¹

Conceptos básicos de inmunidad

El sistema inmunitario se divide en dos partes funcionales: el sistema inmunitario innato y el sistema inmunitario adaptativo. El sistema inmunitario innato constituye la primera línea de defensa, en particular en recién nacidos y lactantes no expuestos a infección. El sistema inmunitario adaptativo genera una reacción específica después de la exposición a un agente infeccioso, y proporciona mayor inmunidad con exposición subsiguiente a ese agente. Sin embargo, al principio la primera respuesta a la exposición tal vez sea subóptima y produzca enfermedad relacionada con esa exposición.

Componentes del sistema inmunitario⁵

Piel

En condiciones normales, la piel es una barrera efectiva contra la mayor parte de microorganismos, aunque en bebés prematuros esta barrera está menos desarrollada y es posible que se vuelva con facilidad una fuente de infección. La mayor parte de los agentes infecciosos entran al cuerpo por la nasofaringe, el tracto gastrointestinal, los pulmones y el tracto genitourinario. Las incisiones quirúrgicas y las líneas intravenosas o centrales también son sitios potenciales de entrada. Por lo general, varias defensas físicas y bioquímicas protegen los sitios no quirúrgicos de entrada. La lisozima, una enzima distribuida de manera extensa en diferentes secreciones, por ejemplo, es capaz de digerir en forma parcial un enlace químico de la membrana de muchas paredes celulares bacterianas.

Fagocitos

Los fagocitos están presentes en muchos tipos de células. Cuando un organismo extraño penetra en la superficie epitelial, encuentra células fagocitadas, que se derivan de la médula ósea y se depositan en el tejido en respuesta al organismo. Estas células engullen y digieren partículas. Entre las células fagocíticas se incluyen células polimorfonucleares, que tienen vida breve en la circulación, y mocitos que, cuando se exponen a partículas extrañas, se desarrollan a macrófagos que luego reconocen al organismo cuando el individuo vuelve a quedar expuesto.

Células B

Las células B son linfocitos que se caracterizan por la presencia de inmunoglobulinas superficiales. Estas células se diferencian de las células plasmáticas en que son capaces de responder a antígenos extraños en la circulación por la producción de anticuerpos neutralizantes. La activación, proliferación y diferenciación de células B son asistidas por la secreción de citocina a partir de linfocitos de células T, que no producen anticuerpos. En el antígeno de unión, es posible que los anticuerpos activen una cascada que abarque al complemento, lo que al final produce lisis y muerte celular de los organismos extraños.

Células asesinas naturales

Las células asesinas naturales (AN) son leucocitos capaces de reconocer cambios superficiales celulares en células

huésped infectadas por partículas virales. Las células AN se unen a estas células objetivo y llegan a destruirlas a ellas y al virus. Las células AN responden a interferonas, que son moléculas de citocina producidas por las células huésped cuando se infectan por virus. Además, las interferonas forman parte del sistema inmunitario innato, y son capaces de proporcionar resistencia a la infección en las células huésped no infectadas por virus.

Proteínas de fase aguda

Las proteínas de fase aguda son proteínas de defensa producidas por el hígado en respuesta a la infección, en particular infección bacteriana. Ciertas proteínas aumentan en suero entre dos y 100 veces. A la proteína de fase aguda más importante se le denomina *proteína C reactiva (PCR)* por su habilidad para unirse a la proteína C de los *neumococos*. La PCR unida a la bacteria promueve la unión del complemento que, a su vez, contribuye a la fagocitosis. Los valores séricos de PCR se miden de manera rutinaria para determinar el grado de infección en pacientes pediátricos. La sensibilidad requerida del análisis PCR para este propósito clínico es menor que la utilizada para el análisis PCR de alta sensibilidad empleado en clínica como factor de riesgo independiente de enfermedad cardíaca. En la aplicación pediátrica de este análisis, la obtención rápida de resultados es muy importante. El sistema de complemento consiste en cuando menos 20 proteínas, la mayor parte de fase aguda. Éstas interactúan en forma secuencial entre sí, con complejos antígeno-anticuerpo, y con membranas celulares de manera coordinada para destruir al final bacterias y virus. Desde el punto de vista clínico, las proteínas de complemento que se miden más a menudo son C3 y C4. Los valores bajos de cualquiera de estas proteínas indican deficiencia en la capacidad de destruir partículas extrañas.

Producción de anticuerpos

Las inmunoglobulinas se clasifican en cinco grupos principales, con base en la estructura y función: IgG, IgM, IgA, IgD e IgE. Son secretadas por células plasmáticas derivadas de B-linfocitos, y sus propiedades se enumeran en el cuadro 33-12. La IgG es la principal subclase de inmunoglobulina, que proporciona respuesta de anticuerpo en adultos, y representa 70 a 75% del contenido de inmunoglobulina total. La IgG se degrada de manera adicional en cuatro subclases adicionales: IgG₁. Cada inmunoglobulina se construye a partir de unidades estructurales similares, con base en dos cadenas de polipéptidos pesadas (A, G, M, D y E) y dos cadenas ligeras (kappa y lambda). La capacidad para reconocer cantidades grandes de antígenos extraños se debe a la capacidad infinita de los genes en la denominada región variable de la molécula de inmunoglobulina por reestructurar. Esta área reconoce antígenos extraños, y una reestructuración y producción genéticas de un anticuerpo único cubre cada antígeno nuevo expuesto al cuerpo. Debido a la gran cantidad de diferentes especies de inmunoglobulina, la separación electroforética de estas proteínas séricas sobre un gel con enfoque isoeléctrico durante el análisis de electroforesis proteica sérica (EFPS) es difusa, a diferencia de la separación de albúmina o transferrina, que genera distintas bandas.

CUADRO 33-12. PROPIEDADES DE CLASES DE INMUNOGLOBULINA (IG)

	IgG*	IgA	IgM	IgD	IgE
Masa (kD)	160	160	970	184	188
% de Ig total	70 a 75	10 a 15	5 a 10	<1	Traza
Atraviesa la placenta	Sí	No	No	No	No
En leche materna	Sí	Sí	No	Desconocido	Desconocido
Activa el complemento	Sí	Sí	Sí	No	No
En secreciones	No	Sí	No	No	No
Se une a células mástil	No	No	No	No	Sí

*Presente como cuatro subclases (IgG₁₋₄).

Producción de anticuerpos en neonatos y lactantes

El feto humano es capaz de sintetizar una cantidad pequeña de IgM y, en menor grado, IgA. La IgG tiene un peso molecular menor que la IgM y puede cruzar la placenta. Además, la IgG se transfiere de la madre al bebé en la leche materna. La IgG transplacentaria y derivada de la leche materna ofrece al bebé una protección inmunológica pasiva hasta que tiene lugar la producción endógena de IgG. La vida media de la IgG es de alrededor de 30 días y, con la prolongación de la alimentación materna, el lactante obtiene protección adicional. El proceso de producción de anticuerpos en lactantes lleva varios años en completarse cuando se basa en los valores séricos totales de las subclases de inmunoglobulina, que tardan cuatro años en alcanzarse. Los bebés prematuros incluso tienen un déficit mayor de inmunoglobulina debido a la disminución de la liberación transplacentaria de anticuerpos.

Trastornos de la inmunidad⁷

Dada la complejidad del sistema inmunitario, existen muchas fases en las que los defectos adquiridos o heredados genéticamente tienen la posibilidad de producir enfermedad infecciosa inapropiada en la población pediátrica. La hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia aparece en caso de nacimiento prematuro o, en ciertos lactantes, quizá sea resultado del retraso en el comienzo de la producción de inmunoglobulina de etiología desconocida. Al final estos niños desarrollan un sistema inmunitario normal, pero serán propensos a períodos repetidos de infección grave. Al extremo opuesto del espectro, ocurre ausencia completa de γ -globulinas en niños con un trastorno de unión X conocido como *agammaglobulinemia*, o enfermedad de Bruton. Esta afección se presenta en etapas tempranas de la vida con infecciones febriles recurrentes. Los pacientes no tienen células B, y presentan valores bajos de todas las subclases de inmunoglobulina endógena. Es probable que el proceso de enfermedad comience en el momento en que se pierden cualesquier inmunoglobulinas derivadas a través de la madre. Las infecciones más frecuentes son las de los tractos respiratorio superior e inferior, que causa otitis, neumonía, sinusitis, meningitis, sepsis y osteomielitis. Sin terapia temprana de γ -globulina, estos niños mueren por complicaciones respiratorias. Otras vías inmunitarias son normales en estos niños.

Deficiencia inmunitaria grave combinada (DIGC)

Uno de los ejemplos más gráficos de enfermedad pediátrica única se observa en lactantes que carecen de las vías humoral y celular para la destrucción de bacterias y virus. Estos niños están en riesgo de infección grave cada vez que quedan expuestos a un agente infeccioso. La imagen más presente es la del “muchacho de la burbuja”, que vive en un medio ambiente completamente estéril para evitar el contacto con alguna bacteria o partícula viral. La DIGC es heredada como un trastorno de unión X, sólo observado en niños, o recesivo autosómico, con lo que las niñas también llegan a presentar la enfermedad. Existen varias causas de la DIGC, entre las que se incluyen enfermedades genéticas del metabolismo de la purina, y trastornos de desarrollo y maduración de los linfocitos, en las que tanto las células T como las células B, si es que están presentes, son infuncionales. La alteración más frecuente de la purina, la deficiencia de adenosina desaminasa, es responsable de 15% de los casos de DIGC. Se diagnostica a través de la medición de los valores elevados de adenosina en líquidos corporales. Se establece que el diagnóstico es importante porque la terapia de reemplazo enzimático, en la que se usa la enzima recombinante, ha producido buenos resultados en el tratamiento de este trastorno.

ENFERMEDADES GENÉTICAS

Los métodos analíticos para la identificación de la enfermedad genética desempeñan una parte importante en el laboratorio de química clínica pediátrica.¹⁻⁸ La mayor parte de las enfermedades genéticas son exclusivas de la población pediátrica, y requieren un conocimiento y capacitación especializados. La mayor parte de las enfermedades que se presentan con signos clínicos en la población pediátrica son heredadas de un modo recesivo autosómico, lo que significa que el paciente presenta dos mutaciones que causan la enfermedad en el gen para este trastorno, una heredada de la madre y otra del padre. En este capítulo ya se mencionaron varios ejemplos de enfermedades con este patrón hereditario, entre las que se encuentran la galactosemia e hiperplasia suprarrenal congénita como resultado de deficiencia de la 21-hidroxilasa esteroide. Otras enfermedades son recesivas, pero se heredan en el cromosoma X. Por lo general, los niños heredan un cromosoma X mutante de sus madres; debido a que no heredan un cromosoma X paterno, muestran signos de la enfermedad

con sólo una mutación. En ambos patrones heredados, el padre con un gen normal será, en su mayor parte, asintomático. Las enfermedades predominantemente heredadas, que tal vez se hereden como una sola mutación a través de cualquier línea paterna, tienden a no presentarse en la niñez ni afectan la fertilidad. Los ejemplos abarcan hipercolesterolemia familiar, enfermedad de Huntington y trombofilia del factor V de Leiden, que son enfermedades de la población adulta. En fecha reciente, se identificó un nuevo modo de herencia genética. Todas las enfermedades antes descritas constituyen alteraciones del DNA que se replica en el núcleo celular. La mitocondria, el organelo responsable de generar la energía celular y otras vías metabólicas importantes, contiene una molécula pequeña de DNA (mtDNA) que codifica proteínas implicadas en la generación de energía. La mtDNA tiene un índice elevado de mutación espontánea y ocasiona una gran cantidad de enfermedades de pérdida de energía. La mitocondria sólo se hereda de la madre, de modo que las mutaciones que no son espontáneas sólo pueden provenir del linaje materno.

Fibrosis cística

La fibrosis cística (FC) representa una de las enfermedades genéticas heredadas que se encuentran más a menudo en los laboratorios de química clínica pediátrica. En uno de cada 2 400 nacimientos vivos se observa esta enfermedad debilitante, que se origina por mutaciones heredadas en forma recesiva en el gen regulador transmembrana de la fibrosis cística (RTFC). Es posible que los pacientes presenten, en el período de recién nacido, insuficiencia pancreática grave causada por acumulación de secreciones de mucosidad espesa en los conductos pancreáticos, lo que inhibe la secreción de enzimas digestivas pancreáticas. Estos bebés padecen esteatorrea y falla para prosperar. Los pacientes con FC no siempre desarrollan síntomas pancreáticos; sin embargo, en la mayor parte de los casos, la mucosidad espesa que se acumula en los pulmones causa enfermedad respiratoria y desencadena gran sensibilidad a enfermedades infecciosas raras, como *pseudomonas*. Aunque las terapias paliativas mejoraron en las últimas generaciones debido a la disponibilidad de mejores antibióticos, aún se considerara intratable a la FC.

Durante muchos años ha estado disponible la prueba de diagnóstico estándar para la FC. Implica la medición del contenido de cloruro en sudor recolectado después de iontoforesis de pilocarpina. Este tipo de análisis consume tiempo y requiere experiencia especializada del operador. La base genética de la FC está establecida. Aunque existen algunas mutaciones que se encuentran con frecuencia en la población, como la $\Delta F508$, existen cientos de otras mutaciones. En fecha reciente, el *American College of Medical Genetics* y el *American College of Obstetrics and Gynecology* recomendaron la valoración del heterocigoto en parejas seleccionadas.⁹ Esto plantea un desafío analítico debido a la gran cantidad de mutaciones, y tal vez requerirá el desarrollo de una tecnología de microchip aceptable desde el punto de vista clínico antes de que se implanten por completo (véase capítulo 26, *Función gastrointestinal*).

Valoración del recién nacido en poblaciones completas

Ciertas enfermedades hereditarias son lo bastante frecuentes en la población para considerarlas candidatas a la valoración de la población completa. La fenilcetonuria fue el primer trastorno metabólico genético que se valoró en cada bebé nacido en Occidente. Otras enfermedades que son tratables con facilidad se agregaron a la lista en años posteriores, como la deficiencia de la 21-hidroxilasa esteroide, la enfermedad de células falciformes, el hipotiroidismo congénito y, en algunos estados de la Unión Americana, la galactosemia. Estas enfermedades genéticas responden de manera adecuada a la terapia simple, a menudo dietética. En Estados Unidos, este proceso tiene lugar en los laboratorios de valoración estatales, centros que dan seguimiento en forma sencilla a resultados anormales de la prueba. La naturaleza del procedimiento de la prueba requiere un examen de valoración sensible con pocos resultados falsos-negativos. Luego debe confirmarse a través de una prueba que sea más específica para descartar resultados falso-positivos. Una nueva tecnología, la *espectrometría de masas en tándem*, permite la valoración de entre 25 y 30 enfermedades genéticas bioquímicas en una sola muestra al mismo tiempo (cuadro 33-13). Esta técnica permite el análisis de grupos completos de compuestos similares en volúmenes de muestra pequeños sin la preparación compleja de la muestra. El tiempo analítico es de alrededor de dos minutos por muestra, lo que significa que es posible realizar con rapidez el análisis para un estado completo. En Estados Unidos, el índice de natalidad es de alrededor de 3.5 a 4 millones de nacimientos por año. Está demostrado que la espectrometría de masas en tándem controla esta carga de trabajo. Al momento de escribir esto, nueve estados de la Unión Americana ya respaldaron este proceso y otros se encuentran en fases avanzadas de la evaluación.

Diagnóstico de enfermedad metabólica en clínica

En la actualidad, se requiere del laboratorio clínico para confirmar el diagnóstico de la mayor parte de las enfermedades que se enumeran en el cuadro 33-13 y, también, del resto de los 500 defectos simples del gen que producen enfermedad genética bioquímica no detectable por espectrometría de masas en tándem. Por lo general, estos errores innatos del metabolismo se dividen en dos tipos principales.

Enfermedades de molécula grande

Las enfermedades de molécula grande cuentan con un intermediario acumulado del metabolismo compuesto por moléculas complejas grandes; en el cuadro 33-14 se muestran ejemplos. Muchos de estas enfermedades implican acumulación intracelular del químico anormal con excreción relativamente pequeña de líquidos corporales. En las enfermedades de almacenamiento de glucógeno, éste se acumula en hígado y músculo, pero no se observa en muestras de sangre u orina. El histopatólogo, que emplea el examen microscópico del tejido, a menudo realiza estos diagnósticos. Algunas pruebas, sobre todo las

CUADRO 33-13. ENFERMEDADES METABÓLICAS DETECTABLES POR VALORACIÓN EXPANDIDA DEL RECIÉN NACIDO

Aminoácidos

Fenilketonuria (PKU)

Enfermedad de la orina de jarabe del arce (EOJA)

Tirosinemia, tipos 1 y 2

Homocistinuria

Hipermetioninemia

Ciclo de la urea

Argininemia

Citrulinemia

Aciduria argininosuccínica (ASA)

Ácidos orgánicos

Acidemia propiónica (AP)

Acidemia metilmalónica (AMM)

Acidemia isovalérica (AIV)

Acidemia glutárica, tipos 1 y 2 (GA1, GA2)

Deficiencia de β -cetotilasa

Deficiencia de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa (HMG-CoA liasa)

Deficiencia 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC)

Deficiencia de malonil-CoA descarboxilasa

2-metil-3-hidroxibutiril-CoA-deshidrogenasa

Ácidos grasos

Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena media (MCAD)

Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena corta (SCAD)

Deficiencia de acil-CoA deshidrogenasa de cadena muy larga (VLCAD)

Carnitina palmitoiltransferasa, tipos 1A y 2 (CPT1A, CPT2)

Deficiencia de carnitina acilcarnitina translocasa (CAT)

Deficiencia de 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHAD)

Deficiencia de la proteína mitocondrial trifuncional (PMT)

de orina, están disponibles para la obtención de indicios de enfermedades de molécula grande, entre las que se incluyen análisis de glucosaminoglucano en el que se usa electroforesis de alto voltaje para identificar metabolitos raros relacionados con enfermedades del almacenamiento de mucopolisacáridos. Estas pruebas son relativamente insensibles, y la confirmación del diagnóstico requiere la medición de la actividad enzimática deficiente en un tejido corporal. Por fortuna, muchas enzimas que producen enfermedades del almacenamiento de molécula grande se encuentran en las células sanguíneas blancas, lo que

permite la confirmación en una muestra sanguínea. La confirmación enzimática tal vez sea difícil de establecer en bebés pequeños debido a que con frecuencia se requieren muestras sanguíneas grandes para la comprobación del diagnóstico.

Enfermedades de molécula pequeña

Las enfermedades de molécula pequeña se originan por defectos en las vías metabólicas del metabolismo del intermediario. Por lo general, los compuestos anormales que están presentes en estas enfermedades son de bajo peso molecular y se excretan con rapidez en los líquidos corporales; los tipos de vías implicadas se enumeran en el cuadro 33-15. Al principio, el laboratorio químico clínico contaba con pocas herramientas de diagnóstico capaces de identificar la gran cantidad de intermediarios metabólicos que llegan a acumularse en estas enfermedades, por lo que se desarrollaron varias pruebas urinarias calorimétricas simples, como la prueba de la dinitrofenilhidrazina (DNPH) para cetoácidos, para establecer el diagnóstico. Estos métodos carecen tanto de sensibilidad y especificidad, y no forman parte del laboratorio de química clínica moderno. Se les reemplazó por análisis con sensibilidad y especificidad mayores, a menudo basados en la espectrometría de masas.

Las enfermedades de molécula pequeña tienen manifestación clínica variable, y podrían presentarse en casi cualquier subespecialidad médica con cualquier sistema orgánico implicado. (En el cuadro 33-16 se muestran algunas enfermedades y cuáles especialistas habría que consultar.) Por lo general, las pruebas bioquímicas para estas enfermedades se describen en dos fases. En primer lugar, es importante reconocer el grado de afección tis-

CUADRO 33-14. EJEMPLOS DE TRASTORNOS DE ALMACENAMIENTO DE MOLÉCULA GRANDE

Enfermedades de almacenamiento de mucopolisacáridos (MPS) o glucosaminoglucano

Enfermedad de Hurler (MPS, tipo I)

Enfermedad de Hunter (tipo II)

Enfermedad de Morquio (tipo IV)

Almacenamiento lipídico complejo

Enfermedad de Gaucher

Enfermedad de Tay-Sachs

Enfermedad de Niemann-Pick (tipos A, B, C)

Enfermedades de almacenamiento de glucógeno

Von Gierke (tipo 1)

Pompe (tipo 2)

McArdle (tipo 5)

Almacenamiento de péptidos

Lipofuscinosis cerioide neuronal, tipos 1-8 (enfermedad de Batten)

CUADRO 33-15. VÍAS IMPLICADAS EN LA ENFERMEDAD METABÓLICA DE MOLÉCULA PEQUEÑA

Aminoácidos
Ácidos grasos
Ácidos orgánicos
Ciclo de la urea
Fosforilación oxidativa
Metabolismo de las vitaminas
Biosíntesis y degradación de esteroides
Síntesis del colesterol
Metabolismo de la purina y de la pirimidina
Metabolismo del neurotransmisor
Síntesis del plasmalógeno
Metabolismo de la glutatona
Metabolismo del oxalato

lar en la manifestación. Esto requiere evaluación química rutinaria para conocer el estado de gas sanguíneo, si es que es acidótico; la medición del intervalo del anión; prueba de la función hepática; análisis de los marcadores musculares, como CK; ácido láctico; y medición del amoniaco. Todos estos análisis tendrán que estar disponibles y se utilizarán para el control del monitoreo. En la segunda fase del análisis se buscarán marcadores metabólicos que indiquen con precisión el sitio de un defecto. Estas pruebas implican una forma de tecnología de separación, como la cromatografía de intercambio iónico para los aminoácidos. El material preferido para el análisis del aminoácido es el suero porque los túbulos renales tienen sistemas de transporte eficientes para la reabsorción de aminoácidos filtrados. Es posible omitir una anomalía del aminoácido si se analiza la orina. El análisis de aminoácidos en orina sólo es útil si se sospecha un defecto tubular, como la

ESTUDIO DE CASO 33-3

Se llevó con el pediatra a un niño con falla para prosperar y estatorrea (heces grasosas de olor fétido). Un hermano mayor con la misma manifestación clínica tuvo enfermedad genética confirmada.

Preguntas

1. ¿Cuál es el diagnóstico probable?
2. ¿Cómo es la enfermedad heredada?
3. ¿Cuál es el pronóstico a largo plazo para los pacientes?
4. ¿Cuál es la prueba de diagnóstico estándar?

cistinuria. La prueba más útil para detectar intermediarios metabólicos anormales es el análisis de ácidos orgánicos. Esta prueba se realiza en la orina, y sólo se llevará a cabo a través del uso de la técnica de espectrometría de masas de cromatografía de gases. Se trata de un método que permite la identificación de marcadores metabólicos en hasta 200 enfermedades genéticas. La espectrometría de masas en tandem es otra técnica en rápido crecimiento en el campo del diagnóstico de enfermedad metabólica. Esta técnica se aplica a la valoración del recién nacido y desempeño, también, un papel creciente en el análisis de varios metabolitos diferentes. En la actualidad, esta tecnología se encuentra sobre todo en investigación y en laboratorios de química clínica de vanguardia, pero en el futuro cercano se hará de un lugar en todos los laboratorios químicos.

METABOLISMO DE FÁRMACOS Y FARMACOCINÉTICA^{1,10}

Existen varias diferencias importantes en la manera en que lactantes y niños manejan los agentes farmacológicos en comparación con los adultos. Esta área de la medicina de laboratorio pediátrico proporciona muchos ejemplos

CUADRO 33-16. FÁRMACOS CON ÍNDICES TERAPÉUTICOS BIEN DEFINIDOS

FÁRMACO	RANGO TERAPÉUTICO	TOXICIDAD
Fenitoína	10 a 20 mg/L	>40 causa ataques; ataxia
Fenobarbital	10 a 40 mg/L	>40 causa adormecimiento; >60, coma
Carbamacepina	4 a 10 mg/L	>10 causa adormecimiento
Teofilina ^a	5 a 15 mg/L	>20 puede causar arritmia cardíaca
Cafeína ^a	5 a 15 mg/L	Menos tóxica que la teofilina
Metotrexato	Depende de la terapia	Los valores elevados causan mielosupresión
Gentamicina	5 a 10 mg/L (máximo) ^b	>12 ototóxica; toxicidad renal

^aLa teofilina es metabolizada a cafeína en neonatos, pero no en adultos. Se utiliza para tratar apnea.

^bEl valor máximo se obtendrá 30 min después de la última dosis para fármacos aminoglucósidos. Los niños son propensos en particular a la pérdida del oído a niveles tóxicos.

adecuados de la razón por la que a los niños no se les considerará "adultos pequeños". Desde el punto de vista clínico, no es apropiado prorratear la cantidad de fármaco prescrita a niños con base en el peso corporal relativo cuando se compara con una dosis para adulto.

El *metabolismo del fármaco* depende de los siguientes factores: absorción, circulación y distribución, y metabolismo y eliminación. A menudo, el medio en que se proporciona un fármaco a un niño difiere de aquel en el que el adulto ingiere el mismo fármaco. Los jarabes, por ejemplo, proporcionan una liberación más rápida de un fármaco y mayor disponibilidad de absorción gastrointestinal que las tabletas, que traen el fármaco atrapado en una matriz sólida que requiere digestión. Es más probable que a los niños se les administre una medicación de una forma apetitosa, como el jarabe, y requieran dosis más bajas. El pH de las secreciones gástricas difiere en lactantes. Al nacer, el pH gástrico es casi neutro, alcanza el nivel de acidez del adulto después de varios años. Esta diferencia de pH quizá afecte la absorción de ciertos fármacos, como algunas penicilinas prescritas a menudo. La distribución de los fármacos suele diferir entre adultos y niños. Los fármacos liposolubles se toman dentro de reservas lipídicas, y sólo se liberan con lentitud en la circulación. Debido a que los lactantes tienen un tejido adiposo relativamente pequeño, estos fármacos no se almacenan de manera tan eficiente. El efecto global es que los fármacos liposolubles alcanzan un valor más elevado con mayor rapidez que en individuos con depósitos de grasa considerables; sin embargo, el fármaco también se elimina más rápido. Se vuelve apropiado que los fármacos se proporcionen en dosis más pequeñas y frecuentes para optimizar el efecto. El metabolismo hepático de muchos fármacos es inmaduro en niños pequeños. Es posible que esto retrase la conversión metabólica a un fármaco activo o incremente el tiempo en que circula. La función hepática adecuada es importante para eliminar esos fármacos metabolizados por el hígado, al igual que una buena función renal lo es para eliminar los fármacos que tienen productos finales hidrosolubles.

Monitoreo terapéutico del fármaco

Los principios del monitoreo terapéutico del fármaco se establecen de la misma manera en la química clínica de adultos y pediátrica. Es importante medir los niveles sanguíneos de varios fármacos si esa información proporcionará guía importante para el médico con respecto a la dosificación óptima. Ésta es más importante si un fármaco tiene un índice terapéutico bien definido. Esto significa que se conoce que el fármaco es ineficaz si el nivel sanguíneo se encuentra por debajo de cierto valor, que hay un rango terapéutico bien definido en el que el fármaco es efectivo y que existe un nivel más elevado en que el se vuelve tóxico. Esto es importante al monitorear los niveles de los fármacos con esa característica. En el cuadro 33-16 se enumeran los fármacos en los que está establecida la importancia del monitoreo terapéutico.

Problemas toxicológicos en química clínica pediátrica

En pediatría, los problemas relacionados con la provisión de un servicio toxicológico se dividen en dos grupos distintos. El primer grupo implica a lactantes y niños pequeños que consumen por accidente agentes farmacológicos y otros químicos. Por lo general, esto implica que el niño encuentra acceso a la medicación perteneciente a otro individuo en el hogar y la consume como si fuera un dulce. Resulta relativamente fácil para el investigador determinar la naturaleza de la medicación al identificar lo que está disponible en la casa. La investigación toxicológica suele restringirse a unas cuantas pruebas específicas.

Un trastorno raro, pero potencialmente peligroso, es el de la enfermedad de Munchausen por el encargado. En ésta, la enfermedad mental de un cuidador lo lleva a proporcionar fármacos innecesarios y que causan enfermedad a un niño por lo demás sano. Esto llega a pasar inadvertido y ocasionar varias hospitalizaciones e incluso la muerte del niño. La sospecha clínica de esta forma de abuso infantil comprende la realización de un examen exhaustivo de fármacos para identificar los agentes causantes. Debido a la naturaleza intermitente de la manifestación clínica del síndrome de Munchausen por el apoderado, a menudo se le confunde con enfermedad metabólica. Tal vez sean necesarias pruebas metabólicas, así como estudios toxicológicos completos.

Debido a que la probabilidad de autoingesta de drogas callejeras de abuso está presente en niños mayores, los laboratorios de química clínica pediátrica deben contar con análisis disponibles para drogas callejeras similares a los utilizados en la práctica con adultos.

RESUMEN

La pediatría es una rama de la medicina que trata con el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad en niños. Esto incluye la investigación de individuos pequeños del nacimiento a la adolescencia. La diferencia más importante entre esta población y la adulta está relacionada con el desarrollo fisiológico de los niños. Los sistemas orgánicos inmaduros pudieran tener profundos efectos en los parámetros bioquímicos.

Los niños se presentan al hospital con diferentes perfiles de enfermedad. Existen muchas más manifestaciones con enfermedad infecciosa como resultado de inmunidad subdesarrollada. Las enfermedades genéticas metabólicas son casi exclusivas a la pediatría. Además, se requieren farmacéuticos clínicos pediátricos para comprender el proceso analítico vinculado con el diagnóstico.

El tamaño pequeño de muchos pacientes en un centro pediátrico necesita un método diferente a los menús de prueba química y la elección de instrumentación.

PREGUNTAS DE REPASO

- ¿Cuál de los siguientes fenómenos ocurre en lactantes inmediatamente después de nacer?
 - Función hepática y metabolismo de la bilirrubina normales.
 - Cierre de los conductos arteriosos y respiración adulta.
 - Tasas adultas de filtración glomerular por los riñones.
 - Homeostasis normal del agua.
- ¿Cuánta sangre se obtendrá en cualquier momento dado de un bebé de 3.1 kg?
 - No más de 10 ml.
 - No más de 20 ml.
 - No más de 1 ml.
 - No más de 2.5 ml.
- Al elegir un analizador químico para un laboratorio pediátrico, es necesario que:
 - Tenga un tiempo de respuesta rápido.
 - Pueda analizar volúmenes pequeños.
 - Tenga un menú extenso.
 - Tenga automatización de principio a fin.
- Los valores elevados de amoníaco sanguíneo ocasionan:
 - Acidosis metabólica.
 - Alcalosis metabólica.
 - Alcalosis respiratoria.
 - Acidosis respiratoria.
- Las pruebas en el sitio de cuidado son útiles cuando:
 - Se requieren los resultados con rapidez.
 - Solo están disponibles tamaños pequeños de muestra.
 - El dispositivo se puede conectar al SIL del hospital.
 - No se necesitan muestras con control de calidad.
- ¿Cuál de las siguientes inmunoglobulinas son proporcionadas al nuevo bebé por la madre?
 - IgG.
 - IgD.
 - IgM.
 - IgA.
- ¿Cual de las siguientes hormonas secreta la hipófisis?
 - Hormona del crecimiento.
 - Testosterona.
 - Factor de crecimiento semejante a la insulina.
 - Hormona estimulante de la tiroides.
- La espectrometría de masas en tándem se utiliza para detectar:
 - Fibrosis quística.
 - Deficiencia inmunitaria combinada.
 - Entre 25 y 30 enfermedades metabólicas.
 - Panhipopituitarismo.
- Los niveles de fármacos aminoglucósidos, como la gentamicina, son medidos:
 - Treinta minutos después de una dosis.
 - Tres horas después de una dosis.
 - De manera constante.
 - En cualquier momento.

REFERENCIAS

- Green A, Morgan I, Gray J. Neonatology and Laboratory Medicine. London: ACB Venture Publications, 2003.
- Soldin SJ, Rifai N, Hicks JMB, eds. Biochemical Basis of Pediatric Disease. Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry, 1992.
- Gill FN, Bennett MJ. The pediatrics unit. In: Price CP, Hicks JM, eds. Point of Care Testing. Washington, D.C.: American Association for Clinical Chemistry, 1999.
- Goldenberg RL, Mercer BM, Iams JD. The preterm prediction study: patterns of cervicovaginal fetal fibronectin as predictors of spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:8-12.
- Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 5th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001.
- Newman DJ. Cystatin C. *Ann Clin Biochem* 2002;39:89-104.
- Scriber CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8th ed. New York: McGraw-Hill, 2001.
- Hommes FA, ed. Techniques in Diagnostic Human Biochemical Genetics. New York: Wiley-Liss, 1991.
- Baskin LB, Wians FH, Elder F. Preconception and prenatal screening for cystic fibrosis. *MLO Med Lab Observer* 2002;34(10):8-12.
- Hallworth M, Capps N. Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Biochemistry. London: ACB Venture Publications, 1993.

Apéndices

- A Unidades básicas del SI
- B Prefijos por utilizarse con unidades del SI
- C Conversiones básicas de laboratorio clínico
- D Conversión de unidades tradicionales a unidades del SI para analitos químicos frecuentes
- E Concentraciones de ácidos y bases usados con fórmulas relacionadas
- F Ejemplos de químicos incompatibles
- G Nomograma para la determinación del área de la superficie corporal
- H Nomograma de fuerza centrífuga relativa
- I Centrifugación: ajuste de la velocidad y el tiempo
- J Cuadro de conversión de transmitancia-absorbancia porcentual
- K Pesos atómicos seleccionados
- L Características de los tipos de vidrio
- M Características de los tipos de plástico
- N Resistencia química de los tipos de plástico
- O Limpieza del material de laboratorio
- P Cuadro de resumen de parámetros farmacocinéticos
- Q Información seleccionada sobre fármacos que suelen causar adicción
- R Tabla periódica de los elementos

Para conocer información adicional, consulte la última edición de una de las siguientes estupendas referencias:
Bold AM y Wilding P, *Clinical Chemistry Companion*, Oxford, Reino Unido: Blackwell Scientific Publications.
Weast RC, *CRC Handbook of Clinical Chemistry*, Boca Raton, FL: CRC Press.
Werner M, *CRC Handbook of Clinical Chemistry*, Boca Raton, FL: CRC Press.

APÉNDICE A. UNIDADES BÁSICAS DEL SI

MEDIDA	NOMBRE	SÍMBOLO
Longitud	Metro	m
Masa	Kilogramo	kg
Cantidad de sustancia	Mol	mol
Tiempo	Segundo	s
Corriente eléctrica	Amperio	A
Temperatura termodinámica	Kelvin	K
Intensidad luminosa	Candela	cd

Nota: Las unidades del SI (Sistema Internacional de Unidades) son aquellas que tienen una definición reconocida por acuerdo internacional. Observe que algunas unidades del SI tienen símbolos escritos con mayúsculas. Esto es para evitar confusión con prefijos del SI en los que se usa el mismo símbolo en letra.

APÉNDICE B. PREFIJOS POR UTILIZARSE CON UNIDADES DEL SI

FACTOR	PREFIJO	SÍMBOLO
10^{-18}	ato	a
10^{-15}	femto	f
10^{-12}	pico	p
10^{-9}	nano	n
10^{-6}	micro	μ
10^{-3}	mili	m
10^{-2}	centi	c
10^{-1}	deci	d
10^1	deca	da
10^2	hecto	h
10^3	kilo	k
10^6	mega	M
10^9	giga	G
10^{15}	peta	P
10^{18}	exa	E

Nota: los prefijos se usan para indicar una subunidad o múltiplo de una unidad básica del SI.

APÉNDICE C. CONVERSIONES BÁSICAS DE LABORATORIO CLÍNICO

CONVERSIONES DE LONGITUD, VOLUMEN Y PESO			CONVERSIONES DE TEMPERATURA		
PARA CONVERTIR	EN	MULTIPLIQUE POR	PARA CONVERTIR	EN	USO
Pulgadas	Centímetros	2.54	Centígrado (°C)	Kelvin (°K)	$^{\circ}\text{K} = ^{\circ}\text{C} + 273$
Centímetros	Pulgadas	0.39	Centígrado (°C)	Fahrenheit (°F)	$^{\circ}\text{F} = (^{\circ}\text{C} \times 1.8) + 32$
Yardas	Metros	0.91	Fahrenheit (°F)	Centígrado (°C)	$^{\circ}\text{C} = (^{\circ}\text{F} - 32) \times 0.556$
Metros	Yardas	1.09	CONVERSIONES DE LA CONCENTRACIÓN		
Galones (E.U.)	Litros	3.78	PARA CONVERTIR	EN	USO
Litros	Galones (E.U.)	0.26	% p/v	Molaridad (M)	$M = \frac{\% \text{ p/v} \times 10}{\text{GMW}}$
Onzas líquidas (E.U.)	Mililitros	29.6	% p/v	Normalidad (N)	$N = \frac{\% \text{ p/v} \times 10}{\text{eq wt}}$
Mililitros	Onzas líquidas (E.U.)	0.034	meq/dl	meq/L	$\text{mEq/L} = \frac{\text{mg/dl} \times 10}{\text{eq wt}}$
Onzas	Gramos	28.4	Molaridad	Normalidad	$N = M \times \text{valencia}$
Gramos	Onzas	0.035			
Libras	Kilogramos	0.45			
Kilogramos	Libras	2.2			

APÉNDICE D. CONVERSIÓN DE UNIDADES TRADICIONALES A UNIDADES DEL SI PARA ANALITOS QUÍMICOS FRECUENTES^a

	CONVENCIONAL/COMÚN	UNIDAD DEL SI	FACTOR DE CONVERSIÓN
Albúmina	g/100 ml	g/L	10
Aspartato aminotransferasa (AST)	U/L (mU/ml)	μkat/L	0.0167
Amoniaco	μg/dl	μmol/L	0.587
Bicarbonato (HCO ₃)	meq/l	mmol/L	1.0
Bilirrubina	mg/dl	μmol/L	17.1
NUS	mg/dl	mmol/L	0.357
Calcio	mg/dl	mmol/L	0.25
Cloruro	meq/L	mmol/L	1.0
Colesterol	mg/dl	mmol/L	0.026
Cortisol	μg/dl	μmol/L	0.0276
Creatinina	mg/dl	μmol/L	88.4
Eliminación de creatinina	ml/min	ml/s	0.0167
Ácido fólico	ng/ml	nmol/L	2.27
Glucosa	mg/dl	mmol/L	0.0555
Hemoglobina	g/dl	g/L	10
Hierro	mg/dl	μmol/L	0.179
Litio	meq/L	μmol/L	1.0
Magnesio	meq/L	mmol/L	0.5
Osmolalidad	mosm/kg	mmol/kg	1.0
Fósforo	mg/dl	mmol/L	0.323
Potasio	meq/L	mmol/L	1.0
Sodio	meq/L	mmol/L	1.0
Tiroxina (T ₄)	μg/dl	nmol/L	12.9
Proteína total	g/dl	g/L	10
Triglicérido	mg/dl	mmol/L	0.0113
Ácido úrico	mg/dl	mmol/L	0.0595
Vitamina B ₁₂	ng/ml	pmol/L	0.0738
PCO ₂	mm/Hg	kPa	0.133
PO ₂	mm/Hg	kPa	0.133

^aPara obtener la unidad del SI, multiplique la unidad común por el factor de conversión. Para obtener la unidad convencional o común, divida la unidad del SI entre el factor de conversión.

APÉNDICE E. CONCENTRACIONES DE ÁCIDOS Y BASES USADOS CON FÓRMULAS RELACIONADAS

SUSTANCIA QUÍMICA	FÓRMULA QUÍMICA	FÓRMULA PESO/PGM	PESO EQUIVALENTE	PROMEDIO DE GRAVEDAD ESPECÍFICA DE REACTIVO DE CONC ^a	% PROMEDIO DE PUREZA DE REACTIVO DE CONC ^a	NORMALIDAD DE REACTIVO DE CONC. (APROXIMADO)
Hidróxido de amonio	NH ₄ OH	35.05	35.05	0.90	28.0	15
Ácido acético (glacial)	CH ₃ COOH	60.05	60.05	1.06	99.5	18
Ácido fórmico	HCOOH	46.03	46.03	1.20	88.0	23
Ácido clorhídrico	HCl	36.46	36.46	1.19	37.0	12
Ácido nítrico	HNO ₃	63.02	63.02	1.42	70.0	16
Ácido perclórico	HClO ₄	100.46	100.46	1.67	71.0	12
Ácido fosfórico	H ₃ PO ₄	98.00	32.67	1.69	85.0	44
Ácido sulfúrico	H ₂ SO ₄	98.08	49.04	1.84	96.0	36

Conc. = concentración.

^aVaría de acuerdo con la porción y/o fabricante. Fórmulas relacionadas:

Molaridad (M) = g/L/PGM

Peso equivalente (peso eq) = PGM/valencia

Normalidad (N) = g/L/p eq

Gravedad específica (gr esp.): gr esp. × % de pureza (en forma decimal) = g de soluto/ml

APÉNDICE F. EJEMPLOS DE QUÍMICOS INCOMPATIBLES

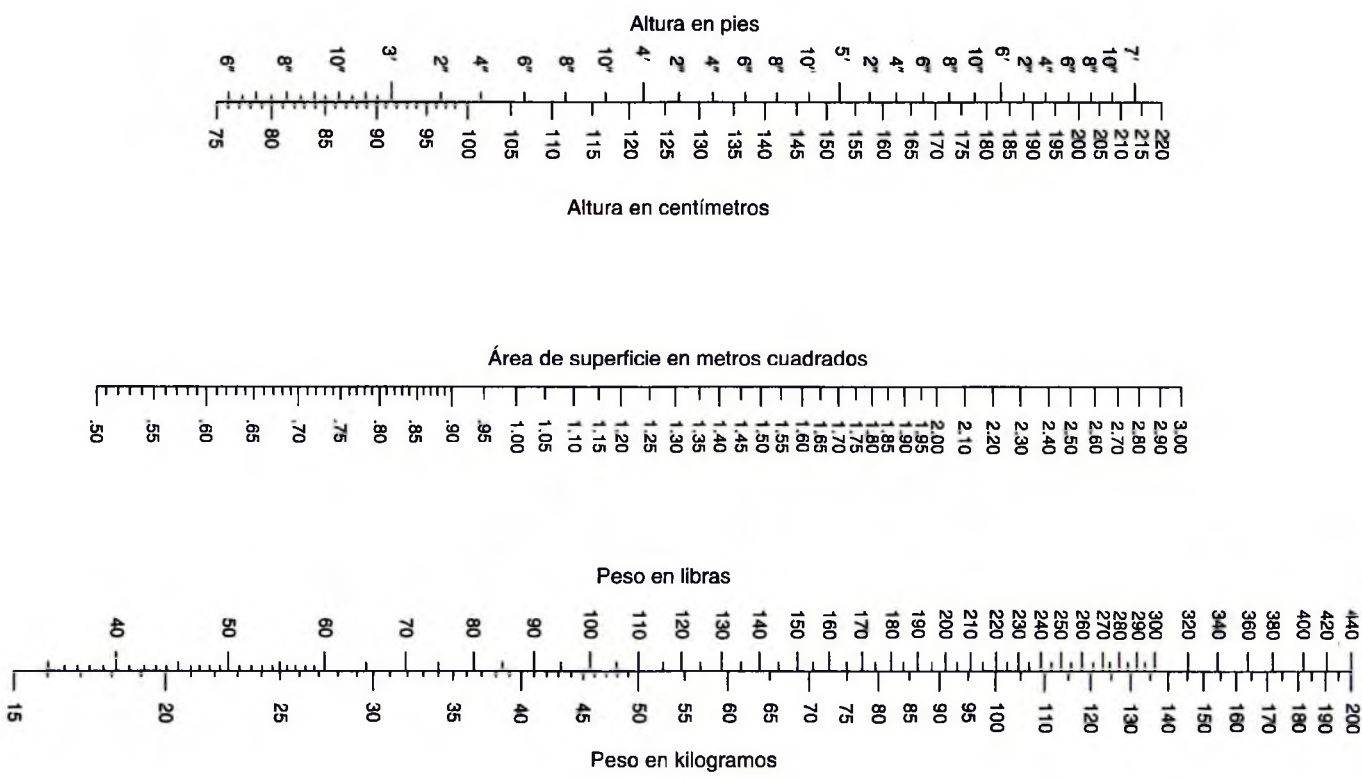
QUÍMICO	ES INCOMPATIBLE CON
Ácido acético	Ácido crómico, ácido nítrico, compuestos hidroxilo, etilenglicol, ácido perclórico, peróxidos, permanganatos
Acetileno	Cloro, bromo, cobre, flúor, plata, mercurio
Acetona	Mezclas concentradas de ácido nítrico y sulfúrico
Álcali y los metales de tierra alcalina (como aluminio o magnesio en polvo, calcio, litio, sodio, potasio)	Agua, tetracloruro de carbono u otros hidrocarburos clorinados, dióxido de carbono, halógenos
Amoniaco (anhidro)	Mercurio (en manómetros, por ejemplo), cloro, hipoclorito del calcio, yodo, bromo, el ácido hidrofúrico (anhidro)
Nitrato de amonio	Ácidos, metales en polvo, líquidos inflamables, cloratos, nitritos, azufre, materiales orgánicos o combustibles finamente divididos
Anilina	Ácido nítrico, peróxido de hidrógeno
Materiales arsenicales	Cualquier agente reductor
Azidas	Ácidos
Bromo	Véase cloro
Óxido del calcio	Agua
Carbono (activado)	Hipoclorito del calcio, todos los agentes oxidantes
Tetracloruro de carbono	Sodio
Cloratos	Sales de amonio, ácidos, metales en polvo, azufre, materiales orgánicos o combustibles finamente divididos
Ácido crómico y tritóxido de cromo	Ácido acético, naftaleno, alcanfor, glicerol, alcohol, líquidos inflamables en general
Cloro	Amoniaco, acetileno, butadieno, butano, metano, propano (u otros gases del petróleo), hidrógeno, carburo de sodio, benceno, metales finamente divididos, trementina
Dióxido del cloro	Amoniaco, metano, fosfuro, sulfuro de hidrógeno
Cobre	Acetileno, peróxido de hidrógeno
Hidroperóxido de cumina	Ácidos (orgánicos o inorgánicos)
Cianuros	Ácidos
Líquidos inflamables	Nitrato de amonio, ácido crómico, peróxido de hidrógeno, ácido nítrico, peróxido de sodio, halógenos
Flúor	Todos
Hidrocarburos (como butano, propano, benceno)	Flúor, cloro, bromo, ácido crómico, peróxido de sodio
Ácido hidrocianico	Ácido nítrico, álcali
Ácido hidrofúrico (anhidro)	Amoniaco (acuoso o anhidro)
Peróxido de hidrógeno	Cobre, cromo, hierro, la mayoría de los metales o sus sales, alcohol, acetona, materiales orgánicos, anilina, nitrometano, materiales combustibles

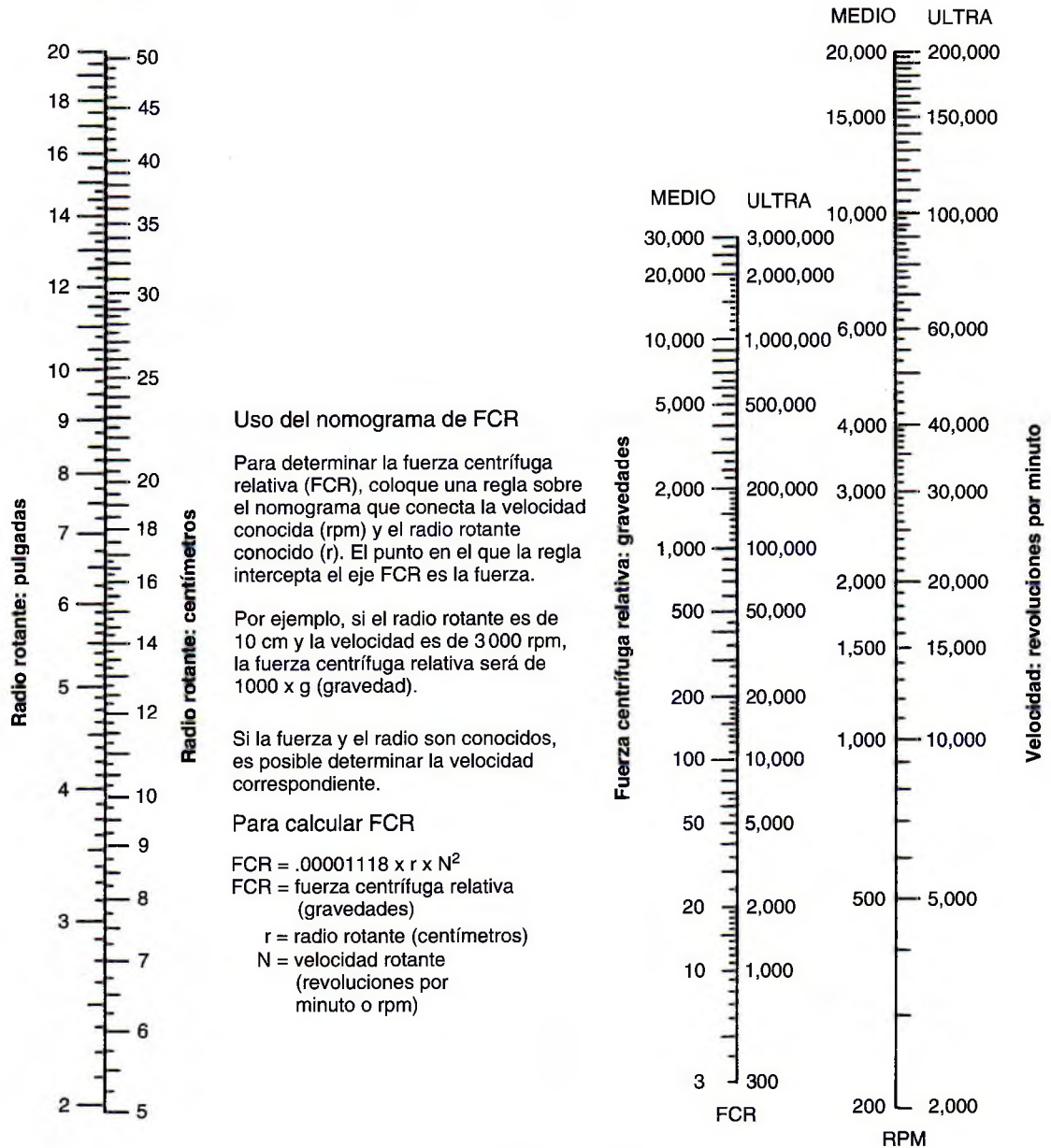
APÉNDICE F. EJEMPLOS DE QUÍMICOS INCOMPATIBLES (CONTINUACIÓN)

QUÍMICO	ES INCOMPATIBLE CON
Sulfuro de hidrógeno	Ácido nítrico fumante, gases oxidantes
Hipocloritos	Ácidos, carbono activado
Yodo	Acetileno, amoníaco (acuoso o anhidro), hidrógeno
Mercurio	Acetileno, ácido fulmínico, amoníaco
Nitratos	Ácido sulfúrico
Ácido nítrico (concentrado)	Ácido acético, anilina, ácido crómico, ácido hidrocianico, sulfuro de hidrógeno, líquidos inflamables, gases inflamables, cobre, latón, cualquier metal pesado
Nitritos	Ácidos
Nitroparafinas	Bases inorgánicas, aminas
Ácido oxálico	Plata, mercurio
Oxígeno	Aceites, grasa, hidrógeno, líquidos inflamables, sólidos o gases
Ácido perclórico	Anhídrido acético, bismuto y sus aleaciones, alcohol, papel, madera, grasa, aceites
Peróxidos, orgánicos	Ácidos (orgánicos o minerales), evitar fricción, almacenamiento frío
Fósforo (blanco)	Aire, oxígeno, álcalis, agentes reductores
Potasio	Tetracloruro de carbono, dióxido de carbono, agua
Clorato de potasio	Sulfúrico y otros ácidos
Perclorato de potasio (véase también cloratos)	Sulfúrico y otros ácidos
Permanganato de potasio	Glicerol, etilenglicol, benzaldehído, ácido sulfúrico
Selenidas	Agentes reductores
Plata	Acetileno, ácido oxálico, ácido tartárico, compuestos de amonio, ácido fulmínico
Sodio	Tetracloruro de carbono, dióxido de carbono, agua
Nitrito de sodio	Nitrato de amonio y otras sales de amonio
Peróxido de sodio	Alcohol etílico o metílico, ácido acético glacial, anhídrido acético, benzaldehído, disulfuro de carbono, glicerina, etilenglicol, acetato de etilo, acetato de metilo, furfural.
Sulfuros	Ácidos
Ácido sulfúrico	Clorato de potasio, perclorato de potasio, permanganato de potasio (compuestos similares o metales ligeros, como sodio, litio)
Teluros	Agentes reductores

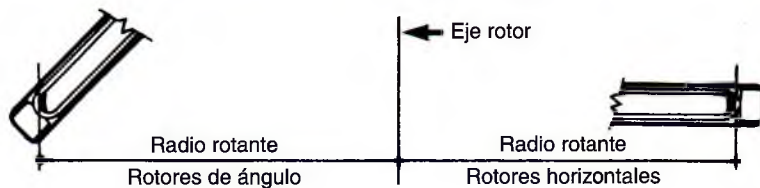
Reimpreso con autorización de National Research Council, Committee on Hazardous Substances in the Laboratory. Prudent Practices for Handling Hazardous Chemicals in Laboratories. Washington, D.C.: National Academy Press, 1981. Para conocer información adicional, véase Pipitone DA. Safe Storage of Laboratory Chemicals, 2a. ed., Nueva York: John Wiley & Sons, 1991.

APÉNDICE G. NOMOGRAMA PARA LA DETERMINACIÓN DEL ÁREA DE LA SUPERFICIE CORPORAL



APÉNDICE H. NOMOGRAMA DE FUERZA CENTRÍFUGA RELATIVA

Radio de extremo rotante

La distancia medida del eje rotor hacia el extremo del líquido dentro de los tubos a la distancia más horizontal del eje rotor es el radio de extremo rotante.



APÉNDICE I. CENTRIFUGACIÓN: AJUSTE DE LA VELOCIDAD Y EL TIEMPO

Utilice la siguiente fórmula para calcular la nueva velocidad necesaria para lograr la fuerza centrífuga relativa especificada en el procedimiento original, dado un rotor diferente con un radio diferente.

$$RPM = 1000 \sqrt{\frac{FCR}{1.12r}}$$

donde

RPM = revoluciones por minuto (velocidad)

FCR = fuerza centrífuga relativa

r = radio de extremo rotante en milímetros
(verifíquense las especificaciones del rotor del fabricante)

Utilice esta fórmula para calcular el nuevo tiempo de centrifugación necesario cuando se emplea un rotor diferente.

$$t_N = \frac{t_0 \times FCR_0}{FCR_N}$$

donde

t_N = tiempo de centrifugación necesario con rotor diferente

t_0 = tiempo (min) especificado en el procedimiento original

FCR_N = fuerza centrífuga relativa del rotor diferente

FCR_0 = fuerza centrífuga relativa especificada en el procedimiento original

APÉNDICE J. CUADRO DE CONVERSIÓN DE TRANSMITANCIA-ABSORBANCIA PORCENTUAL

ABSORBANCIA ^a					ABSORBANCIA ^a				
%T	.00	.25	.50	.75	%T	.00	.25	.50	.75
1	2.000	1.903	1.824	1.757	52	.284	.282	.280	.278
2	1.690	1.648	1.602	1.561	53	.276	.274	.272	.270
3	1.523	1.488	1.456	1.426	54	.268	.266	.264	.262
4	1.398	1.372	1.347	1.323	55	.260	.258	.256	.254
5	1.301	1.280	1.260	1.240	56	.252	.250	.248	.246
6	1.222	1.204	1.187	1.171	57	.244	.242	.240	.238
7	1.155	1.140	1.126	1.112	58	.237	.235	.233	.231
8	1.097	1.083	1.071	1.059	59	.229	.227	.226	.224
9	1.046	1.034	1.022	1.011	60	.222	.220	.218	.216
10	1.000	.989	.979	.969	61	.215	.213	.211	.209
11	.959	.949	.939	.930	62	.208	.206	.204	.202
12	.921	.912	.903	.894	63	.201	.199	.197	.196
13	.886	.878	.870	.862	64	.194	.192	.191	.189
14	.854	.846	.838	.831	65	.187	.186	.184	.182
15	.824	.817	.810	.803	66	.181	.179	.177	.176
16	.796	.789	.782	.776	67	.174	.172	.171	.169
17	.770	.763	.757	.751	68	.168	.166	.164	.163
18	.745	.739	.733	.727	69	.161	.160	.158	.157
19	.721	.716	.710	.704	70	.155	.153	.152	.150
20	.699	.694	.688	.683	71	.149	.147	.146	.144
21	.678	.673	.668	.663	72	.143	.141	.140	.138
22	.658	.653	.648	.643	73	.137	.135	.134	.132
23	.638	.634	.629	.624	74	.131	.129	.128	.126
24	.620	.615	.611	.606	75	.125	.124	.122	.121
25	.602	.598	.594	.589	76	.119	.118	.116	.115
26	.585	.581	.577	.573	77	.114	.112	.111	.100
27	.569	.565	.561	.557	78	.108	.107	.105	.104
28	.553	.549	.545	.542	79	.102	.101	.100	.098
29	.538	.534	.530	.527	80	.097	.096	.094	.093

**APÉNDICE J. CUADRO DE CONVERSIÓN DE TRANSMITANCIA-ABSORBANCIA PORCENTUAL
(CONTINUACIÓN)**

%T	ABSORBANCIA ^a				%T	ABSORBANCIA ^a			
	.00	.25	.50	.75		.00	.25	.50	.75
30	.523	.520	.516	.512	81	.092	.090	.089	.088
31	.509	.505	.502	.498	82	.086	.085	.084	.082
32	.495	.491	.488	.485	83	.081	.080	.078	.077
33	.482	.478	.475	.472	84	.076	.074	.073	.072
34	.469	.465	.462	.459	85	.071	.069	.068	.067
35	.456	.453	.450	.447	86	.066	.064	.063	.062
36	.444	.441	.438	.435	87	.061	.059	.058	.057
37	.432	.429	.426	.423	88	.056	.054	.053	.052
38	.420	.417	.414	.412	89	.051	.049	.048	.047
39	.409	.406	.403	.401	90	.046	.045	.043	.042
40	.398	.395	.392	.390	91	.041	.040	.039	.037
41	.387	.385	.382	.380	92	.036	.035	.034	.033
42	.377	.374	.372	.369	93	.032	.030	.029	.028
43	.367	.364	.362	.359	94	.027	.026	.025	.024
44	.357	.354	.352	.349	95	.022	.021	.020	.019
45	.347	.344	.342	.340	96	.018	.017	.016	.014
46	.337	.335	.332	.330	97	.013	.012	.011	.010
47	.328	.325	.323	.321	98	.009	.008	.007	.006
48	.319	.317	.314	.312	99	.004	.003	.002	.001
49	.310	.308	.305	.303	100	.0000	.0000	.0000	.0000
50	.301	.299	.297	.295					
51	.292	.290	.288	.286					

^aAbsorbancia = 2 - log % T.

APÉNDICE K. PESOS ATÓMICOS SELECCIONADOS

ELEMENTO	SÍMBOLO	NÚMERO ATÓMICO	PESO ATÓMICO ^A	VALENCIA
Aluminio	Al	13	26.98	3
Antimonio	Sb	51	121.75	3,5
Argón	Ar	18	39.95	0
Arsénico	As	33	74.92	3,5
Bario	Ba	56	137.34	2
Berilio	Be	4	9.01	2
Bismuto	Bi	83	208.98	3,5
Boro	B	5	10.81	3
Bromo	Br	35	79.90	1,3,5,7
Cadmio	Cd	48	112.40	2
Calcio	Ca	20	40.08	2
Carbono	C	6	12.01	2,4
Cerio	Ce	58	140.12	3,4
Cesio	Cs	55	132.91	1
Cinc	Zn	30	65.37	2
Cloro	Cl	17	35.45	1,3,5,7
Cromo	Cr	24	51.99	2,3,6
Cobalto	Co	27	58.93	2,3
Cobre	Cu	29	63.55	1,2
Estaño	Sn	50	118.69	2,4
Estroncio	Sr	38	87.62	2
Flúor	F	9	18.99	1
Fósforo	P	15	30.97	3,5
Helio	He	2	4.00	0
Hidrógeno	H	1	1.01	1
Hierro	Fe	26	55.85	2,3
Litio	Li	3	6.94	1
Magnesio	Mg	12	24.31	2
Manganeso	Mn	25	54.94	2,3,4,6,7
Mercurio	Hg	80	200.59	1,2
Molibdeno	Mo	42	95.94	3,4,6
Níquel	Ni	28	58.71	2,3
Nitrógeno	N	7	14.01	3,5
Oro	Au	79	196.97	1,3
Oxígeno	O	8	16.00	2
Plata	Ag	47	107.87	1
Platino	Pt	78	195.09	2,4
Plomo	Pb	82	207.19	2,4
Potasio	K	19	39.10	1
Rubidio	Rb	37	85.47	1
Selenio	Se	34	78.96	2,4,6
Silicio	Si	14	28.09	4

APÉNDICE K. PESOS ATÓMICOS SELECCIONADOS (CONTINUACIÓN)

ELEMENTO	SÍMBOLO	NÚMERO ATÓMICO	PESO ATÓMICO ^a	VALENCIA
Sodio	Na	11	22.99	1
Sulfuro	S	16	32.06	2,4,6
Telurio	Te	52	127.60	2,4,6
Tungsteno	W	74	183.85	6
Uranio	U	92	238.03	4,6
Xenón	Xe	54	131.30	0
Yodo	I	53	126.90	1,3,5,7
Zirconio	Zr	40	91.22	4

^aLos pesos atómicos están basados en C¹² y se han redondeado a dos decimales.

APÉNDICE L. CARACTERÍSTICAS DE LOS TIPOS DE VIDRIO

CATEGORÍA	TIPO DE MATERIAL	NOMBRES COMUNES O DE MARCA	USOS RUTINARIOS	LIMITACIONES
Resistencia térmica elevada	Borosilicato con bajo contenido alcalino	Pyrex Kimax	Para todos los propósitos, todos los tipos de vasos de precipitados, frascos, etc. Puede tolerar calentamiento y esterilización por largos períodos a 510°C	No debe enfriarse con demasiada rapidez después del calentamiento Pueda opacarse después del uso con un álcali fuerte Sujeto al rayado
	Aluminosilicato	Corex	Tubos para centrifugar y termómetros Extremadamente duro y resistente Estabilidad de temperatura a 672°C; uso de corto plazo a 850°C.	Resistencia al rayado Sujeto a cierto ataque de ácido o álcali a temperatura de 100°C
		Vycor	Técnicas para cenizas e ignición. Resiste temperaturas muy altas (900 a 1 200°C), así como cambios drásticos de temperatura. La mayor parte son resistentes a álcalis en esta categoría	
Sílice elevada	96% sílice		Cuvets y termómetros Pueden usarse a temperaturas altas (900 a 1 200°C) y resisten un cambio marcado en temperatura Se le considera puro desde el punto de vista óptico (cuvets, termómetros)	
Resistencia alta a los álcalis	Aluminosilicato		Puede usarse con álcalis fuertes y sufrir ataque mínimo (0.09 contra 1.4 mg/cm ² para borosilicato o 0.35 mg/cm ² para aluminosilicato regular)	Debe calentarse y enfriarse con cuidado La temperatura más elevada para su uso seguro es de 578°C.

APÉNDICE M. CARACTERÍSTICAS DE LOS TIPOS DE PLÁSTICO

PLÁSTICO	LÍMITE DE TEMPERATURA (°C)	TRANSPARENCIA	AUTOESTERILIZABLE	FLEXIBILIDAD	EJEMPLOS DE USO
Poliestireno (PS)	70	Claro	No	Rígido	Desechable
Polietileno convencional (CPE)	80	Traslúcido	No	Excelente	Para todos los propósitos Botellas para reactivo Rejilla para tubo de ensayo Garrafrones Goteros
Lineal (LPE)	120	Opaco	Con precaución	Rígido	Contenedores para transporte de muestra Botellas para reactivo
Polipropileno (PP)	135	Traslúcido	Sí	Rígido	Cierres de tapa enroscable Botellas
Tigon	95	Translúcido	Sí	Excelente	Tubos
Teflón FEP	205	Claro Traslúcido	Sí	Excelente	Llaves de paso Botellas de lavado Vasos de precipitados
Policarbonato (PC)	135	Muy claro	Sí	Rígido	Para todos propósitos Contenedores grandes para reactivo Garrafrones Rejilla para tubo de ensayo
Cloruro de polivinilo ^a (PVC)	70	Claro	No	Rígido	Botellas/tubos

^aLos tubos de PVC pueden calentarse a 120°C, se autoesterilizan y son muy flexibles.

APÉNDICE N. RESISTENCIA QUÍMICA DE LOS TIPOS DE PLÁSTICO

PLÁSTICO	RESISTENCIA QUÍMICA ^a
Poliestireno	Útil con agua y soluciones salinas acuosas. No se recomienda para el uso con ácidos, aldehídos, cetonas, éteres, hidrocarburos, o aceites esenciales. Es posible utilizar alcoholes y bases, pero no se recomienda el almacenamiento por más de 24 horas.
Polietileno	Ambas clasificaciones del polietileno (es decir, convencional y lineal) tienen similar resistencia química. Cuentan con estupenda resistencia química a la mayor parte de las sustancias, con la excepción de aldehídos, aminas, éteres, hidrocarburos y aceites esenciales. En el caso de polietileno convencional, las excepciones también incluyen lubricantes y silicones. El empleo de cualquiera de los grupos antes mencionados se limitará a 24 h a temperatura ambiente.
Polipropileno	Tiene la misma resistencia química que el polietileno lineal.
Teflón	Esta resina posee estupenda resistencia química a casi todos los químicos usados en el laboratorio químico.
Policarbonato	Muy sensible al daño por la mayor parte de los químicos. Es resistente al agua, sales acuosas, alimento y ácidos inorgánicos por un largo período.

^aHay que notar que esta información se basa en la temperatura ambiente (22°C) y presión atmosférica normal. La resistencia a químicos disminuye a medida que la temperatura de la resina se acerca a su valor máximo. La resistencia química también variará a medida que aumente la concentración del químico.

APÉNDICE O. LIMPIEZA DEL MATERIAL DE LABORATORIO

"PROBLEMA" DE LA CRISTALERÍA	TÉCNICA DE LIMPIEZA
Uso general (el procedimiento 1 es recomendado para necesidades rutinarias de lavado)	<p>1. La cristalería sucia se colocará de inmediato en una solución jabonosa o de blanqueador diluida y se permitirá que se remoje. Se debe lavar con cualquier detergente diseñado para el material de laboratorio. Enjuague con agua del grifo tres veces, seguido por un enjuague con agua destilada. Seque al horno a una temperatura menor de 140°C.</p> <p>2. Dicromato ácido. Disuelva 50 g de dicromato de sodio de grado técnico en 50 ml de agua destilada. Agregue esta mezcla a 500 ml de ácido sulfúrico concentrado de grado técnico. Esta solución es útil hasta que se desarrolla un color verde. Almacene en un recipiente de vidrio cubierto. Remoje la cristalería durante la noche y luego enjuague con amoníaco diluido. Vuelva a lavar la cristalería de acuerdo con el procedimiento 1.</p> <p>3. Ácido nítrico (20%). Remoje por 12 a 24 h. Lave de acuerdo con el procedimiento 1.</p>
Coágulos de sangre	4. Hidróxido de sodio (10%). Remoje por 12 a 24 h; luego continúe con el procedimiento rutinario. Seque micropipetas con un enjuague de acetona.
Pipetas nuevas (S1 alcalina)	5. Enjuague con ácido hidroclicórico o ácido nítrico al 5%. Lave de acuerdo con el procedimiento de rutina.
Determinaciones del ion del metal	6. Remoje en ácido (ácido nítrico al 20%), por 12 a 24 h. Enjuague con agua destilada entre tres y cuatro veces. El agua debe ser fresca en cada paso que se enjuague.
Grasa	<p>7. Remoje en cualquier solvente orgánico.</p> <p>8. Disuelva 100 g de hidróxido de potasio en 100 ml de agua destilada. Deje enfriar. Agregue 900 ml de etanol a 10% de grado comercial. No se utilice en cristalería delicada.</p> <p>9. Contrad 70 (fabricado por Decon Labs).</p>
Manchas de permanganato	<p>10. Ácido hidroclicórico al 50%. Enjuague con agua del grifo. Lave.</p> <p>11. Disuelva sulfato ferroso al 1% en ácido sulfúrico al 25%.</p>

APÉNDICE P. CUADRO DE RESUMEN DE PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS

	RANGO TERAPÉUTICO POR ml DE PLASMA	CONC. DE TÓXICO POR ml DE PLASMA	TIEMPO PARA CONC. MÁXIMA (HORAS)	VIDA MEDIA (HORAS)	% DE PROTEÍNA UNIDA	VOLUMEN DE DISTRIBUCIÓN (l/kg)	% DE BIODISPONIBILIDAD ORAL	% DE ORINA EXCRETADA SIN ALTERACIÓN
Fármacos cardioactivos								
Amiodarona	1.0–3 µg		2–6	15–100 días	95–98	70–150	22–88	0
Digitoxina	15–30 ng	>35		2.4–16.4 días	90	0.6	95	30–50
Digoxina	0.8–2 ng	>2.4	1–5	36–51	20–40	5–10	Tabletas, 60 a 75 Elíxir, 80 Cápsulas, 05 IM, 80	60–80
Disopiramida	2–5 µg	>7	0.5–3.0	5–6	10–80	0.8–2	80	
Lidocaina	1.5–5 µg 0.5–1.5 free	>5	15–30 ^a	1–2	70	1.3	25–50 ^b	5–10
Procainamida	4–10 µg	>12	1–2	2.5–4.7	15	1.7–2.2	70–95	50
NAPA	15–25 µg			4.3–15				
Total	5–30 µg							
Propranolol	50–100 ng	Variable	1–2	2–6	90–95	4–6	20–40 ^b	1–4
Quinidina	2–6 µg	>6	1–2 4–8 ^c	6–8	70–90	2–3	70–80 ^b	10–30
Fármacos antiepilépticos								
Carbamazepina	6–12 µg	>15	6–12	18–54 ^d 10–25 ^e	72–75	0.8–1.4	75–85	2
Etosuximida	40–100 µg	>150	1–4	40–60	<10	0.6–0.9	100	10–20
Fenobarbital	15–40 µg	>40	6–18	50–120	49–58	0.6	80–100	10–30
Fenitoína	10–20 µg	>20	4–8	7–42	87–93	0.5–0.8	85–95	5
Primidona	5–12 µg	>15	2–4	3.3–19	0–20	0.6–1	80–90	45–50
Ácido valproico	50–100 µg	>100	1–2	8–20	85–95	0.1–0.5	85–100	3
Broncodilatador								
Teofilina	10–20 µg	>20	2–3	6–12	55–65	0.3–0.7	95–100	9–11
Antibióticos								
Aminoglucósidos			0.5–IM ^a					
Amikacina	5–12 µg							
Máximo	50–100 µg	>32						
Mínimo	10–20 µg	>5						
Gentamicina								
Máximo	20–25 µg	>12						
Mínimo	1–4 µg	>2						
Kanamicina								
Máximo	5–10 µg	>30						
Mínimo	0.5–1.5 µg	>10						
Netilmicina								
Máximo	5–12 µg	>12						
Mínimo	0.5–1.5 µg	>2						

APÉNDICE P. CUADRO DE RESUMEN DE PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS (CONTINUACIÓN)

	RANGO TERAPÉUTICO POR ml DE PLASMA	CONC. DE TÓXICO POR ml DE PLASMA	TIEMPO PARA CONC. MÁXIMA (HORAS)	VIDA MEDIA (HORAS)	% DE PROTEÍNA UNIDA	VOLUMEN DE DISTRIBUCIÓN (l/kg)	% DE BIODISPONIBILIDAD ORAL	% DE ORINA EXCRETADA SIN ALTERACIÓN
Antibióticos (continúa)								
Estreptomicina								
Máximo	20–25 µg	>30						
Mínimo	1–3 µg	>10						
Tobramicina								
Máximo	5–12 µg	>12						
Mínimo	0.5–1.5 µg	>2						
Vancomicina								
Máximo	30–40 µg	>80		3–9	50	0.5–0.8	<2	80–90
Mínimo	5–10 µg	>20						
Cloranfenicol	10–20 µg	>25	2	1.5–3	50	0.5–1	90	10
Fármacos psicoactivos								
Amitriptilina	125–250 ng	>500	1–5	17–40	82–96	6.4–36	56–70	
Nortriptilina	50–150 ng	>500	3–12	16–88	87–95	14–38	46–70	2–5
Imipramina	150–250 ng	>500 ^f	1.5–3	6–34	63–96	9–23	29–77	1–4
Desipramina	150–300 ng	>500	3–6	11–46	73–92	15–60	31–51	1–4
Doxepina	110–250 ng		1–4	8–36	68–82	9–52	13–45	
Protriptilina	70–260 ng		6–12	54–198	90–94	15–31	75–90	
Litio	0.8–1.4 µEq	>2	1–3	8–35 ^g	0	0.5–1.0	85–95	100
Inmunosupresores								
Ciclosporina (HPLC)	100–300 ng	>400	1–8	4–60	98	3.5–4.5	4–90	<6
Antineoplásicos								
Metotrexato	Después de 24 h > 10 ⁻⁵ M		1–2	Variable	50–70	0.75–0.8	30	90
	Después de 48 h > 10 ⁻⁶ M							
	Después de 72 h > 10 ⁻⁷ M							

^aVaría de acuerdo con el régimen de dosificación, inmediatamente después de la infusión IV.

^bGran parte del fármaco metabolizado primero pasa a través del hígado.

^cPreparación de liberación lenta.

^dDespués de una sola dosis.

^eDespués de dosis múltiple.

^fImipramina + desipramina.

^gVariable con la función renal.

APÉNDICE Q. INFORMACIÓN SELECCIONADA SOBRE FÁRMACOS QUE SUELEN CAUSAR ADICCIÓN

FÁRMACO	NOMBRE CALLEJERO (NOMBRE COMERCIAL)	VÍA DE INGESTIÓN	DURACIÓN DEL EFECTO (HORAS)	VIDA MEDIA (HORAS)	EXCRETADO INTACTO EN ORINA	METABOLITOS URINARIOS PRINCIPALES	SINTOMATOLOGÍA
Estimulantes							
Cocaína	Coca, crack, copos de nieve	Nasal, oral, IV, fumada	1 a 2	2 a 5	<10%	Benzoilecgonina; ecgonina; Éster de metil ecgonina	Anestesia, euforia, confusión, depresión, convulsiones, cardiotoxicidad
Anfetamina	Bennies, dexies, superiores	Oral, IV	2 a 4	4 a 24	~30%	Ácido benzoico; p-hidroxinorefedrina; fenilacetona	Insomnio, anorexia, euforia, tolerancia y dependencia, psicosis paranoide
Metanfetamina	Meth, anfeta, cristal	Oral, IV	2 a 4	9 a 24	10–20%	4-hidroxi metanfetamina; anfetamina; 4-tiroxianfetamina; norefedrina	Euforia, agitación, psicosis, depresión, agotamiento
Narcóticos							
Heroína	Caballo, bofetada, Doña blanca, scag	IV, nasal, fumada	3 a 6	1 a 1.5	<1%	6-acetilmorfina; morfina; glucurónido de morfina	Euforia, somnolencia, depresión respiratoria, convulsiones, coma
Codeína	C; Co-Dine; Lean y dean; Muchacho escolar; Jarabe	Oral, IV, IM	3 a 6	2 a 4	5–20%	Morfina; norcodeína; conjugados	Sedación, convulsiones, insuficiencia respiratoria
Morfina	Basura, material blanco, morfo, M,	IV, IM, oral, fumada	3 a 6	2 a 4	<10%	Morfina-3-glucurónido; Morfina-6-glucurónido; Sulfato de morfina; normorfina; codeína	Analgesia, euforia, náusea, coma respiratorio
Metadona	Metadosa	Oral, IV, IM,	12 a 24	15 a 60	5–50%	2-etiliden-1,5-dimetil-3,3- difenilpirrolina; 2-etil- 5-metil-3,3-difenil-pirrolina metadol; normetadol; conjugados	Analgesia, sedación, depresión respiratoria, coma
Meperidina	(Demerol)	IV, oral	3 a 6	2 a 5	5%	Normeperidina; ácido meperidínico; ácido normeperidínico	Analgesia, estupor, depresión respiratoria, hipotensión, coma
Propoxifeno	Futboles amarillos (Darvon)	Oral	1 a 6	8 a 24	<1%	Norpropoxifeno; dinorpropoxifeno	Analgesia, estupor, depresión respiratoria, coma
Alucinógenos							
Fenciclidina (PCP)	PCP, polvo de ángel, polvo cósmico, ozono	IV, oral, nasal, fumada	2 a 4; las psicosis llegan a terminar en semanas	7 a 16	30 a 50%	4-fenil-4- piperidinociclohexanol; 1-(1-fenilciclohexil)-4- conjugados de glucurónido	Anestesia disociativa, depresión, psicosis, estupor, coma, ataques

LSD	Ácido, LSD-25, relámpago blanco, micropuntos	Oral	8 a 12	3 a 4	1%	N-desmetil-lisergida; 13-hidroxilisérgido	Alucinaciones, retrospecciones, psicosis, vómito, parálisis, depresión respiratoria
Mariguana Hachís	Olla, THC, Mary Jane, hierba, guisado	Oral, fumada	2 a 4	14 a 38	<1%	11-Nor-9-carboxi- Δ^9 -THC; 11-hidroxitetrahydrocannabinol	Percepción alterada, pérdida de la memoria, desorientación, psicosis
<i>Benzodicepinas</i>							
Clordicepóxido	(Librium)	Oral, IM	4 a 8	6 a 27	<1%	Norclordicepóxido; demoxepan; nordicepan; oxacepan; conjugados de glucurónido	Somnolencia, relajación muscular, coma
Dicepam	(Valium)	Oral, IV, IM	4 a 8	20 a 50	<1%	Nordicepan; oxacepan; 3-hidroxidicepan; conjugados de glucurónido	Somnolencia, vértigo, relajación muscular
<i>Sedantes/depresivos</i>							
Fenobarbital	Amarillo, nembies, chaquetas amarillas	Oral, IV, IM	3 a 6	15 a 48	1%	3-hidroxipentobarbital; N-hidroxipentobarbital; 3-carboxipentobarbital;	Sedación, colapso respiratorio
Amobarbital	Arcoiris, azules, pájaros azules	Oral, IV, IM	3 a 24	12 a 60	<1%	3-hidroxiamobarbital; N-glucosilamobarbital	Alegría, sedación, desorientación, depresión respiratoria, coma
Secobarbital	Rojos, Seccies, diablos rojos, M&M's	Oral, IV, IM	3 a 6	15 a 40	5%	3-hidroxisecobarbital secodiol; 5-(1-metilbutil) ácido barbitúrico	Sedación, letargo, coma, colapso respiratorio
Etanol		Oral	2 a 6	2 a 14	2 a 10%	Acetaldehído, ácido acético, glucurónido	Discurso mal pronunciado, pérdida del equilibrio, somnolencia, coma, colapso respiratorio
Metacualona	Ludes, soapers,	Oral	4 a 8	20 a 60	<1%	3',4'-, y 6-hidroximetatescualona; glucurónido respectivo	Sedación, vértigo Parestesias, convulsiones, depresión respiratoria y circulatoria
Hidrato de cloral	Jugo de alegría	Oral, rectal	5 a 8	<1%	<1%	5-8 Tricloroetanol; Ácido tricloroacético; conjugados	Sedación, dolor GI, hipotensión, depresión respiratoria

Glosario

A

- Absorbancia delta:** diferencia de absorbancia, conocida como absorbancia delta o ΔA .
- Absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA):** procedimiento de rayos X que mide la densidad mineral ósea al medir gramos de calcio por centímetro cuadrado de área de sección transversal de hueso (g/cm^2).
- Absorción atómica:** técnica analítica que mide la concentración de analito al detectar absorción de radiación electromagnética por átomos y no por moléculas. El instrumento es el espectrofotómetro de absorción atómica.
- Absorción de fármaco:** captación de un fármaco en el tubo digestivo hacia el cuerpo.
- Acceso aleatorio:** la capacidad de un analizador automatizado para procesar muestras independientemente de otras muestras en el analizador. Los analizadores de acceso aleatorio pueden ser programados para ejecutar pruebas individuales o un grupo de pruebas sin intervención de operador.
- Acidemia:** un pH de la sangre menor que el intervalo de referencia.
- Ácido:** una sustancia que puede producir un hidrógeno o un ion hidronio cuando se disuelve en agua.
- Ácido carbónico:** H_2CO_3 .
- Ácido úrico:** producto final de la descomposición de purinas de ácidos nucleicos en humanos.
- Ácido vanililmandélico (AVM):** la adrenalina y la noradrenalina son metabolizadas por las enzimas oxidasa de monoamina y catecol-O-metiltransferasa para formar metanefrinas y ácido vanililmandélico.
- Ácidos grasos:** constituyentes principales de triglicéridos y fosfolípidos. Hay ácidos grasos de cadena corta (4 a 6 átomos de carbono), media (8 a 12 átomos de carbono) y larga (>12 átomos de carbono).
- Acidosis:** un pH abajo del intervalo de referencia.
- Acidosis y alcalosis metabólicas (no respiratoria):** un trastorno debido a un cambio en la concentración de bicarbonato (una función renal o metabólica).
- Acidosis y alcalosis respiratorias:** un trastorno debido a la disfunción ventilatoria (un cambio en el PCO_2 , el componente respiratorio).
- Aclaramiento:** volumen de plasma filtrado por los glomérulos por unidad de tiempo.
- Aclaramiento de creatinina:** tasa de eliminación de creatinina desde el plasma. Calculado como concentración de creatinina en la orina multiplicada por el volumen de orina de 24 h dividida entre la concentración de creatinina sérica o UV/P, expresada en ml/minuto. Corregida por lo común con respecto al área de superficie corporal normal.
- ACM:** véase Ácido vanililmandélico.
- Acromegalia:** enfermedad crónica de los individuos de mediana edad caracterizada por la elongación de las extremidades y ciertos huesos del cráneo.
- ACTH:** véase Hormona adrenocorticotrópica.
- Activador:** una sustancia que convierte una sustancia inactiva en una sustancia activa; induce actividad.
- ADH:** véase Hormona antidiurética.
- Adrenalina:** una hormona de amina. La médula suprarrenal produce sobre todo adrenalina.
- Afinidad:** atracción o fuerza que provoca que se unan dos sustancias.
- Agammaglobulinemia congénita:** agammaglobulinemia ligada al X, conocida también como enfermedad de Bruton. Este trastorno se presenta con el inicio temprano de infecciones piogénicas recurrentes. Estos pacientes no tienen células B circulantes, tienen bajas concentraciones de clases de inmunoglobulina circulante y ausencia de células plasmáticas en todo el tejido linfóide. Las células T no intervienen.
- Agammaglobulinemia variable común:** conocida también como agammaglobulinemia adquirida. Este trastorno representa un grupo de trastornos caracterizados por hipogammaglobulinemia.
- Agente oxidante:** sustancia que acepta electrones.
- Agentes trombolíticos:** sustancias que descomponen un trombo (coágulo de sangre) (p. ej., estreptocinasa).
- Agua desionizada:** agua purificada por intercambio iónico.
- Agua destilada:** agua purificada por destilación.
- Alantoina:** producida por la oxidación del ácido úrico por la enzima uricasa. Es el producto final del metabolismo de la purina.
- Albumina transportadora de tiroxina (ATT):** una proteína que se une a la tiroxina.
- Albumina:** la proteína principal en el plasma.
- Alcalemia:** un pH sanguíneo mayor que el intervalo de referencia (≈ 7.35 a 7.45).
- Alcalosis:** un pH arriba del intervalo de referencia.
- Aldosterona:** el mineralocorticoide principal (hormona reguladora de electrolitos) que se produce en la zona glomerulosa de la corteza suprarrenal.
- Aloinjerto:** tejido de trasplante de la misma especie (p. ej., riñón).
- Amenorrea:** cese de la menstruación.
- Amina:** cualquiera de un grupo de compuestos orgánicos que contienen nitrógeno. Las hormonas de amina incluyen adrenalina, noradrenalina, tiroxina y triyodotironina.
- Aminoácido:** biomoléculas pequeñas con un carbono tetraédrico enlazado de modo covalente a un grupo amino, un grupo carboxilo, un grupo variable (R) y un átomo de hidrógeno.
- Aminoacidopatías:** trastornos hereditarios del metabolismo de aminoácidos.

Aminocentesis: punción del saco amniótico para obtener líquido para análisis.

Amoniaco: NH_3 ; formado *in vitro* de la descomposición de aminoácidos.

Amplicón: secuencias de DNA blanco amplificadas.

Analgésico: un fármaco que alivia el dolor.

Análisis centrífugo: técnica analítica que usa la fuerza generada por centrifugación para transferir y luego contener líquidos en cubetas separadas para medición en el perímetro de un rotor giratorio.

Análisis de orina: un grupo de pruebas selectivas llevadas a cabo como parte del estudio diagnóstico de admisión de un paciente o examen físico. Incluye la evaluación de características físicas, análisis químicos y examen microscópico de una muestra (aleatoria) de orina.

Análisis discreto: un enfoque al análisis automatizado en el cual cada muestra y reactivos adjuntos están en recipientes separados. Los analizadores discretos tienen la capacidad de ejecutar varias pruebas con una muestra a la vez o varias muestras con una prueba a la vez.

Analito: un soluto biológico o constituyente (p. ej. calcio, glucosa, sodio).

Analizadores modulares: instrumentos de laboratorio flexibles que pueden ser ampliados o modificados al añadir o quitar componentes a fin de satisfacer los requerimientos de prueba cambiantes del laboratorio.

Andrógeno: cualquier sustancia (hormona) que estimula el desarrollo de las características masculinas (p. ej., testosterona).

Anfotérico: que tiene dos o más sitios ionizables que pueden producir una carga neta positiva o negativa dependiendo del pH del medio.

Angina de pecho: dolor y una sensación de constricción alrededor del corazón; podría irradiarse al brazo y hacia la mandíbula, y es el resultado de la deficiencia de oxígeno en el músculo cardíaco.

Angiotensina: un polipéptido producido cuando se libera renina de los riñones; una sustancia vasopresora.

Anhidro: sin agua.

Anillar: la acción de formas pares de secuencias complementarias para formar una molécula de doble hebra, por lo regular moléculas de DNA o RNA.

Anión: un ion con carga negativa; los aniones se mueven hacia el ánodo (polo positivo) debido a su carga positiva.

Anticoagulante: inhibe la acción de coagulación de la sangre; produce especímenes que contienen factores de coagulación intactos.

Anticuerpo: glucoproteínas (inmunoglobulinas) secretadas por células plasmáticas, que a su vez están bajo el control de muchos linfocitos y sus citocinas. Los anticuerpos se producen en respuesta a los antígenos.

Anticuerpos de tiroperoxidasa (TPO): anticuerpos tiroideos; antes conocidos como anticuerpos antimicromosómicos tiroideos.

Anticuerpos receptores de tirotropina (TSHR): anticuerpos tiroideos relacionados con estados hipertiroides e hipotiroides.

Antígeno: agentes que el sistema inmunitario reconoce como extraños. En respuesta el sistema inmunitario produce anticuerpos.

Antígeno específico de tumor: un antígeno tumoral; se considera que es un producto directo de la oncogénesis inducida por oncogenes virales, radiación, carcinógenos químicos o factores de riesgo desconocidos.

Antígeno oncofetal: una proteína producida en grandes cantidades durante la vida fetal y liberada hacia la circulación fetal. Después del nacimiento, se reprime la producción de antígenos oncofetales, y sólo pequeñas cantidades están presentes en la circulación de adultos.

Antígeno relacionado con tumores: un antígeno relacionado con un tumor; se deriva del mismo tejido o de uno que tenga relación estrecha con él. Las proteínas oncofetales son un ejemplo de antígenos relacionados con tumores. Están presentes en tejido embrionario/fetal y células cancerosas.

Antioxidante: sustancia (p. ej., vitamina) que inhibe o evita la oxidación.

Apoenzima: porción de proteína de una enzima.

Apoptosis: muerte programada de células; desintegración de células del cuerpo en partículas unidas a la membrana que luego pueden ser fagocitadas por otras células.

Arritmia: latido cardíaco o acción irregular.

Arteriosclerosis: incluye varias condiciones patológicas en las que hay un aumento de espesor o endurecimiento de las paredes de las arterias.

Asa de Henle: asas descendentes o ascendentes del túbulo renal.

Ascitis: líquido en exceso en la cavidad peritoneal; el líquido se llama líquido ascítico.

Aseguramiento de la calidad: sistema o proceso que abarca (en el laboratorio) factores preanalíticos, analíticos y posanalíticos. El control de calidad es parte de un sistema de aseguramiento de la calidad.

Aterosclerosis: una enfermedad en la que hay una acumulación de material lipídico en las venas y las arterias.

ATT: véase Albúmina transportadora de tiroxina.

Automatización total del laboratorio: dispositivos automatizados y robots integrados con los analizadores existentes para llevar a cabo las fases del análisis de laboratorio.

Automatización: mecanización de los pasos en un procedimiento. Los fabricantes de analizadores químicos clínicos diseñan sus instrumentos para imitar las técnicas manuales en un procedimiento analítico.

Avidez: resistencia de enlace del complejo antígeno-anticuerpo; atracción.

Azoemia: concentración elevada de urea en la sangre.

B

Balance de nitrógeno: equilibrio entre anabolismo y catabolismo de proteínas.

Bandera: en analizadores automatizados, una advertencia impresa por computadora de un error o problema del instrumento.

Base: una sustancia que puede producir iones hidroxilo (OH^-).

Beriberi: deficiencia crónica de la vitamina tiamina que produce la enfermedad beriberi.

Bicarbonato: el anión HCO_3^- .

Bilirrubina conjugada: diglucurónido de bilirrubina; es hidrosoluble y se secreta de la célula hepática hacia los canaliculos biliares y luego pasa junto con el resto de la bilis hacia los ductos biliares más grandes y, por último, hacia los intestinos.

Bilirrubina: el pigmento principal de la bilis; derivado de la descomposición de la hemoglobina cuando en sistema reticulo-endotelial fagocita los eritrocitos envejecidos, sobre todo en el bazo, hígado y médula espinal.

Bilis: un líquido que produce el hígado y está compuesto de ácidos o sales biliares, pigmentos biliares (sobre todo ésteres de bilirrubina), colesterol y otras sustancias extraídas de la sangre. La producción biliar total promedia cerca de 3 L/día, aunque sólo se excreta un litro.

Biorriesgo: cualquier daño o posible daño al hombre, otros organismos o al ambiente. Algunos ejemplos son sangre o productos sanguíneos y desechos de laboratorio contaminados.

Bucles de retroalimentación: un sistema de control de una función fisiológica que permite la retroalimentación y la corrección con base en condiciones o concentraciones circulantes de una hormona o sustancia.

Bureta: una pipeta graduada amplia y larga con una llave en un extremo.

C

Cadena de custodia: registra cada paso y cada persona que maneja una muestra (para análisis toxicológico) desde la recolección hasta el análisis.

Cadenas pesada y ligera de miosina: proteínas de miocardio.

Calcitonina: hormona producida por la glándula tiroides; importante en el metabolismo óseo y del calcio.

Cálculo de Friedewald: cálculo usado para estimar colesterol de LDL en la práctica clínica rutinaria.

Calibración de un punto (o cálculo): un término que se refiere al cálculo de la comparación de una concentración conocida de estándar/calibrador y su absorbancia correspondiente con la absorbancia de un valor conocido.

Calibración: estandarización o la determinación de la exactitud de un instrumento.

Canal: en un analizador automatizado, una trayectoria o paso para reactivos, muestras o impulsos eléctricos. Los analizadores automatizados pueden ser analizadores de un canal o varios.

Cáncer: el crecimiento incontrolado de células del tejido normal. Las células cancerosas pueden crecer y dispersarse, matando al huésped.

Capacidad de enlace de hierro total (CEHT): una estimación de concentraciones de transferrina sérica; se obtiene al medir la capacidad de enlace de hierro total del suero de un paciente. Puesto que la transferrina representa la mayor parte de la capacidad de enlace de hierro del suero, la CEHT es, por lo común, una buena estimación de las concentraciones de transferrina sérica.

Capacidad de hemoglobina-oxígeno (enlace): la cantidad máxima de oxígeno que puede llevar la hemoglobina en una determinada cantidad de sangre.

Captación de T_3 : ensayo utilizado para medir el número de sitios de enlace disponibles de las proteínas transportadoras de tiroxina, de manera notable GTT. No se debe confundir con el ensayo de T_3 .

Carácter: el número a la izquierda del punto decimal en una expresión logarítmica.

Caracterización cardíaca: técnica invasiva donde se coloca un catéter en un vaso periférico y se hace avanzar hacia el corazón.

Carbohidrato: aldehídos polihidroxiados o cetonas polihidroxiadas, o unidades multiméricas de esta clase de compuestos.

La fórmula general de un carbohidrato es $(CH_2O)_n$.

Carcinógeno: agente causante de cáncer.

Cardiomiopatía: enfermedad del miocardio.

Cardiopatía congestiva: (también insuficiencia cardíaca congestiva) resulta de una incapacidad del corazón para bombear sangre de forma efectiva.

Cardiopatía reumática: afecta a todas las capas del corazón. Inflamación de la superficie interna del corazón (endocarditis), en particular las válvulas del corazón izquierdo, conduce a ulceración y crecimiento de vegetaciones en el revestimiento del corazón y en última instancia a daño irreversible de las válvulas.

Catión: un ion con carga positiva; los cationes migran en la dirección del cátodo como resultado de su carga positiva.

CCK: véase Colecistocinina.

Célula de Sertoli: célula de túbulos seminíferos que nutren a los espermátides.

Células de Kupffer: macrófagos fagocíticos capaces de ingerir bacterias u otro material extraño de la sangre que fluye por los sinusoides.

Células de Leydig: células de los testículos que producen testosterona.

Células foliculares (o cuboideas): uno de dos tipos de células de la tiroides; son células secretoras y producen tiroxina (T_4) y triyodotironina (T_3).

Células perifoliculares: uno de dos tipos de células que forman la glándula tiroides. También células C; se sitúan en grupos a lo largo de los espacios interfoliculares o intersticiales. Las células C producen la calcitonina polipeptídica, que participa en la regulación del calcio.

Centrifugación: un proceso donde se usa la fuerza centrífuga para separar materia sólida de una suspensión líquida.

Ceruloplasmina: una glucoproteína α_2 a la que se une el cobre; más de 90 a 95% del cobre en el plasma está unido a ceruloplasmina.

Cetona: un compuesto que contiene un grupo carbonilo ($C=O$) unido a dos átomos de carbono.

Ciclosporina: un polipéptido cíclico de origen fúngico. Consiste en 11 aminoácidos y tiene un peso molecular de 1203. Inhibe la respuesta inmunitaria de forma selectiva al inhibir la proliferación de células T activadas dependientes de interleucina 2 que destruyen el aloinjerto. La respuesta inmunitaria se paraliza y adormece.

Cifras significativas: el número mínimo de dígitos necesarios para expresar un valor particular en notación científica sin pérdida de precisión.

Cinética de orden cero: punto en la reacción enzimática cuando se forma el producto, y la enzima libre resultante se combina de inmediato con sustrato libre en exceso; la velocidad de reacción depende sólo de la concentración de la enzima.

Cinética de primer orden: punto en la reacción enzimática en el que la rapidez de la reacción depende sólo de la concentración de enzima.

Cirrosis: derivada de la palabra griega que significa "amarillo". Sin embargo, en el uso actual, la cirrosis se refiere al proceso de cicatrización irreversible mediante el cual la arquitectura hepática normal se transforma en una arquitectura nodular anormal.

Citocinas: factores extracelulares producidos por diversas células como monocitos, linfocitos u otras células linfoides. Son importantes en el control de las respuestas inflamatorias locales y sistémicas.

Citocromo: un pigmento que desempeña un papel en la respiración, como la hemoglobina o mioglobina.

Citometría de flujo: el uso de etiquetas inmunofluorescentes para identificar antígenos específicos o células vivas en suspensión. Las suspensiones de células teñidas son transportadas bajo presión más allá de un haz láser, y la fluorescencia emitida (a 90° respecto al haz) se mide y se analiza por computadora con esta técnica. Al usar varias etiquetas, las células pueden ser identificadas y clasificadas ya sea de forma electrónica o física. La técnica ha sido empleada para analizar una subpoblación de células linfocíticas en diversos diagnósticos clínicos.

Coartación de aorta: estrechamiento de la aorta en la intersección del ducto arterioso.

Código de barras: un conjunto de barras verticales de amplitud variable utilizado para codificar información. Se usa con mucha frecuencia en el laboratorio clínico para información del paciente y muestras.

Coficiente de actividad (CA): en relación con el estudio de vitaminas, una expresión que indica el incremento de la actividad enzimática en la saturación con una vitamina. Mientras mayor sea el CA, hay más probabilidades de que el paciente tenga deficiencia de vitaminas.

Coenzima: un activador enzimático (p. ej., coenzima a).

Cofactor: una molécula no proteínica que puede ser necesaria para actividad enzimática.

Colecistocinina: CCK, conocida antes como pancreozimina; una hormona que produce el páncreas. Las células de la mucosa intestinal producen CCK, en presencia de grasas o aminoácidos, o ambos, en el duodeno. A la CCK se debe que el páncreas libere enzimas de las células acinares hacia el jugo pancreático.

Colesterol: un alcohol esteroideo insaturado de alto peso molecular, que consta de un anillo de perhidrociclopentantrolina y de una cadena lateral de ocho átomos de carbono. En su forma esterificada, contiene una molécula de ácido graso.

Compensación: el intento del cuerpo por volver el pH a la normalidad siempre que ocurra un desequilibrio.

Complejo enzima-sustrato: la unión física de un sustrato con el sitio activo de una enzima.

Comprobación delta: un algoritmo en el que el resultado más reciente de un paciente se compara con el valor determinado previamente.

Comunicación interauricular (CIA): anomalía que causa cortocircuito izquierda-derecha de la sangre en las aurículas.

Comunicación peligrosa: basada en el hecho de que se debe informar a todos los empleados de cualquier riesgo para la salud relacionado con el uso de sustancias químicas; del Estándar de comunicación peligrosa de 1987 (Derecho a conocer la ley).

Concentración de fármaco de punto bajo: la concentración mínima de fármaco obtenida en la sangre. Las concentraciones de punto bajo se deben retirar de inmediato antes de la dosis siguiente.

Concentración máxima de fármaco: el tiempo después de la administración hasta que un fármaco alcanza la concentra-

ción máxima en el cuerpo. Una regla empírica que da a entender que, para concentraciones máximas de fármaco, se debe recolectar la muestra una hora después que se administró la dosis.

Conductividad: se relaciona con la facilidad con la cual pasa la electricidad por una solución.

Constante de Michaelis-Menten (K_m): constante para una enzima y sustrato específicos bajo condiciones de reacción definidas, y es una expresión de la relación entre la velocidad de una reacción enzimática y concentración de sustrato.

Contenido de oxígeno: suma de oxígeno unido a hemoglobina como O_2Hb y la cantidad disuelta en la sangre.

Control: una sustancia o material de valor determinado, utilizado para monitorear la exactitud y la presión de una prueba. Los controles se corren con las muestras del paciente.

Control de calidad: sistema para reconocer y reducir errores (analíticos). El propósito del sistema de control de calidad es monitorear procesos analíticos, detectar errores analíticos durante el análisis y evitar el informe de valores incorrectos del paciente. El control de calidad es un componente del sistema de aseguramiento de la calidad.

Corpus albicans: tejido fibroso que reemplaza un cuerpo lúteo generado.

Cortisol: una hormona esteroidea que producen las glándulas suprarrenales.

Creatina: compuesto encontrado en el músculo sintetizado de varios aminoácidos. Se combina con fosfato de alta energía para formar fosfato de creatina, que funciona como un compuesto energético en el músculo.

Creatinina: compuesto formado cuando la creatina o el fosfato de creatina pierden agua de forma espontánea o ácido fosfórico. Se secreta hacia el plasma a una tasa relativamente constante en un determinado individuo y se excreta por la orina.

Cromatografía de gases: técnica analítica que se utiliza para separar mezclas de compuestos que son volátiles o se pueden hacer volátiles. La cromatografía de gases puede ser cromatografía gas-sólido (CGS), con una fase estacionaria sólida, o cromatografía gas-líquido (CGL), con una fase estacionaria líquida no volátil.

Cromatografía líquida: técnica de separación en la que la fase móvil es un líquido.

CTHT: véase Capacidad de enlace de hierro total.

Cuerpo lúteo: cuerpo pequeño que se desarrolla dentro de un folículo ovárico roto; secreta progesterona.

Curva de disociación hemoglobina-oxígeno: una representación gráfica (en forma de S) del contenido de oxígeno como saturación de oxígeno en por ciento en función de PO_2 ; basada en el principio de que el oxígeno se disocia de la hemoglobina de adulto en un modo característico.

CHR: véase Hormona liberadora de corticotropina.

D

Defecto septal arterial: anomalía del corazón que causa cortocircuito izquierda-derecha de sangre entre las aurículas.

Defecto septal ventricular: defecto en el septo entre los ventrículos izquierdo y derecho del corazón.

Densidad: peso de una sustancia que se compara con un estándar; expresada en términos de masa por unidad de volumen.

Densidad relativa: término empleado para expresar densidad.

Densitometría de minerales óseos (DMO): procedimiento de rayos X que mide la densidad mineral ósea, gramos medidos de calcio por centímetro cuadrado de área de sección transversal del hueso (g/cm^2).

Desecador: una cámara cerrada para secar sustancias.

Desecante: que causa sequedad; material que puede eliminar humedad del aire así como de otros materiales.

Desecho peligroso: cualquier material residual potencialmente peligroso.

Deshidroepiandrosterona (DHEA): un andrógeno derivado principalmente de la glándula suprarrenal.

Desnaturalización: alteración de una sustancia (p. ej., proteínas) para alterar las propiedades físicas y químicas.

Desnutrición: un estado de ingestión reducida de calorías o micronutrientes (vitaminas y oligoelementos) que da como resultado una función fisiológica deteriorada; relacionada con mayor morbilidad y mortalidad.

Desplazamiento: un cambio repentino en los datos y la media.

Determinante antigénico: una parte de una estructura de antígeno que el sistema inmunitario reconoce como extraña. Este dominio estructural también se conoce como epitopo.

DHEA: véase Deshidroepiandrosterona.

Diabetes mellitus: un grupo diverso de trastornos hiperglucémicos con diferentes causas y cuadros clínicos.

Dialisis: un método para separar macromoléculas de un disolvente.

Difusión: el movimiento de las moléculas de una sustancia desde un lugar de mayor concentración a uno de menor concentración; como en la precipitación de difusión en gel.

Dilución: una dilución representa la relación del material concentrado o *stock* al volumen final total de una solución, y consiste en el volumen o peso del concentrado más el volumen del diluyente (las unidades de concentración son las mismas).

Dilución serial: diluciones progresivas múltiples que van de soluciones más concentradas a soluciones menos concentradas.

Disacárido: carbohidratos deparados o monosacáridos unidos.

Disfunción eréctil: incapacidad para tener o mantener una erección.

Dislipidemias: enfermedades relacionadas con concentraciones lipídicas anormales.

Disolución: un líquido que contiene una sustancia disuelta; la combinación de soluto y disolvente.

Disolvente: líquido en el que se disuelve el soluto.

Dispersión: la dispersión de datos; la mayor parte de las veces se estima simplemente mediante el intervalo, la diferencia entre las observaciones mayor y menor. La estadística más común para describir la dispersión de grupos de observaciones simples es la desviación estándar, que por lo común se representa mediante el símbolo s .

Disposición del fármaco: la forma en la que el cuerpo maneja un compuesto extraño, el fármaco. Los mecanismos que emplea el cuerpo para manejar un fármaco se pueden explicar en términos de cuatro procesos generales: absorción, distribución, metabolismo y excreción.

Distribución del fármaco: la circulación y difusión de un fármaco hacia los espacios intersticiales e intracelulares.

Diuréticos: agentes que incrementan la secreción de orina.

Dopamina: la única señal neuroendocrina que inhibe a la prolactina.

DT₅₀: dosis de un fármaco que se predice produciría una respuesta tóxica en 50% de la población.

Dúplex: un híbrido formado de hebras complementarias de ácido nucleico de fuentes no relacionadas enlazadas.

E

ECG: véase Electrocardiografía.

Ecocardiografía: técnica de diagnóstico no invasiva que utiliza ondas sonoras de alta frecuencia para mostrar la estructura cardíaca en una pantalla de TRC.

Ectópico: en una posición o ubicación anormal.

Ecuación de Henderson-Hasselbalch: ecuación que describe en forma matemática las características de disociación de ácidos y bases débiles y el efecto sobre el pH; $\text{pH} = \text{pK}_a (6.1) + \log$ de la relación de bicarbonato a dióxido de carbono ($\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$).

EDTA: ácido etilendiaminetetraacético; anticoagulante usado en tubos con tapón para recolección de sangre lavanda y azul marino. Usados comúnmente para estudios de hematología sanguínea.

Efector directo: hormona que actúa directamente en los tejidos periféricos.

Efusión: acumulaciones anormales de líquido pleural o pericárdico.

EHHS: eje hipotalámico-hipofisario tiroideo.

Eje hipotalámico-hipofisario tiroideo (EHHT): el sistema endocrino que regula la producción y secreción de hormonas tiroideas.

Electrocardiografía (ECG): prueba empleada para evaluar la estimulación eléctrica del corazón.

Electrodos: dispositivos de detección electrónicos para medir PO_2 , PCO_2 y pH.

Electrodos selectivos de iones: la semicelda o electrodo (indicador) que corresponde a un ion específico en solución.

Electroforesis: migración de solutos o partículas con carga en un campo eléctrico.

Electrólito: iones capaces de llevar una carga eléctrica.

Electroquímica: uso de celdas galvánicas o electrolíticas (celdas electroquímicas) para análisis químico. Los ejemplos incluyen potenciometría, amperometría, coulometría y polarografía.

Elemento esencial: un elemento que es absolutamente necesario para la vida. Deficiencia o ausencia del elemento causará una alteración grave de función, y en última instancia conducirá a la muerte.

Eliminación del fármaco: aclaración de un fármaco del cuerpo mediante diversos mecanismos.

Encefalopatía: trastorno o disfunción del cerebro.

Encocartitis infecciosa: inflamación del revestimiento interno de las cámaras y válvulas cardíacas; causada por diversos microorganismos.

Endógeno: triglicéridos sintetizados en el hígado u otros tejidos.

Energía de activación: energía requerida para llevar las moléculas en un mol de un compuesto a una determinada temperatura al estado de transición en el máximo de la barrera de energía.

Enfermedad de Addison: enfermedad a causa de una deficiencia en la secreción de hormonas adrenocorticales.

Enfermedad de Grave: bocio tóxico difuso. La enfermedad de Grave ocurre seis veces más en mujeres que en hombres. Ocurre con frecuencia en la pubertad, durante el embarazo, en la menopausia o después de estrés grave.

Enfermedad de Hashimoto: tiroiditis autoinmunitaria crónica; es la causa más común de hipotiroidismo primario.

Enlace peptídico: enlace que combina el grupo carboxilo de un aminoácido con el grupo amino de otro aminoácido.

Enmiendas de mejoramiento del laboratorio clínico (CLIA): regulaciones suscritas en la Ley federal de 1988; estándares obligatorios en las operaciones y examen de laboratorio clínico.

Ensayo cinético: un tipo de prueba o procedimiento en el cual hay una reacción que procede a una velocidad particular.

Ensayo heterogéneo: una técnica (p. ej., EMIT) que no requiere la separación física del antígeno enlazado y libre.

Ensayo heterogéneo: una técnica (p. ej., radioinmunoensayo) donde es necesario separar físicamente el antígeno marcado o hapteno ligado a anticuerpo de un antígeno marcado o hapteno que permanece libre en solución.

Envejecimiento: maduración; pérdida progresiva de adaptación que da lugar a viabilidad y esperanza de vida reducidas e incrementa la vulnerabilidad.

Enzima: proteínas específicas sintetizadas biológicamente que catalizan reacciones bioquímicas sin alterar el punto de equilibrio de la reacción o ser consumidas o experimentar cambios en su composición.

Epitopo: componente de un antígeno que funciona como un determinante antigénico, lo que permite la fijación de ciertos anticuerpos.

Eritropoyetina: una hormona que estimula la producción de eritrocitos.

Error aleatorio: un tipo de error analítico; el error aleatorio afecta la precisión, y es la base para la discordancia entre mediciones repetidas. Los incrementos en el error aleatorio pueden ser causados por factores como fluctuaciones técnicas y de temperatura.

Error analítico: error debido a instrumentos, procedimientos o laboratoristas en el manejo de una muestra durante el análisis.

Error preanalítico: errores introducidos durante la recolección y transporte de muestras antes del análisis.

Error sistemático: un tipo de error analítico que surge de factores que contribuyen a una diferencia constante, ya sea positiva o negativa, y afecta de manera directa la estimación de la media. Los incrementos de error sistemático pueden ser causados por estándares o reactivos de mala calidad, instrumentación con fallas, procedimientos mal escritos, etc.

Espacio aniónico: la diferencia entre aniones no medidos y cationes no medidos.

Especificidad: en relación con el control de calidad, la capacidad de un método analítico para cuantificar un analito en presencia de otros en una mezcla como el suero.

Espectrofotometría: una técnica analítica para medir la luz que absorbe una disolución. Se usa un espectrofotómetro para medir la luz transmitida por una solución a fin de determinar la concentración de la sustancia que absorbe luz en la disolución.

Espectrometría de masas en tandem: técnica analítica que permite analizar grupos completos de compuestos similares en volúmenes de muestra muy pequeños sin preparación de muestras complejas.

Estadística descriptiva: estadísticas o valores (p. ej., media, mediana, moda) utilizados para resumir características importantes de un grupo de datos.

Estadística inferencial: valores o estadísticas utilizadas para comparar características de dos o más grupos de datos.

Estado basal: temprano en la mañana antes que el paciente haya comido o tenido actividad física. Es un buen momento para tomar muestras de sangre debido a que el cuerpo está en reposo y no se ha ingerido alimento durante la noche.

Estándar: una sustancia o disolución en la que se determina la concentración. Los estándares se usan en la calibración de un instrumento o método.

Estándar de laboratorio: una regla o criterio relacionado con el laboratorio.

Estándar primario: una sustancia química altamente purificada que se puede medir de modo directo para producir una sustancia de concentración conocida exacta.

Estándar secundario: una sustancia de menor pureza cuya concentración se determina por comparación con un estándar primario.

Esteatorrea: insuficiencia para digerir o absorber grasas.

Esteroides: clasificación de hormonas; se sintetizan de colesterol por medio de las mismas trayectorias bioquímicas iniciales. El resultado final depende de la maquinaria enzimática que predomina en un órgano particular.

Estriol: una hormona estrogénica; el estriol no se produce en cantidades significativas en la madre y es sólo un reflejo de la función fetoplacentaria. Así, la medición de estriol proporciona información valiosa acerca del bienestar fetal.

Estrógeno: cualquiera del grupo de sustancias (hormonas) que introduce actividad estrogénica; en particular las hormonas estrogénicas, estradiol y estrona que produce el ovario.

Estrona: una hormona estrogénica que se encuentra en la orina de mujeres embarazadas.

Estructura cuaternaria: la configuración de dos o más cadenas de polipéptido para formar una molécula proteínica funcional.

Etapas: determinación del periodo en el curso de una enfermedad. El valor clínico principal de marcadores tumorales radica en secuenciar el tumor, monitorear respuestas terapéuticas, predecir resultados del paciente y detectar recurrencia de cáncer.

Evaluación nutricional: evaluación de las necesidades metabólicas y dietéticas (nutricionales) de un paciente.

Exactitud: sin error; proximidad al valor verdadero.

Exceso de base (EB): la cantidad teórica de ácido o base titulable requerida para volver el pH del plasma a 7.40 a una PCO_2 de 40 mmHg a 37°C.

Exógeno: triglicéridos obtenidos de fuentes dietéticas.

Extrauterino: fuera del útero o matriz.

Exudado: acumulación de líquido en una cavidad; también la producción de pus o suero. En comparación con un transudado, un exudado contiene más células y proteína. Los exudados demandan atención inmediata.

F

Factor intrínseco: una sustancia presente en el jugo gástrico que permite la absorción de vitamina B_{12} .

Falange: cualquiera de los huesos de los dedos o pies.

Fármaco bloqueador β : fármaco que reduce la frecuencia cardíaca o la fuerza de las contracciones, o ambas, de modo que se reduce la demanda de oxígeno del corazón al bloquear los receptores β en el nodo sinusal y el miocardio (p. ej., propranolol).

Farmacocinética: caracterización matemática de la disposición de un fármaco con el tiempo a fin de entender e interpretar mejor las concentraciones sanguíneas y ajustar de modo eficaz la cantidad de dosis e intervalo para mejores resultados terapéuticos con efectos tóxicos mínimos.

Fármacos de abuso: fármacos usados de manera ilegal o inapropiada; muchos fármacos tienen el potencial para abuso.

Fármacos vasodilatadores: fármacos que dilatan las arterias y venas periféricas, de modo que se reduce el esfuerzo del corazón para bombear sangre.

Fase folicular: la primera mitad del ciclo menstrual, cuando el efecto del estrógeno no tiene oposición de la progesterona, conocida también como fase proliferativa.

Fase lútea: fase en el ciclo menstrual; durante esta fase el cuerpo lúteo sintetiza progesterona. También fase secretoria.

Fase sólida: en el radioinmunoensayo (RIE), partículas sólidas o tubos en los que se absorbe el anticuerpo.

FCU: véase Fenilcetonuria.

Fenilcetonuria (FCU): ácido fenilpirúvico en la orina; una enfermedad recesiva hereditaria.

Feocromocitoma: tumores de la médula suprarrenal o ganglios simpáticos que producen y liberan grandes cantidades de catecolaminas.

Ferritina: una corteza proteínica esférica compuesta de 24 subunidades con una masa molecular de 500 kDa. La proteína puede unir hasta 4000 moléculas de hierro, lo cual la convierte en una gran fuente potencial de hierro.

Filtración: separación de sólidos de líquidos.

Filtrado: el líquido que pasa por papel filtro se llama filtrado.

Filtrado glomerular: filtrado plasmático que contiene agua y moléculas pequeñas pero carente de células y moléculas grandes como la mayor parte de las proteínas.

Filtrado libre de proteínas: filtrado claro de sangre total o plasma preparado mediante la adición de ácido u otros iones para remover proteínas.

Filtro HEPA: filtro de aire particulado de alta eficiencia; un respirador.

FIO_2 : la fracción de oxígeno inspirado; puede ser tanto como 100% cuando se suministra oxígeno.

Flebotomía: procedimiento para extraer sangre del cuerpo.

Flebotomista: un individuo que obtiene o extrae muestras de sangre.

Flujo continuo: un enfoque al análisis automatizado en el que los líquidos (reactivos, diluyentes y muestras) se bombean por un sistema de tubería continua. Las muestras se introducen de manera secuencial, una después de otra por la misma red. Una serie de burbujas de aire a intervalos regulares sirven como medios de separación y limpieza.

Flujo renal plasmático: capacidad secretoria renal.

Fluorometría: técnica analítica utilizada para medir fluorescencia (luz emitida como resultado de energía absorbida).

Forense: que pertenece a la ley o asuntos legales (p. ej., toxicología y la ley).

Fosfolípidos: formados por la conjugación de dos ácidos grasos y un glicerol fosforilado. Los fosfolípidos son anfipáticos,

lo que significa que contienen grupos con cabeza hidrofílica (amante del agua) y cadenas laterales de ácidos grasos hidrofílicos no polares (que tienen fobia al agua).

Fotometría de flama: una técnica analítica que mide la longitud de onda e intensidad de luz emitida de una solución inflamada (muestra del paciente).

Fructosamina: cualquier proteína sérica glucada.

FSH: véase Hormona estimuladora de folículos.

Fuerza iónica: concentración o actividad de iones en una solución o disolución amortiguadora.

G

Gastrina: una hormona gastrointestinal. Es un péptido secretado por células G del antro (tercio inferior) del estómago. Se libera en respuesta al contacto de alimento.

Geriatría: rama de la medicina general que trata con problemas clínicos terapéuticos y prevenibles en los ancianos, así como las consecuencias sociales de tal enfermedad.

Gerontología: estudio del proceso de envejecimiento en el cuerpo humano.

Ginecomastia: aumento anormal de la glándula mamaria en el varón.

Glándula endocrina: una glándula sin conductos que produce una secreción (hormona) en la sangre o linfa que la circulación llevará a otras partes del cuerpo.

Glándula exocrina: cualquier glándula que se excreta externamente por un conducto. Las secreciones de glándulas exocrinas no entran de modo directo a la circulación.

Glándulas paratiroides: cuatro glándulas adyacentes a la glándula tiroidea. Dos de estas glándulas se encuentran en la porción superior y dos cerca de la porción inferior de la glándula tiroides. Las glándulas paratiroides producen hormona paratiroidea, la cual controla el metabolismo del calcio y el fósforo.

Glándulas suprarrenales: órganos en pares localizados en el polo superior de cada riñón. Cada glándula consta de una corteza externa y una médula interna, que tienen orígenes embriológicos diferentes, mecanismos de control distintos y productos diferentes.

Globulina transportadora de tiroxina (GTT): una proteína que se une a las hormonas tiroideas. El análisis de GTT se usa para confirmar resultados de FT_3 o FT_4 o anomalías en la relación de la prueba de TT_4 y T_3U ; o como un marcador posoperatorio de cáncer de la tiroides.

Globulinas: grupo heterogéneo de proteínas que se pueden separar por electroforesis en fracciones α_1 , α_2 y γ .

Glomérulo: vasos sanguíneos pequeños en la neurona que se proyectan hacia el extremo circular del túbulo proximal y sirven como mecanismo de filtración.

Glomerulonefritis: inflamación de los glomérulos del riñón. Puede ser aguda, subaguda o crónica.

Glucagon: una hormona de proteína relacionada con el metabolismo de carbohidratos, grasa y proteínas. Es sintetizado por las células α del islote pancreático y está compuesto de 29 aminoácidos.

Glucocorticoide: una clasificación general de hormonas sintetizadas en la zona fasciculada de la corteza suprarrenal. El cortisol es la hormona glucocorticoide principal.

Glucógeno: un polisacárido similar al almidón; forma en la que se almacenan los carbohidratos.

Glucogenólisis: proceso mediante el cual el glucógeno se convierte de nuevo en glucosa 6-fosfato para entrar en la vía glucolítica.

Glucólisis: hidrólisis de glucosa mediante una enzima en piruvato o lactato; el proceso es anaeróbico.

Gluconeogénesis: la conversión de aminoácidos por el hígado y otros tejidos especializados, como el riñón, a sustratos que se pueden convertir en glucosa. La gluconeogénesis también abarca la conversión de glicerol, lactato y piruvato a glucosa.

Glucósidos cardíacos: fármacos utilizados para incrementar la contractilidad del corazón y desacelerar los impulsos de conducción (p. ej., digoxina).

Gonadotropina coriónica humana (hCG): una hormona de proteína producida por la placenta y consiste en subunidades α y β .

Gota: artritis relacionada con concentraciones incrementadas de ácido úrico en la sangre, que luego se deposita en las articulaciones o tejidos causando hinchazón dolorosa. Es más común en hombres que en mujeres.

GTT: véase Globulina transportadora de tiroxina.

H

Hapteno: una sustancia que se puede unir con un anticuerpo pero no puede iniciar una respuesta inmunitaria a menos que se una a un portador.

HbA_{1c}: véase Hemoglobina A_{1c}.

HC: hormona de crecimiento.

hCG: véase Gonadotropina coriónica humana.

HDL: véase Lipoproteínas de alta densidad.

HDSM: hojas de datos de seguridad de materiales.

Hemodiálisis: una técnica o procedimiento que provee la función de los riñones cuando uno o ambos están dañados. La sangre del paciente se hace circular por membranas para eliminar residuos.

Hemofiltración: un procedimiento o técnica de ultrafiltración (similar a la hemodiálisis) utilizado para eliminar una acumulación en exceso de productos metabólicos normales de la sangre.

Hemoglobina A_{1c} (HbA_{1c}): la subfracción más grande de HbA normal en individuos diabéticos y no diabéticos. Se forma mediante la reacción de la cadena β de HbA con glucosa. Refleja la concentración de glucosa presente en el cuerpo sobre un tiempo prolongado relacionado con la vida media de 60 días de eritrocitos.

Hemoglobinopatía: un trastorno relacionado con la presencia de hemoglobina anormal.

Hemólisis: daño a las membranas de eritrocitos, que causa liberación de constituyentes celulares (p. ej., hemoglobina) en el plasma sanguíneo o suero.

Heparina: un anticoagulante empleado en la recolección de sangre.

Hepatitis: "inflamación del hígado"; podría ser causada por un virus, bacteria, parásitos, radiación, fármacos, sustancias químicas o toxinas. Entre los virus que causan hepatitis están los tipos de hepatitis A, B, C, D (o Δ) y E, citomegalovirus, virus de Epstein-Barr y probablemente otros.

Hepatoma: tumores malignos primarios del hígado; conocido también como carcinoma hepatocelular o hepatocarcinoma.

Hibridación *in situ*: una técnica llevada a cabo en las células, tejido o cromosomas que se fijan en un portaobjetos de microscopio. Después que se desnaturaliza el DNA por calor, se añade una sonda marcada e híbrida a la secuencia blanco después que se enfría la placa. Por lo común se usan productos colorimétricos o fluorescentes.

Hibridación: producción de híbridos.

Hidrato: compuesto y su agua relacionada.

Hidrolasa: una enzima que cataliza la hidrólisis de enlaces de éter, éster, anhídrido de ácido, glucosilo, C-C, C-haluro o P-N.

Higiene química: procedimientos y prácticas de trabajo para regular la exposición del personal de laboratorio a sustancias químicas peligrosas.

Higroscópica: sustancias que captan agua al estar expuestas a condiciones atmosféricas.

Hiperaldosteronismo: producción excesiva de aldosterona por la glándula suprarrenal. Podría ser primario (debido a una lesión suprarrenal) o secundario a anomalías en el sistema renina-angiotensina.

Hiperandrogenemia: producción excesiva de andrógenos en las mujeres.

Hipercalcemia: concentraciones elevadas de calcio en la sangre.

Hipercloremia: concentraciones elevadas de cloro en la sangre.

Hipерcoagulabilidad: capacidad incrementada (es decir, de la sangre) para coagular.

Hipercortisolismo: concentraciones incrementadas de cortisol.

Hiperfosfatemia: concentraciones elevadas de fósforo en la sangre.

Hiper glucagonemia: producción excesiva de glucagon. La hiper glucagonemia debida a tumores se debe diferenciar de otras causas de glucagon incrementado, que incluyen diabetes, pancreatitis y traumatismo.

Hiper glucémico: concentración incrementada de azúcar sanguínea.

Hiperinsulinemia: liberación excesiva o inapropiada, o ambas, de insulina.

Hipermagnesemia: concentraciones altas de magnesio en la sangre.

Hipernatremia: concentraciones elevadas de sodio en la sangre.

Hiperoxemia: oxígeno incrementado en la sangre.

Hiperparatiroidismo: condición que resulta de la actividad incrementada de las glándulas paratiroides.

Hiperplasia suprarrenal congénita (HSC): resulta de la falta de una enzima necesaria para la producción de cortisol.

Hiperpotasemia: concentraciones elevadas de potasio en la sangre.

Hiperprolactinemia: secreción de prolactina en exceso debido a disfunción hipotalámica-hipofisaria. Por lo común debido a neoplasma hipofisario.

Hiperproteinemia: concentración total de proteína en la sangre que es mayor que el intervalo de referencia.

Hipertensión: presión arterial elevada de forma anormal.

Hipertensión esencial: hipertensión sin ninguna causa conocida.

Hipertensión secundaria: hipertensión con una fuente identificada.

Hipertiroidismo: secreción excesiva de las glándulas tiroideas.

Hiperuricemia: concentraciones plasmáticas de ácido úrico mayores que 7.0 mg/dl en varones y 6.0 mg/dl en mujeres.

Hipervitaminosis: una condición que resulta de la ingestión excesiva de una vitamina.

Hipoaldosteronismo: concentración reducida de aldosterona.

Hipocalcemia: concentraciones reducidas de calcio.

Hipocloremia: concentraciones reducidas de cloro en la sangre.

Hipocortisolismo: concentraciones bajas o reducidas de cortisol.

Hipófisis anterior: adenohipófisis. La hipófisis se localiza en una cavidad pequeña en el hueso esfenoidal del cráneo llamada silla turca. Las hormonas trópicas de la hipófisis anterior están mediadas por retroalimentación negativa, que conlleva interacción de las hormonas efectoras con el hipotálamo, así como con las células de la hipófisis anterior.

Hipófisis posterior: una porción de la hipófisis; también la neurohipófisis.

Hipofosfatemia: concentraciones reducidas de fósforo en la sangre.

Hipoglucémico: concentración reducida de azúcar en la sangre.

Hipoglucorraquia: concentraciones reducidas de glucosa en el LCR.

Hipogonadismo: secreción interna aberrante de las gónadas.

Hipoinsulinemia: concentración reducida de insulina.

Hipomagnesemia: concentraciones reducidas de magnesio en la sangre.

Hiponatremia: concentraciones reducidas de sodio en la sangre.

Hipoparatiroidismo: la mayor parte de las veces debido a la destrucción de las glándulas suprarrenales y, como tal, se relaciona con la deficiencia de glucocorticoides.

Hipopotasemia: concentraciones reducidas de potasio.

Hipoproteinemia: concentración de proteína total en la sangre que está abajo del intervalo de referencia.

Hipotálamo: la porción del cerebro localizada en las paredes y el piso del tercer ventrículo. Está directamente arriba de la hipófisis y está conectado a la hipófisis posterior mediante el tallo hipofisario.

Hipotiroidismo: secreción tiroidea reducida.

Hipouricemia: concentraciones plasmáticas de ácido úrico menores que 2.0 mg/dl.

Hipovitaminosis: una condición que resulta de la carencia o deficiencia de vitaminas en la dieta.

Hipovolemia: volumen reducido de sangre.

Hipoxemia: oxigenación insuficiente o reducida de la sangre.

Hipoxia: condición fisiológica causada por una deficiencia de la cantidad de oxígeno que llega a los tejidos.

Hirsutismo: crecimiento excesivo y anormal del pelo.

Histograma: representación gráfica de datos donde el número o frecuencia de cada resultado se coloca en el eje y y el valor del resultado se grafica en el eje x.

Hojas de datos de seguridad de materiales (HDSM): una fuente importante de información de seguridad para empleados que pudieran usar materiales peligrosos en sus trabajos.

Holoenzima: enzima que consiste en una porción de proteína y una porción de ácido no amino o grupo prostético.

Homeostasis: estado de equilibrio en el cuerpo mantenido mediante procesos dinámicos.

Hormona: una sustancia química que un órgano o tejido produce y secreta en la sangre, y tiene un efecto específico en un tejido blanco.

Hormona adrenocorticotrópica (ACTH): una hormona peptídica que secreta la hipófisis anterior. Estimula la corteza de las glándulas suprarrenales para producir hormonas corticales suprarrenales.

Hormona antiidiurética (ADH): vasopresina; producida por hipotálamo.

Hormona de crecimiento (GH): un péptido compuesto de 191 aminoácidos. En contraste con la mayor parte de las hormonas de proteína, la GH no actúa por cAMP. La unión de GH a su receptor de membrana conduce a la captación de glucosa, transporte de aminoácidos y lipólisis. Secretada por la hipófisis anterior.

Hormona estimuladora de folículos (FSH): una hormona de proteína que secreta la hipófisis anterior.

Hormona Uteinizante (LH): una hormona glucoproteínica secretada por la hipófisis anterior.

Hormona liberadora de corticotropina (CRH): una hormona que se libera del hipotálamo que actúa en la hipófisis anterior para incrementar la secreción de ACTH.

Hormona liberadora de tirotropina (TRH): un tripéptido liberado por el hipotálamo. Viaja a lo largo del tallo hipotalámico a las células β de la hipófisis anterior, donde estimula la síntesis y liberación de tirotropina o la hormona estimulante del tiroides (TSH).

Hormona paratiroidea (PTH): hormona sintetizada como prohormona que contiene 115 aminoácidos. La forma activa de la hormona contiene 84 aminoácidos, y es secretada por las células principales de las glándulas paratiroides.

HSC: véase Hiperplasia suprarrenal congénita.

Hueso cortical: tipo de hueso que es muy fuerte en las dimensiones axial y de sección transversal, muy adecuado para las necesidades de los huesos largos.

I

Ictericia: pigmentación amarilla en la piel o esclerótica (incluso tejidos, membranas y secreciones); un resultado de la concentración excesiva de bilirrubina en la sangre.

IDR: véase Inmunodifusión radial.

Imagen nuclear cardiovascular: técnica en la que se utilizan radionucleótidos para evaluar el funcionamiento cardiovascular y la perfusión del miocardio y la viabilidad del músculo cardíaco.

Índice de DNA (ID): ploidía de tumores; la cantidad de DNA medido en células cancerígenas en relación con sus células normales.

Índice de tiroxina libre (FT_4I): una media indirecta de la concentración de hormona libre y se basa en la relación de equilibrio de T_4 ligada y FT_4 . El FT_4I se calcula mediante la fórmula siguiente: $FT_4I = T_4 \times \text{relación de } T_3U$.

Índice icterico: una prueba que conlleva diluir suero con solución salina hasta que visualmente corresponde al color de una solución a 0.01% de dicromato de potasio. El número de veces que se debe diluir el suero se llama índice icterico.

Infancia: infante; período de vida donde el niño es incapaz de caminar o alimentarse por sí mismo.

Infarto de miocardio: también ataque al corazón; ocurre cuando el flujo de sangre a un área del músculo cardíaco se bloquea en forma repentina, lo que da lugar a isquemia y muerte del tejido miocárdico.

Infertilidad: incapacidad o capacidad disminuida para producir descendencia.

Inhibidor glucolítico: sustancia que evita la hidrólisis de azúcar. El fluoruro de sodio es un inhibidor glucolítico.

Inhibina: una hormona testicular que inhibe a la hormona luteinizante.

Injerto: tejido que se trasplanta.

Inmunidad: resistencia a la infección por un agente patológico.

Inmunodifusión radial (IDR): técnica de precipitación inmunitaria utilizada para cuantificar una proteína (el antígeno).

Inmunoelectroforesis: una técnica que combina la electroforesis de proteínas e inmunodifusión.

Inmunoensayo: una técnica que mide la tasa de formación de complejo inmunitario. El inmunoensayo puede ser marcado o no marcado.

Inmunoensayo competitivo: véase Unión proteínica competitiva.

Inmunoensayo de polarización fluorescente (IPF): una técnica en la cual un antígeno marcado con fluoresceína gira con rapidez en solución y, cuando se excita, no emite luz polarizada. Después de unirse a un anticuerpo la etiqueta gira mucho más lento y emite luz polarizada. Cuando la luz polarizada se emplea como una fuente de excitación, la fluorescencia emitida se mide en dos planos. La diferencia de polarización fluorescente (calculada) antes y después de la adición del analito marcado es inversamente proporcional a la concentración del analito desconocido. Esta metodología es de suma utilidad para antígenos (fármacos, hormonas, etc.).

Inmunoensayo no competitivo: uso de anticuerpo de reactivo marcado para detectar un antígeno; también inmunoensayo inmunométrico.

Inmunofenotipia: uso de citómetro de flujo para detectar antígenos intracelulares y de la superficie de la célula.

Inmunofijación: o electroforesis de inmunofijación (EIF); una técnica en la que un precipitado inmunitario es atrapado (fijado) en un medio de soporte electroforético. Este método ha sustituido a la inmunoelectroforesis debido a la facilidad y velocidad.

Inmunofluorescencia directa: detección de antígenos con anticuerpo marcado fluorescente.

Inmunofluorescencia indirecta: técnica en la cual el anticuerpo sérico reacciona con antígeno fijado en una placa y el anticuerpo a su vez reacciona con globulinas antihumanas conjugadas. Si el suero del paciente contiene el anticuerpo de interés, éste se observará bajo un microscopio fluorescente.

Inmunohistoquímica: uso de anticuerpos para detectar antígenos en el tejido.

Inmunotransferencia: una técnica para el análisis e identificación de antígenos; *western blot*.

Insuficiencia renal aguda: una disminución pronunciada y repentina en la operación renal como resultado de un daño tóxico o hipóxico a los riñones. Por definición ocurre cuando la tasa de filtración glomerular (TFG) se reduce a menos de 10 ml/minuto.

Insuficiencia renal crónica: un síndrome clínico que ocurre cuando hay una disminución gradual en la función renal al paso del tiempo.

Insulina: una hormona peptídica que se sintetiza en las células B de los islotes de Langerhans en el páncreas.

Intervalo de referencia: los valores usuales para una población saludable; también intervalo normal.

Intervalo osmolal: diferencia entre la osmolalidad medida y la osmolalidad calculada. El intervalo osmolal indica de modo indirecto la presencia de sustancias osmóticamente activas que no sean sodio, urea o glucosa, como etanol, metanol, etilenglicol, lactato o hidroxibutirato β .

Intervalo terapéutico: intervalo de concentración de un fármaco que es benéfico para el paciente.

Inulina: un polisacárido vegetal exógeno derivado de alcachofas y dalias. Los glomérulos la filtran por completo, y los túbulos no la secretan ni la reabsorben. Es la más exacta de todos los ensayos de TFG.

Inumocitoquímica: uso de antibióticos para detectar antígenos en células.

IPF: véase Inmunoensayo de polarización fluorescente.

Islotes de Langerhans: cúmulos de células (α , β y δ) en el páncreas; la insulina es una hormona peptídica sintetizada por las células β de los islotes pancreáticos.

Isoenzima: formas diferentes de una enzima que se podrían originar de causas genéticas o no genéticas, y podrían diferenciar entre sí con base en ciertas propiedades físicas, como movilidad electroforética, solubilidad o resistencia a la inactivación.

Isoformas CK: producidas como parte del mecanismo de aclaramiento normal para las isoenzimas CK y están presentes en todos los sueros.

K

K_m : véase Constante de Michaelis-Menten.

Kwashiorkor: desnutrición aguda calórico-proteínica.

L

Lactescencia: semejanza con la leche; apariencia lechosa.

Lactógeno placentario humano (LPH): una hormona proteínica que es estructural, inmunológica y funcionalmente muy similar a la hormona del crecimiento y prolactina. Al igual que la hCH, es producida por la placenta, y se puede medir en la orina y el suero de la madre así como en el líquido amniótico.

Lanceta: un dispositivo quirúrgico utilizado para practicar una punción en la piel y recolectar sangre.

Lateral: al lado.

LCR: véase Líquido cefalorraquídeo.

LDL: véase Lipoproteínas de baja densidad.

Ley de Beer: establece matemáticamente la relación entre la concentración y la absorbancia en mediciones fotométricas; se expresa como: $A = abc$.

LH: véase Hormona luteinizante.

LIC: véase Líquido intracelular.

Lipoproteína: proteína ligada con componentes lipídicos, es decir, colesterol, fosfolípido y triglicérido. Se podría clasificar como de muy baja densidad (VLDL), densidad baja (LDL) y densidad alta (HDL).

Lipoproteína (a) [Lp(a)]: partículas de lipoproteína parecidas a LDL.

Lipoproteínas de alta densidad (HDL): un equipo de depurado que recoge colesterol extra para transportarlo de regreso al hígado.

Lipoproteínas de baja densidad: “depósitos vacíos” ricos en colesterol que permanecen después que los triglicéridos han sido depositados.

Lipoproteínas de muy baja densidad: un grupo de lipoproteínas que llevan triglicéridos integrados en el hígado a las células para satisfacer los requerimientos de energía o almacenarlos como grasa.

Líquido amniótico: un líquido en el cual se suspende el feto; proporciona un medio de amortiguamiento para el feto y sirve como matriz para el influjo o eflujo de constituyentes.

Líquido cefalorraquídeo (LCR): un ultrafiltrado selectivo del plasma que rodea al cerebro y la médula espinal.

Líquido extracelular: agua (líquido) fuera de la célula; se puede subdividir en líquido extracelular intravascular (plasma) y líquido celular intersticial (LCI) que rodea las células en los tejidos.

Líquido intracelular (LIC): líquido dentro de las células.

Líquido pericárdico: líquido que rodea y protege al corazón. La frecuencia de muestreo pericárdico y análisis de laboratorio es raro.

Líquido peritoneal: un líquido claro a color paja que secretan las células del peritoneo (cavidad abdominal). Sirve para humedecer las superficies de las vísceras.

Líquido pleural: en esencia líquido intersticial de la circulación sistémica; está contenido en una membrana que rodea los pulmones.

Líquido seroso: líquido del cuerpo similar al suero sanguíneo; secretado en parte por las membranas serosas.

Líquido sinovial: líquido que se forma por ultrafiltración de plasma en la membrana sinovial de una articulación. La membrana secreta también hacia el dializador una mucoproteína rica en ácido hialurónico, que causa la viscosidad del líquido sinovial.

Lobulillo: forma la unidad estructural del hígado, que mide 1 a 2 mm de diámetro. Se compone de cordones de células hepáticas (hepatocitos) que irradian desde una vena central.

Lp(a): véase Lipoproteína (a).

LPH: véase Lactógeno placentario humano.

M

Mantisa: la porción del logaritmo a la derecha del punto decimal, derivada del número.

Marasmo: una condición causada por insuficiencia calórica sin insuficiencia de proteínas, de modo que la concentración de albúmina sérica permanece normal; hay pérdida considerable de peso corporal.

Marcador tumoral: sustancias biológicas sintetizadas y liberadas por células cancerosas o sustancias producidas por el huésped en respuesta a tejido canceroso. Los marcadores tumorales pueden estar presentes en la circulación, líquidos de cavidades corporales, membranas celulares o el citoplasma y núcleo de la célula.

Marcadores cardíacos: prueba de diagnóstico o analito que se utiliza para evaluar la función cardíaca.

Material criogénico: material llevado a temperaturas bajas; por ejemplo, los gases licuados.

Material peligroso: un material con la posibilidad de causar lesión o daño personal si se maneja.

Material radiactivo: cualquier material capaz de emitir energía radiante (rayos o partículas).

Materiales de referencia estándar (MRE): establecidos por la autoridad. Se usan para comparación o medición.

Medial: en la mitad.

Medicina forense: conocimiento o resultados médicos que aplican a cuestiones legales que afectan a la vida o la propiedad.

Un resultado de muestra podría ser empleado como evidencia en una corte para probar causa de muerte, la inocencia o culpabilidad de un individuo acusado o posiblemente abuso del alcohol o drogas.

Megavitamina: ingestión de una vitamina en exceso extremo de los requerimientos diarios.

Mejoramiento de la calidad: actividades y sistemas diseñados para evaluar y mejorar la atención del paciente.

Menopausia: el cese permanente de la actividad menstrual.

Metabolito: cualquier producto del metabolismo como en el derivado de un fármaco.

Metaloenzima: oligoelemento relacionado con una enzima como un componente o cofactor esencial.

Metaloproteína: oligoelemento relacionado con una proteína como un componente o cofactor esencial.

Metanefrina: un producto metabólico de adrenalina y noradrenalina.

Método cinético de medición: cuantificación mediante la determinación de la velocidad a la ocurre una reacción o se forma un producto.

Método enzimático acoplado: uso de varias reacciones enzimáticas secuenciales que producen un producto que puede ser detectado mediante un espectrofotómetro, y cuya concentración está relacionada con el analito en cuestión.

Métodos anatómicos: utilizados para evaluar el estado nutricional general de un paciente. Incluye prueba de pliegue cutáneo y circunferencia del brazo y medidas de estatura y peso.

Microalbuminuria: pequeñas cantidades de albúmina en la orina; las concentraciones de microalbúmina están entre 20 y 300 mg/día.

Microglobulina β_2 : un péptido pequeño no glucosilado; usado como un indicador de TFG.

Microquímica: análisis químico clínico que requiere sólo varios microlitros de muestra.

Mineralocorticoide: un grupo de sustancias producidas por la corteza suprarrenal. La aldosterona es el principal mineralocorticoide (hormona reguladora de electrolitos) producido por la zona glomerular.

Miocarditis: inflamación del miocardio.

Mioglobina: la mioglobina es una proteína de heme encontrada sólo en el músculo esquelético y cardíaco en los humanos. Se puede unir de forma reversible al oxígeno de una manera similar a la molécula de hemoglobina, pero la mioglobina es capaz de liberar oxígeno, excepto bajo tensión de oxígeno muy baja.

Mixedema: condición resultante de hipofunción de la tiroides. El término se usa para describir la hinchazón peculiar sin fovea de la piel.

Molalidad: representa la cantidad de soluto por kilogramo de disolvente.

Molaridad: número de moles por litro de solución.

Monoclonal: que proviene de una línea de células.

Monosacárido: un carbohidrato simple; no puede ser descompuesto por hidrólisis. Como ejemplos se tiene glucosa, galactosa y fructosa.

MRE: véase Materiales de referencia estándar.

MTF: véase Monitoreo terapéutico de fármacos.

Muestra aleatoria de orina: una muestra de orina en la cual no son importantes el tiempo y el volumen de recolección. La

primera micción de la mañana se requiere con frecuencia porque es la más concentrada; por lo común se usa para el análisis de orina rutinario (pH, glucosa, proteína, densidad relativa y osmolalidad).

Muestra de orina programada: muestras recolectadas a intervalos específicos, como antes y después de las comidas, o muestras que se recolectarán en periodos específicos. Por ejemplo, las muestras discretas recolectadas en un periodo se usan para pruebas de tolerancia (p. ej., glucosa).

Muestras de ayuno: una muestra de sangre tomada después que el paciente no ha comido durante por lo menos 12 horas.

Muestreo en tubo cerrado: una capacidad del instrumento para retirar la muestra del paciente para análisis desde el tubo de recolección primario al perforar el tapón.

N

Nanofiltración: técnica de filtración para eliminar materia particulada, microorganismos y pirógenos o endotoxinas cualesquiera.

Narcótico: cualquier grupo de sustancias (fármaco) que produce el grupo de sustancias opiáceas; abarca no sólo heroína, morfina y codeína, sino también varios compuestos sintéticos como meperidina, metadona, propoxifeno, pentazocina y otros. Todas tienen cierta posibilidad de adicción.

NCCLS: *National Committee for Clinical Laboratory Standards*; una agencia que establece estándares de laboratorio.

Nefelometría: técnica analítica que mide la cantidad de luz dispersada por partículas (complejos inmunitarios) en una solución. Las mediciones se hacen a un ángulo de 5 a 90° respecto a un haz.

NEM: véase Neoplasia endocrina múltiple.

Neonato: un recién nacido de hasta seis semanas de edad.

Neoplasia endocrina múltiple (NEM): la presencia de varios tumores o hiperplasias relacionados con diversos órganos endocrinos.

Neoplasma: un crecimiento nuevo y anormal de células o tejido; también tumor.

Neuroblastoma: tumores malignos de la médula suprarrenal que ocurren en los niños. Producen catecolaminas, y en ocasiones podrían estar relacionadas con hipertensión.

Neurohipófisis: porción posterior de la hipófisis.

NFPA: *National Fire Protection Association*.

Nictalopia: visión deficiente en luz tenue debido a deficiencia de vitamina A. Esta condición se conoce también como ceguera nocturna.

Nitrógeno no proteínico (NNP): compuesto que contiene nitrógeno que permanece en una muestra de sangre después de la eliminación de constituyentes de proteínas.

NNP: véase Nitrógeno no proteínico.

Nomograma de Done: una gráfica que aproxima la toxicidad de fármacos, dado el tiempo de ingestión y el nivel de fármaco en la sangre.

Noradrenalina: una hormona (y catecolamina) producida por la médula suprarrenal. Como hormonas, tanto la noradrenalina como la adrenalina sirven para movilizar depósitos de energía y preparar al cuerpo para actividad muscular (incremento de la frecuencia cardíaca y la presión arterial, mayor cantidad de azúcar en la sangre, etc.). Son secretadas en cantidades mayores con estrés (dolor, temor, etc.).

Normalidad: número equivalentes gramo por litro de disolución.

Normetanefrina: un metabolito de adrenalina.

Northern blot: técnica para detección de moléculas de RNA o especies con secuencias definidas.

Nutrición parenteral total (NPT): un medio muy empleado de apoyo nutricional intenso para pacientes que están desnutridos o en peligro de volverse desnutridos, debido a que son incapaces de consumir los nutrimentos requeridos.

Nutrición parenteral: apoyo nutricional intenso para pacientes que están desnutridos, o en riesgo de volverse desnutridos, porque son incapaces de consumir los nutrientes requeridos o tomar nutrientes por completo. La terapia de nutrición parenteral requiere administrar cantidades apropiadas de disoluciones de carbohidratos, aminoácidos y lípidos así como electrolitos, vitaminas, minerales y oligoelementos para satisfacer los requerimientos calóricos, proteínicos y de nutrientes mientras se mantiene el equilibrio de agua y electrolitos.

O

Oligoelemento: un elemento que aparece en sistemas biológicos en concentraciones de mg/kg o menos (partes por millón). Por lo común, el requerimiento diario de esta clase de elemento es de pocos miligramos al día.

Oncogenes: segmentos de DNA virales que pueden transformar células normales en células malignas.

Opsonización: acción de opsoninas para facilitar la fagocitosis.

OSHA: *Occupational Safety and Health Act* (Ley ocupacional de seguridad y salud); decretada por el congreso en 1970. El objetivo de esta regulación federal fue proveer a los empleados (incluso el personal de laboratorio clínico) un ambiente de trabajo seguro.

Osmolalidad: propiedad física de una disolución, basada en la concentración de solutos (expresada en milimoles) por kilogramo de disolvente.

Osmolaridad: concentración de partículas osmóticamente activas en disolución reportadas en miliosmoles por litro; no se emplea de forma rutinaria.

Osmómetro: instrumento de laboratorio empleado para medir osmolalidad o concentración de un soluto por kilogramo de disolvente.

Osteoblasto: células que construyen hueso cuando son accionadas mediante señales hormonales apropiadas.

Osteoclasto: células que causan reabsorción de hueso cuando son activadas por señales hormonales apropiadas.

Osteomalacia: condición que resulta de una deficiencia de vitamina D. La deficiencia de vitamina D causa que los huesos sean blandos y quebradizos. Es la forma de raquitismo en el adulto.

Osteoporosis: una enfermedad que conlleva la pérdida gradual de masa ósea que da como resultado un esqueleto menos denso y débil.

Otorrea: descarga del oído; también filtración de LCR del oído.

Ovulación: descarga periódica de un óvulo del ovario.

Oxidado: pérdida de electrones; combinado con oxígeno.

Oxidoreductasa: una enzima que cataliza una oxidación; reacción de reducción entre dos sustratos.

Oxihemoglobina fraccionaria (FO₂Hb): es la relación entre la concentración de oxihemoglobina y la concentración de hemoglobina total (ctHb).

Oxitocina: una hormona producida en el hipotálamo. Estimula la contracción del útero grávido a término y también produce la contracción de células mioepiteliales en la mama, lo cual causa la eyeción de leche.

P

P₅₀: representa la presión parcial de oxígeno a la que la saturación de oxígeno de hemoglobina (SO₂) es 50%. La P₅₀ es una medida de las características de unión de O₂Hb e identifica la posición de la curva de disociación oxígeno-hemoglobina a media saturación.

Pancreatitis: inflamación del páncreas causada en última instancia por autodigestión del páncreas como resultado de reflujo de bilis o contenido duodenal hacia el conducto pancreático.

Panhipopituitarismo: una condición que resulta de las deficiencias hormonales hipofisarias. Estas hormonas se pierden en un orden característico, donde la hormona del crecimiento y las gonadotropinas desaparecen primero, seguidas de TSH, ACTH y prolactina.

Paracentesis: aspiración de líquido por la piel; como en la eliminación o aspiración de líquidos pericárdicos, pleurales y peritoneales.

Paracrina: secreción de una hormona de otra que no sea una glándula endocrina.

Patógeno llevado en la sangre: cualquier agente infeccioso o patógeno transmisible por medio de la sangre o productos sanguíneos.

Patógeno transportado por el aire: cualquier agente infeccioso transmisible mediante el aire, por ejemplo, tuberculosis.

Patrón de deshidrogenasa de lactato descontrolado: situación en la que las concentraciones séricas de LD-1 se incrementan hasta un punto donde están presentes en mayor concentración que LD-2.

PATT: véase Prealbúmina transportadora de tiroxina.

PCO₂: presión parcial del dióxido de carbono.

Pediátrico: en relación con el tratamiento de los niños.

Pelagra: una condición que resulta de una deficiencia de niacina. Los signos iniciales de pelagra incluyen anorexia, cefaleas, debilidad, irritabilidad, indigestión e insomnio. Estos progresan a las clásicas cuatro letras D de la pelagra avanzada: dermatitis, diarrea, demencia y defunción.

Pepsina: un grupo de enzimas proteolíticas relativamente débiles, con pH óptimo de alrededor de 1.6 a 3.6, que catalizan a las proteínas nativas excepto el moco.

Péptidos: compuestos formados por la división de peptonas, que contienen dos o más aminoácidos. Las hormonas peptídicas incluyen insulina, glucagon, hormona paratiroidea, hormona del crecimiento y prolactina.

Pericarditis: inflamación del pericardio.

Peso equivalente: igual al peso molecular de una sustancia dividido entre su valencia.

PG: véase Prostaglandinas.

pH: representa el logaritmo negativo o inverso de la concentración de ion hidrógeno; $-\log[H^+]$.

Pipeta: utensilio hecho de vidrio o plástico que se usa para transferir líquidos; pueden ser reutilizables o desechables.

Pirrol: una estructura heterocíclica o compuesto que es la base para sustancias como la hemoglobina.

pK: el logaritmo negativo de la constante de ionización.

Placa de química seca: una tecnología de película en varias capas (sustancias químicas secas) que utiliza la serie Vitros de analizadores automatizados. Todos los reactivos necesarios para una prueba particular están contenidos en la "placa".

Placenta: una estructura en el útero por la cual se nutre el feto. La placenta sintetiza y secreta diversas hormonas proteínicas, así como los esteroides estrógeno y progesterona. La evaluación del suero materno y la concentración en la orina de estas hormonas podría ser valiosa no sólo para diagnosticar el embarazo sino también para monitorear el desarrollo placentario y el bienestar fetal.

Plasma: porción líquida de la sangre que contiene factores de coagulación.

Pliegue del codo: área del antebrazo en la curvatura del codo; se utiliza por lo común para venipunción.

PO₂: presión parcial del oxígeno.

Policlinal: que surge de diferentes líneas de células.

Polidipsia: ingestión excesiva de H₂O debido a sed crónica.

Polimorfismos de longitud del fragmento de restricción (PLFR): una técnica para evaluar diferencias en las secuencias de DNA genómico.

Polisacárido: carbohidratos complejos; los polisacáridos son las moléculas orgánicas más abundantes en la naturaleza.

Porfiruria: cantidad incrementada de porfirinas en la orina.

Porfiria: trastornos que resultan de alteraciones en la síntesis de heme.

Porfirina: intermediarios químicos en la síntesis de hemoglobina, mioglobina y otros pigmentos respiratorios llamados citocromos.

Porfirinógenos: la forma reducida de las porfirinas.

Poshepático: alteración extrahepática en la excreción de bilirrubina. La ictericia poshepática resulta de la excreción deteriorada de bilirrubina causada por obstrucción mecánica del flujo de bilis hacia los intestinos. Esto podría ser debido a cálculos biliares o a un tumor.

Posrenal: obstrucción en el flujo de orina del riñón a la vejiga y su excreción.

Poszona: en las reacciones de inmunoprecipitación, la concentración de antígeno está en exceso y se reduce la unión cruzada.

Potencial redox: una medida de la capacidad de una solución para aceptar o donar electrones.

Proyección de Fisher: modelo que se puede usar para representar carbohidratos. La proyección de Fisher de un carbohidrato tiene al aldehído o cetona en la parte superior del dibujo. Los carbonos se numeran comenzando en el extremo aldehído o cetona, y el compuesto se puede representar como cadena recta o en una forma cíclica, hemiacética.

Prealbúmina transportadora de tiroxina (PATT): proteína de transporte de tiroxina; también transtirretina (TTR).

Precauciones estándar: normas que consideran infecciosos a la sangre y otros líquidos corporales de los pacientes; incluyen lavado de manos, guantes, protección para los ojos, etc.

Precisión: la proximidad de resultados repetidos; expresada en forma cuantitativa como desviación estándar o coeficiente de variación.

Prehepático: antes del hígado. La ictericia prehepática resulta cuando está presente una cantidad excesiva de bilirrubina para que la metabolice el hígado, como en la anemia hemolítica. Este tipo de ictericia se caracteriza por hiperbilirrubinemia no conjugada.

Prerrenal: anterior al plasma que llega al riñón.

Presión osmótica: presión que permite al disolvente fluir entre una membrana semipermeable para establecer un equilibrio entre compartimientos de osmolalidad diferente.

Presión parcial: la presión que ejerce un gas en la atmósfera; igual a la presión arterial a una altitud particular multiplicada por el porcentaje apropiado de cada gas.

Producción de hormona ectópica: hormonas producidas por células en sitios distintos a la glándula de la cual normalmente se derivan.

Progesterona: una hormona esteroidea producida por el cuerpo lúteo y la placenta. La progesterona sirve para preparar el útero para el embarazo, y los lóbulos de la mama para la lactación.

Prohormona: un precursor de la hormona activa.

Proinsulina: precursor de la insulina; se empaqueta hacia los gránulos secretorios, donde se descompone en cantidades equimolares de insulina y un péptido C.

Prolactina: una hormona proteínica cuya composición de aminoácidos es similar a la de GH. Es producida por la glándula hipofisaria. En los humanos, al parecer funciona sólo en la iniciación y mantenimiento de la lactancia.

Propiedad coligativa: las propiedades de la presión osmótica, punto de congelación, punto de ebullición y vapor de presión.

Prostaglandinas (PG): un grupo de ácidos grasos no saturados biológicamente activos; metabolitos de ácido araquidónico.

Proteína conjugada: compuesta de una proteína (aminoácidos) y una mitad de nonoproteína.

Proteína simple: compuesta sólo de aminoácidos.

Proteinuria: proteína en la orina.

Protooncogenes: los genes celulares normales que desempeñan papeles esenciales en la diferenciación y proliferación de células y posiblemente se pueden volver oncogénicos. La transformación de protooncogenes en oncogenes puede ocurrir mediante mutaciones de un solo punto, translocación y amplificación.

Proyección de Haworth: representa glucosa en una forma cíclica que es más representativa de la estructura real. Cuando se dibuja la glucosa en una proyección de Haworth, la forma de la d-glucopiranososa se representa mediante el grupo hidroxilo del carbono 1 orientado hacia abajo o hacia el plano del papel.

Prozona: en las reacciones de inmunoprecipitación, la concentración de anticuerpos está en exceso y disminuye el enlace cruzado.

Prueba de absorción de d-xilosa: una técnica analítica que evalúa la capacidad de absorber d-xilosa; es valiosa para diferenciar malabsorción de etiología intestinal de la de insuficiencia pancreática exocrina.

Prueba de competencia: confirmación de la calidad del análisis de laboratorio por medio de muestras "desconocidas".

Prueba de tolerancia a la lactosa: cualquier ensayo para determinar el contenido de lactasa en la mucosa intestinal. La enzi-

ma lactasa es esencial para la absorción de lactosa del tubo digestivo.

Prueba en el lugar de atención (PLEA): prueba analítica de muestras del paciente llevada a cabo fuera del laboratorio físico y en el lugar de atención del paciente.

Prueba F: prueba estadística utilizada para comparar las características de dos o más grupos de datos.

Prueba T: se emplea para determinar si hay diferencia estadísticamente importante entre las medias de dos grupos de datos.

Pruebas descartadas: listado de complejidad más simple en las enmiendas de mejoramiento del laboratorio clínico (CLIA). Tiene que ver sobre todo con sistemas de prueba aprobados por la *Food and Drug Administration* para uso doméstico. Los requerimientos son que no haya riesgo de daño razonable para el paciente si la prueba se realiza de manera incorrecta. La probabilidad de resultados erróneos es insignificante; el método de prueba es simple y sin complicaciones, y está disponible para uso en el hogar.

PTH: véase Hormona paratiroidea.

Pubertad precoz: inicio de la pubertad (desarrollo sexual normal) antes del tiempo esperado (por lo común, 10 a 14 años de edad).

Punción cutánea: un sistema de recolección abierto. La sangre se lleva a la superficie de la piel al aplicar presión en el sitio. Se dejan caer gotas de muestra en un colector capilar de sangre (en lugar de jalar la muestra por presión de vacío hacia el tubo). La muestra contiene tanto sangre venosa como arterial.

Punto isoelectrico (pI): el pH en el que la molécula no tiene cambio neto.

Q

Quelador: causa la unión de un ion (p. ej., metal) y una sustancia química con estructura de anillo.

Quilomicrones: partículas grandes ricas en triglicéridos.

Quimioluminiscencia: luz producida como resultado de una reacción química. Las reacciones quimioluminiscentes más importantes son las reacciones de oxidación del luminol, ésteres de acridinio y dioxietanos, y se caracterizan por un incremento rápido en la intensidad de luz emitida seguido de una disminución gradual.

R

Rabdomiólisis: destrucción de las células del músculo esquelético.

Radical libre: una molécula muy radiactiva que contiene un enlace abierto o mitad de un enlace; los radicales libres son dañinos para el cuerpo (p. ej., OH·).

Radiología cardíaca: uso de rayos X para evaluar el tamaño y la posición del corazón, etc.

Raquitismo: la clásica enfermedad por deficiencia de vitamina D en los niños. Podría tener origen metabólico o nutricional.

RCP: véase Reacción en cadena de la polimerasa.

Reabsorción: proceso de absorber de nuevo.

Reabsorción tubular: proceso en el que el movimiento de una sustancia (p. ej., calcio) es de la luz tubular al plasma capilar tubular.

Reacción en cadena de la ligasa: técnica de amplificación por sonda que utiliza dos pares de sondas marcadas que son com-

- plementarias para dos secuencias cortas de DNA blanco muy próximas.
- Reacción en cadena de la polimerasa (RCP):** un proceso *in vitro* empleado para replicar regiones cortas específicas, ilimitadas, de DNA.
- Reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa inversa:** conversión de RNA a DNA mediante transcriptasa inversa; el DNA complementario (cDNA) se puede analizar entonces mediante la RCP.
- Reactividad cruzada:** capacidad de un anticuerpo para reaccionar con un antígeno que es similar en estructura al antígeno homólogo.
- Recambio óseo:** proceso acoplado que se lleva a cabo durante la vida en el hueso con formación y resorción ósea.
- Receptor:** sustancia que ha ganado electrones.
- Reducida:** sustancia que ha ganado electrones.
- Regla de control:** criterio para juzgar si un proceso analítico está fuera de control; criterios de detección de errores.
- Relación de lecitinas/esfingomielinas (relación de L/E):** una prueba clásica que evalúa la relación de lecitinas a esfingomielinas para determinar la madurez pulmonar fetal.
- Relación de NUS/creatinina:** relación de nitrógeno ureico en plasma o suero (mg/dl) a creatinina plasmática o sérica (mg/dl).
- Relación de transporte de hormona tiroidea (RTHT):** prueba utilizada para medir sitios de enlace disponibles de las proteínas de transporte de tiroxina; también prueba de captación de T_3 .
- Relación dosis-respuesta:** comparación de la dosis de una sustancia (es decir, fármaco o sustancia química) con sus posibles efectos patológicos. La relación dosis-respuesta implica que habrá un incremento en la respuesta tóxica con una dosis cada vez mayor.
- Relación L/E:** véase Relación de lecitinas/esfingomielinas.
- Renina:** enzima producida por los riñones que actúa en la angiotensina para formar angiotensina I.
- Replicación de secuencia autosostenida:** método de amplificación que detecta RNA blanco, y tiene que ver con ciclos isotérmicos continuos de transcripción inversa.
- Residuos clínicos:** material que es infeccioso o físicamente peligroso; incluye sangre, tejidos, líquidos, partes del cuerpo, material punzante, etc.
- Retinoides:** derivados de la vitamina A.
- Riesgo mecánico:** cualquier peligro potencial de equipo como centrifugas, autoclaves y homogenizadores.
- Rinorrea:** descarga de la nariz; también filtración de LCR hacia la nariz.
- Robótica:** automatización frontal para “manejar” una muestra por las etapas de procesamiento y cargar la muestra en el analizador.
- Rotor:** un dispositivo redondo en algunos analizadores automáticos que sujeta tasas de muestra y es capaz de girar.
- RTHT:** véase Relación de transporte de hormona tiroidea.
- S**
- Sangre arterial:** sangre de las arterias.
- Sangre capilar:** sangre de diminutos vasos sanguíneos.
- Sangre total:** sangre completa que contiene la porción líquida (plasma) y elementos celulares.
- Sangre venosa:** sangre obtenida de una vena.
- Saturación de oxígeno:** (SO_2) representa la relación de oxígeno que está unido a la proteína portadora, hemoglobina, en comparación con la cantidad total que podría enlazar la hemoglobina.
- Saturación de transferrina:** porcentaje de moléculas de transferrina que tienen hierro enlazado. Una relación de hierro sérico (hierro real en el suero) y transferrina sérica o CEHT (cantidad potencial de hierro que puede ser enlazado). También porcentaje de saturación.
- Secreción tubular renal:** proceso que transporta sustancias del plasma al filtrado tubular para excreción en la orina.
- Secreción tubular:** movimiento de sustancias del plasma capilar tubular a la luz tubular; también secreción de algunos productos del metabolismo celular hacia el filtrado en la luz tubular.
- Secreción:** proceso en el cual las células de órganos glandulares producen sustancias a partir de la sangre.
- Secretagogo:** un agente que estimula o causa secreción.
- Secretina:** la secretina es sintetizada por las células en el intestino delgado en respuesta al contenido ácido del estómago que llega al duodeno. Puede controlar la actividad de la gastrina en el estómago, y causar la producción de jugo pancreático rico en bicarbonato alcalino y, por consiguiente, proteger de daño el revestimiento del intestino.
- Serotonina (5-OH triptamina):** una amina derivada de la hidroxilación y descarboxilación de triptófano. Es sintetizada por células enterocromafines, que se localizan sobre todo en el tubo digestivo y, en menor grado, en la mucosa bronquial, tracto biliar y gónadas.
- SI:** véase Sistema Internacional de unidades.
- SIADH:** síndrome de ADH inapropiado; resulta cuando se libera ADH a pesar de la baja osmolalidad sérica en relación con un volumen sanguíneo normal o incrementado.
- Silla turca:** una cavidad pequeña en el hueso esplenoidal del cráneo; en esta cavidad se localiza la hipófisis.
- Síndrome carcinoide:** síndrome producido por tumores carcinoides que secretan cantidades excesivas de serotonina.
- Síndrome de angustia respiratorio:** una condición que puede ocurrir en la transición a aire como fuente de oxígeno al nacer si no está presente la cantidad apropiada y tipo de fosfolípido (surfactante). Se denomina también *enfermedad de la membrana hialina* debido a la membrana hialina encontrada en los pulmones afectados.
- Síndrome de Conn:** adenoma suprarrenal que secreta aldosterona.
- Síndrome de Cushing:** síndrome resultante de la producción excesiva de glucocorticoides en la corteza suprarrenal.
- Síndrome de Zollinger Ellison:** un neoplasma que secreta gastrina, localizado por lo regular en los islotes pancreáticos, relacionado con concentraciones de gastrina plasmática excepcionalmente altas. Las concentraciones de gastrina plasmática de ayuno por lo común exceden de 1 000 pg/ml y pueden alcanzar 400 000 pg/ml, en comparación con el intervalo normal de 50 a 150 pg/ml.
- Síndrome nefrótico:** lesión glomerular; una permeabilidad incrementada de forma anormal de la membrana fundamental glomerular. Puede ser resultado de muchas causas diferentes.
- Síndromes coronarios agudos:** un avance de las condiciones patológicas relacionadas con la cardiopatía isquémica, que incluyen erosión y rotura de las placas de arterias corona-

rias, activación de las plaquetas y trombos. A este avance se le conoce como síndromes coronarios agudos, y varía desde angina inestable hasta necrosis insular extensa en infarto de miocardio agudo.

Sinusoides: espacios entre los cordones de células hepáticas; están revestidos por células endoteliales y células de Kupffer.

Sistema autocrino: secreciones celulares que actúan para afectar sólo su propio desarrollo.

Sistema de recolección cerrado: un tipo de sistema de recolección en el que la sangre se toma directamente de la vena de un paciente en un tubo provisto de un tapón; la muestra está contenida por completo, así que reduce el riesgo de contaminantes externos a la muestra y reduce el riesgo de exposición de los colectores a la sangre; conocido también como sistema de tubo evacuado.

Sistema inmunitario: una serie compleja de sucesos en el cuerpo que protege al individuo de agentes dañinos externos. La supervivencia del individuo depende de un sistema que funciona de forma apropiada.

Sistema inmunitario adaptativo: una de dos partes funcionales del sistema inmunitario; produce una reacción específica para cada agente infeccioso, luego erradica de modo normal a ese agente y lo recuerda; así, evita que cause enfermedad posterior. Por ejemplo, la rubeola y la difteria producen inmunidad de por vida después de una infección.

Sistema inmunitario innato: una de dos divisiones funcionales del sistema inmunitario; es la primera línea de defensa.

Sistema Internacional de unidades (SI): sistema de medición adoptado internacionalmente. Establecido en 1960 y es el único sistema empleado en muchos países. Las unidades del sistema se conocen como unidades SI.

Sistema multiplicador de contracorriente: proceso que ocurre en el asa de Henle, por lo cual se mantiene una alta osmolalidad dentro del riñón y se produce orina hipoosmolal.

Solución amortiguadora: una sustancia que reduce cualquier cambio en la concentración del ion hidrógeno; un ácido o base débil y sal conjugada.

Solución en por ciento: la cantidad de soluto por 100 unidades totales de disolución.

Soluto: una sustancia que se disuelve en un líquido o disolvente.

Sonda: en un analizador automatizado, un dispositivo mecánico que se sumerge en una taza de muestra y aspira una porción del líquido.

Sonda de DNA: un fragmento conocido de molécula de DNA utilizado para unir o localizar una hebra de DNA desconocida o comparable. El DNA del virus del papiloma humano ha sido detectado en sondas de DNA.

Sondas de ácido nucleico: uso de ácidos nucleicos para investigar cambios celulares; los ácidos nucleicos almacenan toda la información genética y dirigen la síntesis de proteínas específicas.

Síndrome de Sheehan: hipopituitarismo que surge de un infarto (necrosis) de la hipófisis.

Southern blot: una técnica para detectar secuencias de DNA específicas por medio de una mezcla de moléculas de DNA.

Suero: porción líquida de la sangre sin factores de coagulación.

Sustancia química corrosiva: sustancias químicas perjudiciales para la piel u ojos por contacto directo o para los tejidos de los tractos respiratorio y gastrointestinal si se inhalan o ingie-

ren. Ejemplos son ácidos (acético, sulfúrico, nítrico y clorhídrico) y bases (hidróxido de amonio, hidróxido de potasio e hidróxido de sodio).

Sustancia química reactiva: sustancias que, bajo ciertas condiciones, explotan o encienden de manera espontánea, o que emiten calor y gases inflamables o explosivos.

Sustancias delicuescentes: compuestos que absorben agua suficiente de la atmósfera para causar disolución.

T

Talasemia: trastorno que conlleva un defecto en la tasa y cantidad de producción de hemoglobina.

Tasa de filtración glomerular (TFG): tasa a la que el glomérulo filtra el plasma, expresado en ml/minuto.

Tasa de filtración glomerular estimada (TFGE): ecuación que se emplea para predecir la tasa de filtración glomerular, y se basa en creatinina sérica, edad, tamaño del cuerpo, género y raza, sin la necesidad de creatinina de orina.

TDR: véase Tolerancia dietética recomendada

Tendencia: un cambio gradual en los datos y la media.

Teoría de valor predictivo: en relación con la sensibilidad, especificidad y valor predictivo del diagnóstico. El valor predictivo de una prueba se puede expresar como una función de la sensibilidad, especificidad y prevalencia de enfermedad.

Terapia antiplaquetaria: terapia que destruye plaquetas.

Teratógeno: cualquier cosa que pudiera causar desarrollo anormal de un embrión.

Termistor: termómetro electrónico.

Tetania: espasmos musculares irregulares.

Tetraedro del fuego: una pirámide tridimensional que representa el elemento de fuego; antes el triángulo del fuego.

Tetralogía de Fallot: una condición congénita del corazón que incluye defectos septales, estenosis de la arteria pulmonar, dextroposición de la aorta e hipertrofia del ventrículo derecho.

TFG: véase Tasa de filtración glomerular.

Tiroglobulina: una proteína que contiene yodo secretada por la glándula tiroides.

Tiroides: una glándula que consiste en dos lóbulos localizados en la parte inferior del cuello. Los lóbulos están conectados por una banda estrecha llamada istmo, y por lo común son asimétricas, con el lóbulo derecho más grande que el izquierdo.

Tiroiditis: inflamación de la glándula tiroides.

Tiroiditis subaguda: uno de los esquemas de clasificación más simples de tiroiditis. Las condiciones suelen relacionarse con una fase tirotóxica cuando la hormona tiroidea descarga hacia la circulación, una fase tiroidea cuando la glándula tiroides se repara a sí misma y una fase eutiroidea una vez que se repara la glándula. Estas fases pueden durar semanas a meses.

Tirototoxicosis: un grupo de síndromes causados por concentraciones altas de hormonas tiroideas libres en la circulación. Tirototoxicosis significa que el paciente padece las consecuencias metabólicas de cantidades excesivas de hormonas tiroideas.

Tirotropina (TSH): tirotropina, u hormona estimuladora de la tiroides (TSH), es una glucoproteína que consiste en dos subunidades, α y β , unidas mediante un enlace covalente. Es liberada por la hipófisis anterior.

Tiroxina (T_4): hormona producida por la glándula tiroides.

Título: la dilución más alta de suero que muestra una reacción positiva en presencia de antígeno (p. ej., precipitación de complejo antígeno-anticuerpo).

Tolerancia dietética recomendada (TDR): la cantidad de una vitamina que debe ingerir un individuo saludable para satisfacer las necesidades metabólicas de rutina, y permitir las variaciones biológicas, mantener concentraciones séricas normales, evitar el agotamiento de los depósitos del cuerpo y, por lo tanto, conservar la función y salud normales.

Toracentesis: eliminación de líquido del espacio pleural mediante aguja y jeringa después de la visualización por radiología.

Toxicología: el estudio de venenos, sus acciones, detección y el tratamiento de las condiciones que producen.

Toxina química: una sustancia que es un veneno.

Transferasa: una enzima que cataliza la transferencia de un grupo distinto al hidrógeno de un sustrato a otro.

Transferencia de energía de resonancia fluorescente (TERF): transferencia no radiactiva de energía de una molécula donadora a una molécula aceptora.

Transporte activo: un mecanismo que requiere energía a fin de mover iones por membranas celulares.

Trastorno autoinmunitario: enfermedad o trastorno en el que el cuerpo produce anticuerpos (respuesta inmunológica) contra sí mismo.

Trasudado: líquido que pasa por una membrana; en comparación con el exudado tiene menos células y una densidad relativa menor. Los trasudados son secundarios a patología remota (no pleural) e indican que el tratamiento debe comenzar en otra parte.

Trazador: isótopo radiactivo utilizado para marcar una molécula; conocido también como identificador.

TRH: véase Hormona liberadora de tirotropina.

Triglicérido: consta de una molécula de glicerol con tres moléculas de ácido graso unidas (de ordinario tres ácidos grasos distintos que incluyen moléculas saturadas e insaturadas).

Triosa: un monosacárido que tiene tres carbonos.

Triyodotironina (T_3): una hormona derivada de la glándula tiroides.

Troponina I: proteína globular; marcador específico para enfermedad cardíaca.

Troponina T: proteína globular asimétrica; marcador cardíaco que permite el diagnóstico oportuno y tardío de IAM.

TSH: véase Tirotropina.

Tubo al vacío: tubo para recolección de muestra con un vacío.

Túbulo distal: porción del túbulo renal que va de la extremidad ascendente del asa de Henle al tubo colector.

Túbulo proximal: porción del túbulo renal que comienza en la cápsula de Bowman y se extiende al asa de Henle.

Túbulos: tubos o canales que constituyen una parte del riñón; como en los túbulos contorneados.

Turbidimetría: una técnica analítica que mide la cantidad reducida de luz transmitida por una solución como resultado de la dispersión de luz mediante partículas. Las mediciones se hacen a 180° respecto al haz incidente (luz no dispersada).

U

Ultrafiltración: técnica de filtración para remover materia particulada, microorganismos y pirógenos o endotoxinas.

Ultraoligoelemento: presente en tejidos en concentraciones de mg/kg o menores (partes por millón, ppm) y tiene requerimientos diarios extremadamente bajos (por lo común, menos de 1 mg).

Umbral renal: concentración de plasma arriba de la cual una sustancia aparece en la orina.

Unidad Internacional: UI, la cantidad de enzima que catalizará la reacción de 1 μ mol de sustrato por minuto bajo condiciones específicas de temperatura, pH, sustratos y activadores.

Unión proteínica competitiva: también inmunoensayo competitivo. El antígeno marcado y sin marcar compite por sitios de anticuerpo limitados. El antígeno marcado ligado al anticuerpo será inversamente proporcional a la concentración de antígeno.

Urea: compuesto sintetizado en el hígado a partir de amoníaco y dióxido de carbono, y excretado por la orina.

Uremia o síndrome urémico: concentraciones muy altas de urea en la sangre acompañadas de insuficiencia renal.

Urobilinógeno: producto incoloro o derivado de bilirrubina formado por la acción de bacterias.

V

Valencia: masa de material que se puede combinar con o reemplazar un mol de iones hidrógeno.

Variaciones analíticas: mediciones no idénticas que tienen diversas causas, que incluyen variaciones del instrumento, reactivo y operador.

Vasopresina: una hormona secretada por el hipotálamo. Tiene que ver en la regulación de la presión arterial.

Veneno: cualquier sustancia que causa un efecto dañino por exposición.

Venipunción: punción de una vena. Por ejemplo, para obtener sangre para análisis.

Vía de Embden-Myerhof: serie de pasos relacionados con el metabolismo anaerobio de la glucosa, glucógeno o almidón a ácido láctico; medios principales para producir energía en el hombre.

Vigilancia de fármacos terapéuticos (VFT): determinación de las concentraciones de fármaco en el suero a fin de producir un efecto deseable.

Virilización: desarrollo de características sexuales masculinas en la mujer.

Vitámero: compuestos relacionados que se interconvierten en o sustituyen la forma funcional de la vitamina.

Vitamina: moléculas orgánicas que requiere el cuerpo en cantidades que van de microgramos a miligramos por día para el mantenimiento de la integridad estructural y el metabolismo normal. Realizan diversas funciones en el cuerpo.

VLDL: véase Lipoproteínas de muy baja densidad.

W

Western blot: técnica de transferencia usada para analizar antígenos de proteína. Los antígenos se separan mediante electroforesis, y se transfieren a un nuevo medio por absorción o enlace covalente y luego se detectan mediante una amplia variedad de sondas de anticuerpos. La sonda podría ser marcada con una etiqueta radiactiva, una enzima que puede producir un producto visual o una etiqueta fluorescente o quimiluminiscente, respectivamente. La detección se llevaría a cabo con

instrumentación especializada: espectrofotómetro, fluorómetro y luminómetro, respectivamente. Se emplea para detectar la presencia del virus de inmunodeficiencia humano (VIH).

Z

Zimógenos: formas inactivadas de enzimas; se deben convertir a formas activas para función biológica.

Zona fascicular: la corteza suprarrenal.

Zona glomerular: porción externa de la corteza suprarrenal.

Zona reticular: capa interna de la corteza de la glándula suprarrenal.

Índice

Los números de páginas en *cursiva* denotan figuras; los que van seguidos de una c, cuadros.

A

- Absorbancia (A)delta, 26
 - hemoglobina, 354
 - ley de Beer, 25, 92
 - medición de análisis automatizado, 136-137
 - por ciento de transmitancia, 682c-683c
- Absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA), 471
- Absorción
 - cobre, 369
 - energía, 91, 92
 - fármacos, 571-572
 - fluorometría, 98
 - hierro, 366
 - intestinal, 549, 550-551
 - lípidos, 288
 - ultravioleta, 205
- Absortividad molar (ϵ), 26, 92-93
- AC (anhidrasa carbónica) isoenzima III, 510, 513c
- AC 125, 612
- AC 15-3, 613
- AC 19-9, 613
- ACA (Analizador clínico automatizado) Star
 - calibración de, 139
 - cromatografía de columna automatizada en, 135
 - estaciones de retardo en, 136
 - potómetro en, 137
 - historia de, 125
 - medición y entrega muestra en, 132
 - mezclado en, 134-135
 - reactivos en, 132-133, 134
- Acceso aleatorio, 125, 126
- Accidentes, 45-46
- ACE (antígeno carcinoembrionario), 611, 613
- Acetaminofeno, 481, 597-598
- Acetilcolinesterasa (AChE), 555, 596
 - específica del sistema nervioso central (AChE-SNC), 555
- AChE-SNC (acetilcolinesterasa específica del sistema nervioso central), 555
- Acidemia, 185, 348
 - isoalébrica, 184, 185
- Ácido(s) (*Véase también* Equilibrio acidobase)
 - acetilsalicílico, 597
 - aminoglucogénicos, 180
 - ascórbico, 619t, 626
 - biliares, 477, 484
 - biliares en el suero, 484
 - carbónico, 345, 358
 - concentraciones de, 677c
 - definición, 344
 - desoxirribonucleico (*Véase* DNA)
 - etilendiaminotetracético (EDTA), 27, 281
 - excreción de, 523
 - fenilpirúvico, 183
 - gástrico, 548-549
 - homovanílico (AHV), 424, 613-614
 - pantoténico, 626
 - pH de, 9, 344
 - retinoico, 620
 - ribonucleico (RNA), 161, 191-192
 - sialico relacionado con lípidos en el plasma (ASAL-P), 614
 - valproico, 581
 - vanililmandélico, 425, 426, 614
- Ácido δ -aminolevulínico (ALA)
 - deficiencia de deshidratasa, 379-380
 - pruebas para, 382-383
- Ácido nucleico, sondas, 160-164
 - aplicaciones de, 164
 - definición, 161
 - diagnóstico de porfirias, 383
 - panorama de las, 160
 - propiedades químicas de, 161
 - técnicas de hibridación, 161-164
 - amplificación de la señal, 163-164
 - duplicación de la sucesión automantenida, 163
 - hibridación *in situ*, 164
 - Northern blot, 162
 - polimorfismo para la longitud del fragmento de restricción, 164
 - reacción en cadena de la ligasa, 163
 - reacción en cadena de la polimerasa, 162-163
 - reacción en cadena de la transcriptasa polimerasa inversa, 163
 - resumen de, 162c
 - sistema de la replicasa Q-beta, 163
 - Southern blot, 162, 164
- Ácido úrico, 227-230
 - análisis de, 229-230
 - cantidad necesaria de muestras, 230
 - eliminación del, 522
 - intervalos de referencia para, 230
 - pacientes pediátricos, 663
 - propiedades bioquímicas del, 227-228
 - relación con enfermedades, 228-229
 - sustancias que interfieren, 230
- Ácidos grasos
 - análisis de, 303
 - esencial, 627-628
 - omega, 627-628
 - química de, 283-284
- Acidosis
 - cetoacidosis, 271
 - definición, 344
 - en pacientes pediátricos, 659
 - láctica, 336
 - respiratoria, 348, 349
 - tubular renal, 530
 - tubular renal proximal, 530
- Acidosis metabólica
 - causas de la, 349
 - definición, 348
 - exceso de bases en, 358
 - hiperpotasemia, 324
 - nutrición parenteral total, 637
 - pacientes pediátricos, 659
- Acidosis no respiratoria
 - causas de, 349
 - definición, 348
 - exceso de bases en, 358
 - hiperpotasemia, 324
 - nutrición parenteral total, 637
 - pacientes pediátricos, 659
- Aciduria argininosuccínica, 186
- Aclaramiento de la creatinina (ACr), 28, 224, 524-525
- Acomodos moleculares, 160, 164
- ACP (*Véase* Fosfatasa de ácido)
- Acreditación, 35
- Acromegalia, 404-405, 526
- ACTH (*Véase* Hormona adrenocorticotrópica)
- Activadores, 237, 241
- Actividad de la renina plasmática, 416, 417
- Actividad plasmática de la renina, 416, 417
- Acumulaciones de células, 432
- Adenocarcinoma, 429
- Adenohipofisis (hipófisis anterior), 400
- Adenomas
 - producción de aldo, 417
 - productores de aldo (APA), 417
 - suprarrenales, 417-418
 - tóxicos, 453
- ADH (*Véase* Hormona antidiurética)
- ADP (porfiria por deficiencia de deshidratasa de ALA), 379-380
- Adrenalina (EPI)
 - biosíntesis de, 414, 424, 425
 - degradación de, 425
 - medición de orina y plasma de, 425
 - regulación de la glucosa, 267
- Adsorción en inmunoensayos, 155
- Aféresis de LDL, 295
- Afinidad
 - anticuerpos, 146-147
 - hemoglobina y oxígeno, 353
- AFP (*Véase* α -Fetoproteína)
- Agammaglobulinemia, 668
- Agente hiperglucémico, 267
- Agente hipoglucémico, 267
- Agentes cáusticos, 593
- Agentes oxidantes, 8
- Agentes reductores, 8
 - carbohidratos como, 264-265
- Agua
 - aumento en la retención del, 319
 - captación excesiva de, 316, 319
 - déficit de, 316-317
 - desequilibrio del, 319
 - desionizada, 5, 6
 - destilada, 5, 6
 - electrolitos, 315-317
 - equilibrio del, 522, 660
 - especificaciones del, 5-6
 - filtración de, 5-6
 - grado reactivo, 5, 6
 - hidratación, 25-26
 - OI (osmosis inversa), 5, 6
 - osmolalidad, 315-316
 - osmosis inversa (OI), 5, 6
 - tipos I, II, III, 5, 6
- Aire de espacio muerto, 351
- ALA (*Véase* Ácido δ -aminolevulínico)
- Alantoína, 227, 228
- Albumina
 - características de, 190c, 193-194
 - enfermedad hepática, 485
 - evaluación nutricional, 634
 - fraccionamiento de, 205-207
 - líquido cerebroespinal, 215, 562
 - microalbuminuria, 213, 279, 525-526, 534
 - modificada por isquemia (AMI), 510, 513c
 - pacientes pediátricos, 663
 - relación de A/G, 205
- Alcemia, 323, 348

- Alcalosis**
definición, 344
metabólica, 348, 349, 358
no respiratoria, 348, 349, 358
pacientes pediátricos, 659
respiratoria, 348, 349
respiratoria primaria, 348, 349
- Alcaptonuria**, 183, 184, 526
- Alcoholes**
determinación de, 591-592
efectos tóxicos de, 481, 589-590
indicadores comunes de abuso, 590c
- Alcoholismo**
efecto en los analitos, 29, 31
etanol, 590
γ-glutamilttransferasa, 255
- Aldehídos**, 263
- Aldoismo**, 417
- Aldosa**, 263
- Aldosterona (Aldo)**
aldosterona plasmática, 416
función renal, 520, 521
hiperaldosteronismo, 416-418, 429
hiperplasia suprarrenal congénita, 415-416
hipoaldosteronismo, 416
plasmática (PA), 416, 417
producción anormal de, 417
síntesis de, 414, 415
- Aldosteronismo**, 416-418
diagnóstico de, 417-418, 429
tipos de, 416, 417
- Aleatorio, error (EA)**
comparación de métodos, 54, 55, 68, 69c
datos de control, 70, 71, 73, 74, 76
detección mediante estudios de precisión, 64-65
- Alimentación enteral**, 635
- Almacenamiento**
equipo para, 36-37
muestras, 29, 70
productos químicos, 36-37, 40-41
- ALP (Véase Fosfatasa alcalina)**
- ALT (aminotransferasa de alanina)**, 251, 484
- Amenorrea**, 433-434, 433c
ejercicio, 434
primaria, 433
secundaria, 433-434, 434
- AMGS (automedición de glucosa sanguínea)**, 276
- AMI (albúmina modificada por isquemia)**, 510, 513c
- Amilasa (AMS)**, 256-257
aclaramiento, 544
amilasa, 256-257, 544-545
enfermedad pancreática, 544-545
hipertrigliceridemia, 295
hipocalcemia, 333
isoenzimas, 256-257
lipasa, 258, 544-545
pancreatitis, 256-257
- Amiloide**, 202
- Aminoácidos**, 180-186
aminoacidopatías, 180, 182-186
acidemia isovalérica, 184, 185
aciduria argininosuccínica, 186
alcaptonuria, 183, 184
cistinuria, 186
citrulinemia, 186
enfermedad de la orina de jarabe de arce, 184-185
fenilcetonuria, 182-183
homocistinuria, 185-186, 529
tirosinemia, 183-184
análisis de, 186
carga de, 189
cetogénicos, 180
estructura, 180, 181c
estructura de la hemoglobina, 383-384
metabolismo, 180, 181
- Aminoglucósidos**, 579
- Aminopeptidasa de leucina**, 485
- Aminotransferasa de alanina (ALT)**, 251, 484
- Aminotransferasa de aspartato (AST)**, 250-251
enfermedad hepática, 484
estudio para, 250
fuente de error, 251
fuente de tejido de, 250
importancia diagnóstica de, 250
intervalo de referencia para, 251
- Amniocentesis**, 555
- Amoniaco**, 231-232
análisis de, 231
bioquímica de, 231
correlaciones de enfermedad, 231, 486
equilibrio acidobase, 523
fuentes de error en, 232
insuficiencia hepática, 486
intervalo de referencia de, 232
pacientes pediátricos, 663
requerimientos de muestras para, 231-232
sustancias interferentes, 231-232
- Amplificon**, 163
- Anabolismo**, 637
- Análisis**
inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), 156
lotes, 126, 127
regresión, 53, 54-55, 67
regresión lineal, 53, 54-55, 67
riesgos, 588
sudor, 542, 544, 563-564
- Análisis de orina (AO)**, 526-529
análisis químicos, 527-528
características físicas, 526-527
examen del sedimento, 528-529
bacteria en el, 528
células en, 528
cilindros urinarios, 528-529
cristales en, 529
elementos diversos, 528
nutrición parenteral total, 637
recolección de muestras para, 526
- Analitos**
concentración de, 3
definición, 7
estándares de desempeño para, 68c
- Analizador RA1000**, 127, 130, 134
Astra, 125, 135
AxSYM, 136
Kodak Ektachem, 125
múltiple simultáneo (AMS), 125, 127
- Analizador chem 1**
cubeta transparente en, 136, 137
fase de reacción química en, 134
historia de, 125, 127
- Analizador Dimension RxL**
características de, 128c
D-Dímero, 509, 513c
historia de, 126
sistema de producción y lectura de cubeta, 129-130, 131
- Analizador Paramax**
antecedentes del, 125
código de barras en, 129, 130, 139
medición y entrega de muestras, 132
mezcla en, 135
muestras en, 129, 130
reactivos en, 132, 133
sistemas fotoópticos en, 136, 137
tiempo de reacción en, 136
- Analizadores**
Advia, 125, 128c, 138
Aeroset, 125, 128c
ARCHITECT, 125
AU, 125, 128c
Integra, 128c
modulares, 126, 128c, 141
síncronos, 125, 128c
un solo canal, 125
- Analizadores automatizados**, 125-142 (*Véase también analizador específico*)
análisis de lípidos, 303
característica de, 128c
comparación de, 128c
fase de medición en, 136-138
fase de reacción química en, 133-136
historia de, 125
lugar de atención, 83c
medición de muestra y entrega en, 129-130, 131, 132
pasos de procedimiento en, 127, 129-139
preparación e identificación de muestra en, 127
procesamiento de señales y manejo de datos en, 138-139
prueba pediátrica, 658
reactivos en, 132-133
selección de, 139-140
tipos básicos de, 126-127
- Analizadores centrífugos**
aspectos básicos de, 127
calibración de, 139
carrusel de carga en, 129, 130
fase de medición en, 137
historia de, 125
mezclado en, 134
rotor en, 129
- Analizadores de flujo continuo**
calibración de, 139
fase de medición en, 136
fundamentos de, 126-127
historia de, 125
incubación en, 135
módulo de separación en, 135
reacción química en, 134
reactivos en, 133
sondas en, 130
- Analizadores discretos**
fase de reacción en, 133-136
fundamentos de, 127, 128c
historia de, 125
incubación en, 135
medición en, 136-137
medición y entrega de muestra en, 129-130, 131, 132
preparación e identificación de la muestra en, 127
procesamiento de señales y manejo de datos en, 138-139
reactivos en, 132-133
separación en, 135
sondas en, 130, 131, 132
- Analizadores Vitros**
antecedentes de, 125
características de, 128c
laboratorios totalmente automatizados, 141
mezcla en, 134
reactivos en, 133
recipientes para las muestras, 129
separación en, 135
sistema ISE en los, 321-322
sonda en, 130, 132
- Ancianos (Véase Pacientes geriátricos)**
- Andrógenos**, 423-424, 432
- Anemia**
Cooley, 390
deficiencia de cobre, 370
deficiencia de hierro, 197, 367-368
deficiencia de vitamina E, 620
drenopanocítica, 385-387
hemolítica, 620
megaloblástica, 623, 624
perniciosa, 548, 624
talasemias, 389-390
- Anfetaminas**, 599-600
- Anfolito**, 105-106
- Angina de pecho**, 497, 502
- Angiogénesis**, 607
- Angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP)**, 514
- Angiotensina**, 316

- Anillo hemiacetal, 263
 Anillos de Kayser-Fleischer, 196, 370
 Anillos de pirrol, 378
 Aniones, 315
 Ánodo, 354
 Anormalidades cromosómicas, 498
 Anovulación crónica estrogénica, 434
 Antagonistas de los canales del calcio, 512, 513c
 Antecedentes familiares y arteriosclerosis, 502
 Antibióticos
 aminoglucósidos, 579
 farmacocinética de, 688c-689c
 vancomicina, 579-580
 vigilancia terapéutica de, 579-580
 Anticoagulantes
 colección de sangre arterial, 360
 muestras de fármacos, 577
 terapia trombolítica, 513
 tubos evacuados, 27, 28c
 Anticonceptivos orales, 627c
 Anticuerpos
 enlace con antígenos, 146-147, 148
 inmunoglobulinas y, 199
 monoclonales, 147, 611
 pacientes pediátricos, 667-668
 policlonales, 147
 receptor TSH, 449
 tiroides, 449
 Antidepresivos tricíclicos, 581-582
 Antígeno(s)
 Australia, 487
 cáncer 15-3 (CA 15-3), 613
 cáncer 19-9 (CA 19-9), 613
 cáncer 125 (CA125), 612
 carcinoembrionario (ACE), 611, 613
 carcinoma de células escamosas (ACCE), 614
 glucoproteínas como, 193
 hepatitis B, 487-488, 489
 inmunoensayos, 146
 relacionado con hepatitis (HAA), 487-488
 Antígeno específico de la próstata (PSA)
 cáncer de próstata, 61, 62-63, 64, 254, 608, 614
 histogramas de frecuencia para, 62
 marcador tumoral, 608, 614
 Antiinflamatorios no esteroides (AINE), 416
 Antilogaritmo, 19, 20c
 Antineoplásicos, 583, 689c
 Antioxidantes, 620
 Antiquimotropina α_1 (α_1 -ACT), 190c, 195-196
 Antitripsina α_1
 características de, 190c, 194-195
 deficiencia de, 208, 209
 Anti trombina III (ATT)
 histogramas de frecuencia, 49, 50, 50c
 histograma de frecuencia acumulada, 51
 gráfica de probabilidad para, 59
 Anuria, 527, 532
 Aorta, coartación de, 499
 AP (aldosterona plasmática), 416, 417
 Apoenzimas, 237
 Apolipoproteínas (Apo), 285-286, 303
 Apoptosis, 605, 606, 644-645
 Área de superficie corporal, 680
 Arritmias, 498, 501
 Arsénico, 593
 Arterias hepáticas, 476
 Arteriosclerosis, 293-294, 650
 Asa de Henle
 anatomía de, 518, 519
 electrolitos, 340
 extremidad ascendente de, 518
 extremidad descendente de, 518
 fisiología de, 520
 Asas de retroalimentación, 400, 401
 Ascitis, 566
 Aseguramiento de la calidad (*Véase también* Control de calidad)
 análisis de los gases de la sangre, 358-361
 atención del paciente con calidad en, 83-84
 definición, 69
 espectrofotómetros, 96
 factores preanalíticos en, 69-70
 pruebas en el lugar de atención, 81, 83
 Aspectos toxicológicos, 588-601
 acetaminofeno, 597-598
 agentes cáusticos, 593
 alcohol, 589-592
 análisis de toxinas, 589
 anfetaminas, 599-600
 cannabinoides, 600
 cianuro, 593
 cocaína, 600-601
 definición, 588
 esteroides anabólicos, 600
 exposición a las toxinas, 588
 fármacos terapéuticos, 597-598
 fenilciclodina, 601
 hipnóticos sedantes, 601
 metales, 593-596
 monóxido de carbono, 592-593
 opíaceos, 601
 pacientes pediátricos, 672
 plaguicidas, 596-597
 relación dosis respuesta, 588-589
 salicilatos, 597
 sustancias de abuso, 598-599
 toxicidad aguda y crónica, 589
 Aspectos toxicológicos de los metales, 593-596
 arsénico, 593
 cadmio, 593-594
 mercurio, 595-596
 plomo, 594-595
 Aspiración, con aguja fina, 450
 Aspirina, 597
 AST (*Véase* Aminotransferasa de aspartato)
 Ataques cardíacos (*Véase* Infarto del miocardio)
 Aterosclerosis, 501-502
 ancianos, 650
 lípidos, 283
 ATP (trifosfato de adenosina), 265-266
 ATR distal, 530
 Autoanalizador (AA), 125
 Autoanticuerpos, 279, 449
 antitiroglobulina, 449
 islote, 279
 Autoesplenectomía, 387
 Automatización, 125-142
 analizadores en
 historia de, 125
 selección de, 139-140, 658
 tipos básicos de, 126-127
 factores que llevan a más, 125-126
 laboratorio total, 140-142
 métodos para, 126-127
 pasos en el análisis, 127, 129-139
 fase de medición, 136-138
 fase de reacción química, 133-136
 medición y entrega de la muestra, 129-130, 131, 132
 preparación e identificación de la muestra, 127
 procesamiento de señales y manejo de datos, 138-139
 sistemas y entrega de reactivos, 132-133, 134
 tendencias futuras en, 142
 Automatización total del laboratorio (ATL), 140-142
 administración de datos en la, 142
 análisis químicos con la, 141
 procesos en las muestras, 140-141
 Automedición de glucosa sanguínea (AMGS), 276
 Avidéz de anticuerpos, 146, 147
 Azoemia, 220-221, 530
 posrenal, 221
 prerrenal, 221
- B**
- Bacterias
 detección mediante sondas de ácidos nucleicos, 164
 ensayos de inhibición de Guthrie, 182, 184, 185
 orina, 527, 528, 531
 Balanzas, 16-17
 analíticas, 16
 electrónicas, 16, 17
 sustitución, 16
 Bandas de grasa, 293
 Bandas oligoclonales, 214, 563
 Banderas en el análisis automatizado, 139
 Baño de calentamiento, 135
 Barbituratos, 601
 Bases (*Véase también* Equilibrio acidobase)
 analizadores, 129
 concentraciones de, 677c
 definición, 344
 pH de, 9
 Beakers, Griffin, 10
 Benzodiacepinas, 601
 Beriberi, 622
 BH₄ (tetrahidrobiopterina), 182
 Bicarbonato, 326-327
 aplicaciones clínicas de, 326
 cálculo de, 358
 determinación de, 326-327
 equilibrio acidobase, 345, 346, 347, 348, 523
 intervalos de referencia de, 327
 reabsorción en túbulo renales, 339, 346, 347, 523
 regulación de, 26, 523
 sistema amortiguador de, 345, 346, 348
 Bilirrubina
 conjugada, 360, 478, 482
 directa, 482
 directa e indirecta, 482
 formación de, 477-478
 histograma de frecuencia de, 60
 medición de, 481-483
 método de Jendrassik-Grof, 482-483
 método espectrofotométrico directo, 483
 métodos clásicos, 481-482
 selección de método en, 482
 indirecta, 482
 intervalos de referencia de, 483c
 líquido amniótico, 556
 metabolismo de, 478
 no conjugada, 482
 orina, 528
 pacientes pediátricos, 663
 Bilis, 477
 Biopsia de aspiración con aguja fina (AAF), 450
 Biosensores, 119-120, 142
 Biotina, 625-626
 Bisalbuminemia, 194
 Bisfosfatos, 468, 469, 472
 Bocio, multinodular, 453
 Bombas, 110, 133
 Broncodilatadores, 582, 688
 Bulbos, pipeta, 12
 Buretas, 11c, 15
- C**
- Cadena(s)
 custodia, 31
 hemoglobina, 383-384
 inmunoglobulina, 199
 ligeras de miosina, 507
 polipéptido, 187-188
 Cadmio, 593-594
 Calcimiméticos, 469
 Calcio, 331-334
 control hormonal de, 458-461
 determinación de, 334, 335, 462
 distribución de, 33 1-332
 fármacos que afectan el metabolismo de, 468-469
 fisiología de, 331
 hipercalcemia, 333-334, 462-465, 663-664
 hipocalcemia, 332-333, 465-468, 663-664
 homeostasia de, 331, 332, 458-469, 523
 hormona paratiroidea, 460-461
 intervalos de referencia de, 334, 335c
 ionizado, 462

Calcio, (cont.)

- muestras para, 334
- nutrición parenteral total, 637
- pacientes intervenidos quirúrgicamente y en cuidado intensivo, 333
- pacientes pediátricos, 333, 663-664
- reabsorción en túbulos renales, 339, 523
- sistemas orgánicos en el control de, 458, 461-462
- vitamina D, 458-460

Calcitonina, 331, 446

Cálculo de Friedewald, 299, 302

Cálculos

- agua de hidratación, 25-26
- cifras significativas, 19
- concentración, 20-23
- conversiones de unidades, 675c
- diluciones, 23-25
- logaritmos, 19-20

renales, 186, 531

un punto, 25

Calibración

- analizadores automatizados, 138-139
- analizadores de gases sanguíneos, 357-358
- balanzas, 17
- materiales para, 70
- medidores de pH, 103
- pipeta gravimétrica, 15
- un punto, 25

Calorimetría, indirecta, 618

Cámaras de microdifusión, 231

- analitos, 646c
- cambios bioquímicos y fisiológicos en, 645-650
- causas de muerte, 646c
- definición, 643
- diabetes y resistencia a la insulina, 647-648
- electrolitos, 649
- enfermedades y trastornos relacionados con, 645c
- enzimas, 650
- función cardiovascular, 650
- función endocrina, 645-647
- función hepática, 649
- función pulmonar, 649
- función renal, 648-649
- lípidos, 650
- resultados de laboratorio, 650-652
 - ejercicio y nutrición en, 652
 - intervalos de referencia, 650-651
 - variables preanalíticas en, 651
 - vigilancia de fármacos terapéuticos, 651-652
- teorías de, 644-645

Campanas, 36

- bioriesgo, 36
- extracción, 36

Canales de analizadores, 125

- característica en el logaritmo, 16

Cáncer (Véase también Marcadores tumorales)

- angiogénesis en, 607
- apoptosis en, 606
- cáncer contra células normales, 605
- ciclo celular en, 606
- definición, 605
- detección de recurrencia, 609
- detección oportuna de, 609
- feocromocitomas, 424, 426, 428
- gástrico, 613
- gastrinomas, 540
- gastrointestinal, 613
- hepático, 480-481, 608, 612
- hepatocelular, 480-481, 608, 612
- hipercalcemia en, 464-465
- insulinoma, 273-274
- mama, 608, 613
- metástasis en, 605
- moléculas de adhesión en, 607
- neoplasia e hiperplasia en, 605
- ovario, 608, 612
- pancreático, 274, 540, 613
- pronóstico determinante, 609
- próstata, 61, 62-63, 64, 254, 608, 614
- regulación del crecimiento celular en, 605
- tiroideo, 453, 454

- tratamiento supervisado de, 608-609
- tumores malignos y benignos en, 605
- vía de transducción de señal en, 605, 606

Cannabinoides, 600

CAP (Véase College of American Pathologists)

Capacidad total de unión con el hierro (CTUH), 368c, 369

Capacitación para PLA, 171, 174

Cápsula de Bowman, 518, 519

Captación de yodo radiactivo (CIR), 449-450

Carbamacepina, 581

Carbohidratos, 263-279

- clasificación de, 263-264
- definición, 263
- disacáridos, 264
- estereoisómeros, 264
- hiperglucemia, 268-273
- hipoglucemia, 273-274
- metabolismo de, 265-268, 274
 - defectos genéticos en, 274
 - pacientes pediátricos, 661-662
 - regulación de, 267-268
 - trayectorias en, 265-267
- monosacáridos, 264
- polisacáridos, 264
- propiedades químicas de, 264-265
- pruebas de laboratorio para, 274-279
 - autoanticuerpo de isote, 279
 - cetonas, 278-279
 - hemoglobina glucosilada, 277-278
 - insulina, 279
 - mediciones de glucosa, 275-277
 - microalbuminuria, 279, 526
 - síntesis y metabolismo en el hígado, 479
- Carboxihemoglobina (COHb), 352, 353, 592-593
- Carcinoma(s) (Véase Cáncer)
 - hepatocelular, 480-481, 608
 - ovárico, 608, 612
 - pancreático, 274, 540, 613
- Cardiomiopatías, 501
- Cardiopatía, 497-514 (Véase también Marcadores cardíacos)
 - arteriosclerosis, 293-294, 650
 - aterosclerosis, 283, 501-502, 650
 - colesterol, 291, 295, 502
 - congénita, 498-500
 - hipertensiva, 503-504, 511
 - infecciosa, 504-505
 - reumática, 504

Cardiopatía isquémica (CI), 501-503

- ancianos, 650
- factores de riesgo para, 291c, 501-502
- insuficiencia cardíaca, 500-501
- lípidos y lipoproteínas en, 283, 295, 296, 298, 502
- presentación de, 502

Carga de proteínas en aminoácidos, 188-189

Carnitina, 626

Carotenoides, 551, 620

Caspasas, 644

Catabolismo de proteínas, 192, 629

adrenalina, 267, 424, 425

Catecolaminas

- biosíntesis y almacenamiento de, 424-426
- concentraciones en orina y plasma, 425
- degradación de, 424-425
- feocromocitoma, 426, 428
- noradrenalina, 424, 425

Cationes, 315

Cátodo, 95, 354

CCF (Véase Cromatografía de capa fina)

CCFAR (cromatografía de capa fina de alta resolución), 109-110

CCK (colecistocinina), 540, 542

CDC Cholesterol Reference Method Laboratory Network, 305

CEDIA (inmunoensayo de donador de enzima clonada), 157

Celda electroquímica, 101, 354

Celdas electrolíticas, 101

Celdas galvánicas, 101

Células

- análisis de orina, 528
 - asesinas naturales (NK), 667
 - B, 667
 - brillantes, 528
 - cancerosas contra normales, 605
 - capa de barrera, 94
 - ciclo de vida de, 605-606, 607
 - crecimiento de, 605
 - epiteliales, 528
 - Kupffer, 477
 - levaduras, 528
 - Leydig, 438
 - muestra, 93, 94
 - Sertoli, 438, 440
 - tecales, 432
- Centellografía, 418
- Centrifugación, 17-18
 - ajuste de velocidad y tiempo, 682
 - análisis de lipoproteínas, 300, 302
 - líquido cefalorraquídeo, 28
 - muestras de sangre, 27
 - nomograma de fuerza centrífuga, 681
 - riesgos de, 44
- Centros para servicios de Medicare y Medicaid (CMS), 169, 171c
- Certificación de personal, 174
- Ceruloplasmina, 190c, 196, 369, 370
- Cetoacidosis, 271
- Cetonas, 278-279
 - diabetes mellitus, 271
 - estructura de, 263
 - formación en el hígado, 479
 - orina, 278, 527
- Cetonemia, 278
- Cetosa, 263
- CGL (cromatografía gas-líquido), 111-113
- CGS (cromatografía gas-sólido), 111
- Cholesterol Reference Method Laboratory Network, 305
- Cianosis, 497
- Cianuro, 593
- Ciclo corto de retroalimentación, 401
- Ciclo de retroalimentación
 - largo, 401
 - ultracorto, 401
- Ciclo del ácido tricarbóxico, 265, 266
- Ciclo menstrual, 432-433, 434
- Ciclos de retroalimentación negativa de circuitos abiertos, 401
- Ciclosporina, 582
- Ciego, 549
- Cifras significativas, 19
- Cilindro(s)
 - amplios, 529
 - celulares, 529
 - células epiteliales, 529
 - cera, 529
 - eritrocíticos, 529
 - glóbulos blancos, 529
 - glóbulos rojos, 529
 - granuloso, 529
 - grasa, 529
 - hialinos, 529
 - leucocitos, 529
- Cinacalcet, 469
- Cinasa de adenilato (AK), 247
- Cinasa de creatina (CK), 243-248
 - estudio para, 247-248
 - fuentes de error en, 248
 - fuentes tisulares de, 244
 - importancia diagnóstica de, 244-247
 - infartos de miocardio, 244, 246, 506
 - intervalo de referencia de, 248
 - isoenzimas, 245-247, 506
 - CK macro, 247
 - CK mitocondrial, 247
 - CK-BB, 245-246, 506
 - CK-MB, 245, 246, 247, 506, 507
 - CK-MM, 245, 506
 - fuentes de elevación, 245c
 - isoformas, 506

- Cinc, 370-371
 absorción, transporte, excreción de, 370
 cantidades necesarias de, 370
 deficiencia de, 365c, 371
 evaluación en el laboratorio, 371
 funciones bioquímicas del, 365c, 370-371
 nutrición parenteral total, 637, 638
 toxicidad del, 365c, 371
 valores de referencia para el, 365c
- Cinética
 cálculo de, 26, 243
 cofactores en, 241
 concentración de enzimas en, 240
 concentración de sustrato en, 239-240
 enzimas, 238-243
 inhibidores en, 241-242
 mecanismo catalítico, 238-239
 medición de, 242-243
 medición de masa enzimática, 243
 orden cero, 239, 242
 pH en, 240
 primer orden, 239
 reactivos, 243
 temperatura en, 240-241
- CIR (captación de yodo radiactivo), 449-450
- Circulación, en niños, 656
- Cirrosis del hígado, 209, 210, 252, 480
- Cirugía, 333, 514
 injerto de derivación de arteria coronaria (CIDAC), 514
- Cistatina C, 526, 663
- Cistinuria, 186, 529
- Cistitis, 531
- Citocinas, 629
- Citocromos, 378
- Citometría de flujo, 159-160
- Citrulinemia, 186
- CK (Véase Cinasa de creatina)
 mitocondrial (CK-Mi), 247
- CLAR (Véase Cromatografía líquida de alta resolución)
- Cloruro, 324-326
 determinación de, 325-326
 hipercloremia, 325, 637, 6381
 hipocloremia, 325
 intervalos de referencia de, 325
 nutrición parenteral total, 637
 reabsorción en túbulos renales, 339
 regulación mediante los riñones, 522
 sudor, 544, 563, 564, 669
- Clorurómetros, 105
 voltamétricos, 105
- CMS (Centros de servicios para Medicare y Medicaid), 169, 171c
- Coagulación, 175-176, 622
- Cobalamina (vitamina B₁₂), 619c, 624-625
- Cobalto, 365, 371
- Cobre, 369-370
 absorción de, 369
 ceruloplasmina, 196
 deficiencia de, 365c, 370
 evaluación de laboratorio de, 370
 exceso de, 365c, 370
 excreción de, 369
 función bioquímica de, 365c, 369
 nutrición parenteral total, 637-638
 requerimientos dietéticos, 369
 transporte de, 369
 valores de referencia de, 365c
- Cocaína, 600-601
- Coefficiente de correlación (r), 55, 67
- Coefficiente de creatinina, 632
- Coefficiente de partición, 108
- Coefficiente de variación (CV), 51-52
- Coenzimas, 237, 241
- Cofactores, 237, 241, 365
- Colágeno, 193
- Colecalciferol, 621
- Colecistocinina (CCK), 540, 542
- Colesterol
 absorción de, 288
 ancianos, 650
 arteriosclerosis, 294
 función de, 283
 LDL, 292c, 302
 objetivos de desempeño analítico para, 292c
 química de, 284, 285
- Colesterol de HDL, 292c, 300-302
 biosíntesis de hormonas esteroideas, 414, 415
 cardiopatía, 291, 502
 colesterol de LDL, 292c, 302
 hipercolesterolemia, 289, 294, 295
 medición de, 298-299
 trayectoria de transporte inverso, 288, 289-290
- College of American Pathologists (CAP)
 automatización del laboratorio, 126
 programa de competencia, 80
 pruebas en el lugar de atención, 169
 seguridad en el laboratorio, 35
- Coloide, 446
- Columnas
 cromatografía automatizada, 135
 cromatografía de gases, 112-113
 cromatografía líquida de alta resolución, 110
 eliminar proteínas, 135
 filtración en gel, 108, 135
- Columnas de intercambio iónico
 ácido aminolevulínico, 382-383
 analizadores automatizados, 135
 porfobilinógeno, 382-383
- Coma hepático, 486
- Commission of Office Laboratory Accreditation (COLA), 169
- Compensación, 348-349
- Complejo de troponina, 200-201, 246, 507
- Complejo enzima-sustrato (ES), 239
- Complejo ES (enzima-sustrato), 239
- Complejos de anticuerpo-antígeno, 146-147
- Complemento, 190c, 198, 667
- Composición corporal, 632-633
- Comprobaciones delta, 79, 80, 360
- Compuestos anhidros, 15
- Compuestos higroscópicos, 15
- Computadoras
 análisis automatizado, 139
 automatización de laboratorio total, 142
 pruebas en el lugar de atención, 176
- Comunicación interauricular (CIA), 499
- Concentración
 absorción, 92, 93
 ácidos y bases, 677c
 enzimas, 240
 máxima de fármacos, 575
 soluciones, 7, 20-23
 conversión de unidades en, 22-23
 densidad relativa, 22
 molaridad, 7
 molaridad, 7, 21
 normalidad, 7, 21-22
 saturación en, 7
 soluciones en por ciento, 7, 20-21
 sustratos, 239-240
- Conductividad de soluciones, 8
- Conducto quilífero, 549
- Conectividad en las pruebas en el lugar de atención, 176
- Conservadores, 27, 28c
- Constante de afinidad (K_a), 147
- Constante de disociación (K_d), 8
- Constante de equilibrio (K_e), 147
- Constante de Michaelis-Menten (K_m), 239-240, 241-242
- Constricción de la aorta, 499
- Contadores gamma, 152
- Contenido de oxígeno, 352-353
- Contenido total de dióxido de carbono (ctCO₂), 358
- Contenido total de hierro, 367c, 368-369
- Contrainmunolectroforesis, 149
- Control de calidad, 70-81
 análisis de lípidos, 305
 análisis de los gases de la sangre, 360-361
 definición, 69
 electrónica, 361
 equipo para el, 70-71
 externa, 80-81, 82
 gráficas de control, 72, 77, 781
 información de los pacientes para, 79-81
 prospectiva, 361
 pruebas en el lugar de atención, 81, 83, 174, 175
 reglas de control en, 72-79
 sistema estadístico de, 70, 71-81
- Controles de verosimilitud, 79
- Conversión de unidades, 22-23
 SI, 676c
- Cooxímetros, 353-354
- Coproporfirina (COPRO), 378, 381
 hereditaria (CPH), 379, 381
- Coronariopatía, 293
- Corrida analítica, 64, 72
- Corteza
 renal, 518
 suprarrenal, 414-424
- Cortisol
 hipercortisolismo, 419-423
 insuficiencia suprarrenal, 418-419
 orina, 420
 plasma, 420-421
 saliva, 421
 síntesis de, 414, 418, 665
 supresión de dexametasona de, 421
- Cosintropina, 418-419
- CPH (coproporfirina hereditaria), 379, 381
- Creatina
 análisis de, 227
 bioquímica de, 223, 224
 correlaciones de enfermedad de, 225
- Creatinina
 análisis de, 225-227
 bioquímica de, 223, 224
 correlaciones de enfermedad de, 223-225
 eliminación de, 521
 fuentes de error en, 227
 intervalo de referencia de, 227
 muestras de orina de 24 h, 28
 pacientes pediátricos, 663
 requerimientos de muestra de, 227, 524
 sustancias interferentes, 227
- Crecimiento
 células, 605
 pacientes pediátricos, 656, 663
- CRH (Véase Hormona liberadora de corticotropina)
- Cristales en orina, 529
- Criterios de intervalo de confianza, 68
- Criterios de valores sencillos, 68, 69c
- Cromatografía, 108-115
 absorción, 108
 adsorción, 108
 afinidad, 277
 análisis de aminoácidos, 186
 bidimensional, 186
 capa fina de alta resolución (CCFAR), 109-110
 columna automatizada, 135
 definición, 108
 exclusión estérica, 108
 intercambio catiónico, 278
 intercambio iónico, 109, 247
 líquido-líquido, 108
 líquido-sólido, 108
 modos de separación, 108-109
 partición, 108
 permeación de gel, 108
- Cromatografía de capa fina (CCF), 109-110
 detección de fármacos, 589, 599
 líquido amniótico, 558, 559
- Cromatografía de gases, 111-115
 columnas para, 112-113
 detección de fármacos, 589
 detectores para, 113

Cromatografía de gases, (*cont.*)
determinaciones de etanol, 592
espectrometría de masas, 113, 115
gas-líquido, 111, 112
gas-sólido, 111

Cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), 110-111

análisis de ácido úrico, 230
análisis de creatinina, 226-227
bombas en, 110
columnas en, 110
detectores en, 111
fase inversa, 110
inyectores de muestra en, 110-111
porfirinas, 383
registradores en, 111

Cromatograma, 111, 112

Cromo, 365c, 371, 638

Cromogranina A, 426, 428, 613

CRP (*Véase* Proteína C reactiva)

CTUH (Capacidad total de unión con el hierro), 368c, 369

Cuantificación beta, 302

Cubetas

analizadores automatizados, 129-130, 131, 134
espectrofotómetros, 94
transparentes, 136-137

Cubiertas de bioseguridad (gabinetes), 36, 38c

Cuerpo lúteo, 433

Cuerpos laminares, 560

Curvas características de operación del receptor, 63, 64

Curvas de calibración, 93

Curvas de las características de operación del receptor (CCOR), 63, 64

CV (coeficiente de variación), 51-52

D

DE₉₀, 589

Defectos del conducto neural, 555

Defectos septales, 498-499

ventriculares (DSV), 498-499

Dehidroepiandrosterona (DHEA), 414, 423-424

5-Dehidrotestosterona (5-DHT), 423

DELFLA (fluoroimmunoensayo de lantánido mejorado por disociación), 158

Demstración del usuario de precisión y exactitud, 68-69

Densidad de soluciones, 22

Densidad relativa (DR), 22, 527

Densitometría de minerales óseos, 471

Densitómetros, 106, 208, 209, 210

Derrames

materiales biopeligrosos, 38
mercurio, 40
productos químicos, 41

Desarrollo de los órganos en los niños, 656

Desarrollo fisiológico, 656

Desarrollos matemáticos (*Véase* Cálculos)

Descomposición celular, 322, 324

Desecadores y desecantes, 15-16

desecantes y desecadores, 15-16
equipo de vidrio y de plástico, 9-15
jeringas, 15
pipetas, 10-15
termómetros, 9
vasos, 10, 11c, 15

Desechos biopeligrosos, 45

Desechos de hospitales, 45

Deshidratación, 202, 649

Deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato (G-6-PD), 258-259, 274

Deshidrogenasa de lactato (LD), 248-250

determinación de la, 250
fuentes de error en el, 250
fuentes tisulares del, 248
hepatopatías, 485
importancia diagnóstica del, 248-250
isoenzimas del, 248-250, 506
líquido cefalorraquídeo, 561

patrón de sacudidas, 249
trastornos cardíacos, 249, 505-506
valores de referencia del, 250

Desintoxicación, 480

Desnaturalización de proteínas, 188

Desnutrición, 628-632 (*Véase también* Valoración de la nutrición)

definición, 628
hipermetabolismo por estrés, 629-632
pacientes en el hospital, 629
programa para prevenir el riesgo de, 632
respuesta inflamatoria en la, 629
riesgo de, 618, 628-632

11-Desoxicortisol (11-DOC), 419

Desoxihemoglobina (HHb), 352

Despachadores, 13, 14

Desplazamiento de Stokes, 98

Desviación absoluta media (DAM), 52

Desviación de cloruros, 325, 345

Desviación de monofosfato de hexosa (HMP), 265, 266

Desviación estándar

definición, 51, 52
índices, 81
media, 52
recta de regresión, 55

Desviación promedio, 52

5'-Desyodinasas, 446-447

Detectores

centelleo de cristales, 152
conductividad térmica (CT), 113
cromatografía, 111, 113
ionización de flama, 113
PDA (arreglo de fotodiodos), 95, 96
sistema de fotodiodos, 95, 96

DEXA (absorciometría de rayos X de energía dual), 471

Dextrinas, 256

DHEA (dehidroepiandrosterona), 414, 423-424

Diabetes

idiopática tipo 1, 269
insípida (DI), 320, 409

Diabetes juvenil de inicio en la madurez (DJIM), 270

fisiopatología de, 271
insuficiencia renal, 532-534
microalbúmina, 213, 279, 525-526, 534
pacientes pediátricos, 662
proteinuria en, 213, 525-526
tipo 1, 269, 271, 532, 662
tipo 2, 269-270, 271, 532, 662

Diabetes mellitus, 268-273

ancianos, 647-648
aterosclerosis, 502
clasificación de, 268-269
criterios de diagnóstico para, 271-273
definición, 268
dependiente de insulina (DMDI), 269, 271, 532, 662
gestacional (DMG), 269, 270-271, 272-273
hallazgos de laboratorio en, 269
idiopática tipo 1, 269
índice I/S en, 559
magnesio, 328
no dependiente de insulina (DMNDI), 269-270, 271, 532, 662
tipo 1, 269, 271, 532, 662
tipo 2, 269-270, 271, 532, 662

Diagrama de Altman-Bland, 53

Dialisis

enfermedad renal de etapa terminal, 535
insuficiencia renal aguda, 534-535
técnica de separación, 18-19, 135

Dialisis peritoneal, 534, 535

ambulatoria continua (DPAC), 534
cíclica continua, 534

Dicotomía adaptativa nutricionalmente dependiente, 628, 630

Dieta

cardiopatía, 291, 292, 511
requerimientos de cinc en, 370
requerimientos de cobre en, 369

requerimientos de hierro en, 366
vitaminas en, 459, 627

2,3-Difosfoglicerato (2,3-DPG), 353

Difusión, 315

Digestión, 549

Digoxina, 577-578

1,25-Dihidroxivitamina D (1,25(OH)₂D), 458-460, 524, 621

Dilantina, 580-581

Diluciones, 23-25

serie, 24-25

simples, 23-24

Diluidor/despachadores, 13, 14

Dinamometría de presión manual, 633

Dínodos, 95

Dinucleótido de nicotinamida y adenina (*Véase* NAD)

Dióxido de carbono (*Véase también* Bicarbonato)

aplicaciones clínicas de, 326
contenido total de, 358
determinación de, 326-327
equilibrio acidobase, 345, 346, 348
intercambio de gas, 349-351
intervalos de referencia de, 326
medición de, 356
presión parcial de (PCO₂), 354, 356
regulación de, 326

Dipéptidos, 187, 188

Diploide, 160

Director de programa POCT, 169-170

Disacáridos, 264

Disbetalipoproteinemia familiar, 296

Dislipidemias

arteriosclerosis, 293-294, 650
definición, 283
elevación de Lp(a), 296
hipercolesterolemia, 289, 294, 295
hiperlipoproteinemia combinada, 296
hiperlipoproteinemias, 294-295
hipertrigliceridemia, 295-296
hipoalipoproteinemia, 296, 298
hipolipoproteinemia, 296

Disnea, 497

Disoluciones, 6-8

amortiguadoras, 8
concentración de, 7, 20-23
conductividad de, 8
definición, 7
densidad de, 22
densidad relativa de, 22
diluciones, 23-25
molaridad de, 7
molaridad de, 7, 21
normalidad de, 7, 21-22
pH de, 8
porcentaje, 7, 20-21
porcentuales, 7, 20-21
potencial redox, 8
propiedades coligativas, 7
saturación de, 7
superenfriadas, 118-119
supersaturadas, 7
unidades de conversión de, 22-23

Disolventes, 7, 109-110

Disopiramida, 579

Dispersión, 51, 55

Distribución de fármacos, 572, 575

Distribuciones gaussianas, 49-50, 51, 52

Distrofia

miotónica, 439-440
muscular, 244, 246
muscular de Duchenne, 244, 246

Diuréticos, 513

tiacida, 465, 469

DMDI (diabetes mellitus independiente de insulina), 269, 271, 532, 662

DMNDI (diabetes mellitus no dependiente de insulina), 269-270, 271, 532, 662

DNA (ácido desoxirribonucleico) (*Véase también* Sondas de ácido nucleico)

análisis de hemoglobinopatías, 393
análisis de talasemias, 393

- análisis mediante citometría de flujo, 160
detección para fenilcetonuria, 183
estudio para hepatitis B, 488
índice de DNA (ID), 160
química de, 161
síntesis de proteínas, 191
Documentación para PLDA, 174, 175
Dopamina, 405, 406
Ducto colector
 anatomía de, 518, 519
 electrolitos, 340
 fisiología de, 521
Dúplex, 161
Duplicación autosostenida de la secuencia (3SR), 163
 cinc, 370
 D-xilosa, 545, 550-551
- E**
- EAR (electroforesis de proteínas de alta resolución), 210
EC (electroforesis capilar), 107, 142, 210-211
Ecuación de Henderson-Hasselbalch, 8, 348
Ecuación de Nernst, 103, 336
Edad
 aterosclerosis, 501
 e intervalos de referencia, 57, 58
 gestacional, 557
 gestacional del feto, 557
 niveles de testosterona, 440
Edema, 498
EDTA (ácido etilendiaminotetracético), 27, 28c
EEM (error estándar de la media), 52-53
EFD (ensayo de fluorescencia directa), 159
Efecto de gancho, 612
Efecto Wolff-Chaikoff, 454
Efecto Zeeman, 98
Efectores directos, 402, 403
Eficacia de diagnóstico, 61-63
Eficiencia, 62, 63
Efusiones, 565
EGPADSS (Electroforesis en gel de poliacrilamida de duodecilsulfato de sodio), 159
EIA (inmunoensayos de enzimas), 151, 152
EID (ensayos de inmunofluorescencia indirecta), 159
EIE (enfoque isoelectrico), 107, 211
Eje hipotalámico-hipofisario suprarrenal (EHHS), 401, 448, 664-665
Ejercicio
 ancianos, 652
 enfermedad cardíaca, 502, 511
 regulación de potasio, 322
Electrodispersión (ED), 111
Electrodo(s)
 amoníaco, 231
 analizadores de gases sanguíneos, 354-355
 Clarke, 354-355
 detectores de gas, 104
 enzimas, 104-105
 indicadores, 102
 PCO₂, 104
 pH, 102-104, 356
 PO₂, 104
 referencia, 102
 selectivos de iones, 102-105
 selectivos de microiones, 120
 sensores de macro y microelectrodo, 356-357
 Severinghaus, 356
 transcutáneos, 355
Electrodos selectivos de iones (ESI), 102-105
 amoníaco, 231
 analizadores automatizados, 125
 calcio, 104, 334, 335
 cloro, 105, 325
 CO₂ total 326
 detectores de gas, 104
 electrodos de pH, 102-104
 enzima, 104-105
 potasio, 324
 sodio, 320-322
 tipos de, 103-104
Electroendosmosis, 107
Electroforesis, 105-107
 acetato de celulosa, 106, 392
 agar de citrato, 392
 análisis de lipoproteínas, 300
 bidimensional, 116
 capilar (EC), 107, 142, 210-211
 cinasa de creatina, 245, 247
 deshidrogenasa de lactado, 249
 detección y cuantificación en, 106
 electroendosmosis, 107
 enfoque isoelectrico, 107
 fosfatasa alcalina, 252-253
 fraccionamiento de proteínas, 207-211
 alta resolución, 210
 capilar, 210-211
 enfoque isoelectrico, 211
 proteína sérica, 207-208, 209, 210
 frontera móvil, 207
 gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sodio (EGPADSS), 159
 hemoglobina, 392
 inmunofijación (EIF), 149, 150
 libre, 207
 líquido cefalorraquídeo, 214
 materiales de soporte para, 106
 orina, 525
 procedimientos para, 105-106
 proteínas de alta resolución (EAR), 210
 proteínas séricas (EPS), 207-208, 209, 210
 soluciones amortiguadoras para, 105-106
 tratamiento y aplicación de la muestra, 106
 zona, 105, 211
Electroforetograma, 105
Electroinmunoensayo, 150
Electrolitos, 315-340
 agua, 315-317
 ancianos, 649
 bicarbonato, 326-327
 calcio, 331-334
 cloruro, 324-326
 definición, 315
 espacio aniónico, 338-339
 fostato, 334-336
 función renal, 339-340, 522-523
 funciones de, 315
 lactato, 336-338
 magnesio, 327-330
 nutrición parenteral total, 637, 638
 pacientes pediátricos, 660
 potasio, 322-324
 sodio, 317-322
 sudor, 544, 563, 564
Electroquímica 101-105
 celdas galvánicas y electrolíticas en, 101
 clorurómetros voltamétricos en, 105
 electrodos de enzima en, 104-105
 electrodos de pH, 102-104
 electrodos detectores de gas, 104
 electrodos selectivos de iones en, 102
 semiceldas en, 101, 102c
 voltimetría de decaído anódico, 105
Eliminación de desechos, 44-45
Eliminación de fármacos
 aclaramiento metabólico en, 574-575
 aclaramiento renal en, 575
 constante de, 572-574
 primer orden, 572, 573
 tasa de, 572-574, 575
Eliminación de materiales peligrosos, 44-45
Eliminación de primer orden, 572, 573
ELISA (análisis de inmunoadsorción ligado a enzimas), 156
Elución de gradiente, 111, 112
Elución isocrática, 111, 112
Embarazo
 diabetes mellitus gestacional, 269, 270-271, 272-273
 fetoproteína alfa en, 190c, 195, 555
 fosfatasa alcalina en, 252
 prueba del líquido amniótico en, 555-560
Embarque de materiales biopeligrosos, 39
Eminencia media, 400
Emisión de energía, 91, 92
Emisión gamma, 152
Empleados y empleadores, 35
Emulsiones coloidales, 189
Encefalopatía, 231
Endocarditis infecciosa, 504-505
Endosmosis, 107
Energía
 activación, 238, 239
 metabolismo, en niños, 661-662
 requerimientos nutricionales para, 618
Enfermedad
 almacenamiento de glucógeno, 274, 669-670
 autoinmunitaria de la tiroides, 449
 Bruton, 668
 cardiovascular (ECV), 419 (*Véase también* Cardiopatía)
 células falciformes, 385-387, 391-392
 cerebrovascular (ECV), 293
 fibroquística del páncreas (*Véase* Fibrosis quística)
 Graves, 449, 451-453
 Günther, 380
 hemoglobina H, 389
 hemolítica del recién nacido, 555-557
 membrana hialina, 557
 molecular, 669-670
 moléculas pequeñas, 670-671
 Munchausen por delegación, 672
 orina con olor a jarabe de arce (EOJ), 184-185
 Paget (ostetis deformante), 252
 renal de etapa terminal (ERET), 220, 532, 535-536
 Tangier, 289, 298
 tiroides inducida por amiodarona, 453-454
 vascular periférica (EVP), 293
 von Gierke, 274
 Wilson, 196, 370
Enfermedades genéticas, 668-671
 diagnóstico, 164, 555, 669-671
 enfermedades de moléculas grandes, 669-670
 enfermedades de moléculas pequeñas, 670-671
 exploración selectiva del recién nacido para, 669, 670
 fibrosis quística, 540, 544, 563-564, 669
Enfoque isoelectrico (EIE), 107, 211
Enlaces, 147, 187
 colorante, 205, 206-207
 peptídicos, 187
Enmiendas de mejoramiento del laboratorio clínico de 1988 (CLIA 88)
 límites de error permisibles, 68
 prueba automatizada, 126
 pruebas en el lugar de atención, 169
Enolasa específica de las neuronas (NSE), 614
Ensayo de inhibición bacteriana de Guthrie
 enfermedad de la orina de jarabe de arce, 184
 fenilcetonuria, 182
 homocistinuria, 185
Ensayo de inmunocentración (ICON), 158
Ensayos
 captura de antígenos, 155
 cinéticos, 242-243
 competitivos, 151, 153-154
 DNA ramificado, 164
 duplicados, 360-361
 fluorescencia directa (EFD), 159
 inmunofluorescencia, 159
 inmunofluorescencia indirecta (IFA), 159
 inmunométricos, 154-155
 monitoreo continuo, 242-243
Ensayos enzimáticos acoplados
 ácido úrico, 229-230
 amilasa, 257
 creatinina, 226
 NAD/NADH en, 242

- Ensayos inmunoquímicos
 ACP prostático, 254
 lipoproteínas, 300
 proteínas, 211
- Envejecimiento, 643-652
- Enzima(s), 237-259
 ancianos, 649, 650
 auxiliar, 242
 cinética de, 238-243
 cálculo de, 26, 243
 cofactores en, 241
 concentración de enzimas en, 240
 concentración de sustrato en, 239-240
 inhibidores en, 241-242
 mecanismo catalítico, 238-239
 medición de, 242-243
 medición de masa enzimática, 243
 pH en, 240
 temperatura en, 240-241
 clasificación de, 237-238
 convertidora de angiotensina (ACE), 415
 definiciones de, 237
 enfermedad hepática, 484-485
 enfermedad pancreática, 544-545
 específicas de grupo, 239
 importancia clínica, 243-259
 amilasa, 256-257
 aminopeptidasa de leucina, 485
 aminotransferasa de alanina, 251, 484
 aminotransferasa de aspartato, 250-251, 484
 cinasa de creatina, 243-248
 deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato, 258-259
 deshidrogenasa de lactato, 248-250, 485
 fosfatasa alcalina, 252-253, 484
 fosfatasa de ácido, 253-255
 γ -glutamyltransferasa, 255-256, 485
 lipasa, 257-258
 5'-nucleotidasa, 485
 resumen de, 244
 indicadora, 242
 inmovilizadas, 243
 inmunoensayos, 152
 marcadores cardíacos, 505-506
 marcadores tumorales, 609-610
 nomenclatura de, 237-238
 pacientes pediátricos, 663
 propiedades de, 237
 reactivos, 243
 síntesis en el hígado, 479-480
- EOOJM, Enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, 184-185
- Epitopos, 146
- EQL (ensayo quimioluminescente), 151c, 152-153
- Equilibrio acidobase
 aseguramiento de la calidad en evaluaciones, 358-361
 evaluación de, 346, 348-349
 mantenimiento de H⁺, 344
 medición de gases sanguíneos, 353-358
 oxígeno e intercambio de gas en, 349-353
 pacientes pediátricos, 659
 pulmones en, 345
 riñones en, 345, 346, 347, 348, 523
 sistemas amortiguadores en, 344-345
 trastornos de, 348-349
- Equipo
 calidad, 83
 mantenimiento preventivo de, 70
 mejora, 83
 plástico, 9-10, 686c
 protector de ojos, 37
 pruebas en el lugar de atención, 174
 seguridad, 36-38
- Equipo de laboratorio, 8-16
 balanzas, 16-17
 buretas, 11c, 15
- ERET (enfermedad renal de etapa terminal), 220, 532, 535-536
- Ergocalciferol, 621
- Eritroblastosis fetal, 555-557
- Eritrocitos
 líquido cefalorraquídeo, 561
 orina, 528
- Eritropoyetina, 524
- Error
 aleatorio (EA)+métodos de comparación, 54, 55, 68, 69c+datos de control, 70, 71, 73, 74, 76
 analítico, 70, 71, 358
 aseguramiento de la calidad, 69-70
 constante (EC), 68
 copiado, 70
 criterios para evaluación, 68
 detección con estudios de precisión, 64-65
 estándar, 44, 52-53
 estándar de la estimación, 44
 estándar de la media (EEM), 52-53
 médicamente permisible, 67-68
 medición de gases sanguíneos, 355, 359-360
 preanalítico y posanalítico, 83, 358
 procesamiento de muestras, 29, 31
 proporcional (PE), 54, 55, 68, 691
 respuesta de reglas de control a, 72-79
 sistemático
 constante, 54, 55
 criterios de valor único, 68
 detección con reglas de control, 73, 74, 75-76
 estadística, 54, 55, 70, 71
 inexactitud, 64, 66
 medición de, 56
 proporcional, 54, 55
 tendencia, 358
 total, 68, 69c
- Errores de tendencia, 358
- Escala de Ferriman-Gallwey, 435
- Esclerosis múltiple (EM), 214-215, 562, 563
- Escorbuto, 618, 626
- Esfingomielina (SP), 558
- Esfuerzo y aterosclerosis, 502
- Espacio aniónico (EA), 338-339
- Especificidad
 absoluta, 239
 enlace, 239
 enzimas, 239
 estadística, 61-63, 64
 estereoisométrica, 239
 fluorometría, 100
 marcadores tumorales, 608
- Espectrofotometría, 91-98
 absorción atómica, 97-98
 analizadores automatizados, 136
 aseguramiento de la calidad en, 96
 bilirrubina, 483, 556-557
 espectrofotómetros en, 93-96
 ley de Beer en, 91-93
 mediciones de los gases de la sangre, 353-354
 tecnología de placa, 137, 138
 ultravioleta, 205
- Espectrofotómetros
 absorción atómica, 97-98
 aseguramiento de la calidad de, 96
 células de muestra para, 94
 fotodetectores de, 94-96
 fuente de la luz en los, 93-94
 haz sencillo y doble, 93, 95-96
 monocromadores de, 94
- Espectrometría
 absorción atómica, 97-98
 láser, 101
 masas en tándem, 113, 115, 669, 671
 masas MALDI-TOF, 116-117
 masas SELDI-TOF, 117, 118
 reflectancia, 137, 138
- Espectrómetros de masas (EM)
 CLAR, 111
 cromatografía de gases, 113, 114, 115
 cuatro polos, 113, 114
 MALDI-TOF, 116-117
 pruebas automáticas, 142
 SELDI-TOF, 117, 118
 trampa para iones, 113, 114
- Espermatogénesis, 437, 438
- Espermatogonia, 437
- Espermatozoides, 528
- Estadística, 49-69
 definición, 49
 eficacia diagnóstica, 61-63
 inferencial, 49, 55-56
 intervalos de referencia en, 57-61
 selección del método en, 64-69
 teoría del valor predictivo en, 61-63, 64
- Estadística descriptiva, 49-55
 observaciones por pares, 52, 53-55
 observaciones simples, 49-53
- Estado hipermetabólico, 629
- Estándar de comunicación de riesgo, 39
- Esteatorrea, 541, 543
- Esterilización del agua, 6
- Esterasa de leucocitos, 528
- Esteroisómeros, 264
- Ésteres de acridinio, 152
- Esteroides anabólicos, 600
- Estilo de vida y aterosclerosis, 502
- Estradiol, 432
- Estriol, 432
- Estrógenos, 432, 666
- Estrona, 432
- Estructura
 aminoácidos, 180, 181c
 carbohidratos, 263, 264, 265
 creatina, 224
 creatinina, 224
 cuaternaria, 188, 237
 enzimas, 237
 hemoglobina, 383-384
 lípidos, 284
 lipoproteínas, 285-287
 mioglobina, 393-394
 péptidos, 187-188
 porfirinas, 378
 proteínas, 187-188
 urea, 220
- Estudio para receptores, 151
- Estudios de comparación de métodos, 52, 53-55, 66-69
- Estudios de interferencia, 65-66, 67c
- Estudios de recuperación, 65-66
- Estudios en emparedado, 155
- Estudios microfluorométricos, 182, 184-185
- Etanol
 efecto en el hígado, 481
 indicadores comunes de abuso, 590c
 toxicología de, 590
- Etapas de Tanner, 434
- Etilenglicol, 591
- Etiquetas de código de barras, 127, 129, 130, 139
- Etosuximida, 581
- Evaporación, muestra, 130, 657
- Exactitud
 análisis de lípidos, 298, 304-305
 estimación de, 65-66
 longitud de onda, 96
- Exceso de base, 354, 358
- Excreción
 ácidos, 523
 bilis, 477-479
 cinc, 370
 cobre, 369
 definición, 346
 hierro, 366-367
- Extinción, 100
- Extintores de fuego, 42-43
- Exudados, 565

F

- Factor de retención (F_r), 109
- Factor inhibitorio de prolactina (PIF), 405
- Factor intrínseco, 548, 624
- Factores de crecimiento (FC), 402-405, 635, 665-666

- Factores de crecimiento análogos a la insulina (FCAI)
 evaluación nutricional, 635
 hígado, 479
 hormona del crecimiento, 403-404, 635, 665, 666
- Factores preanalíticos, 69-70, 651, 657
- Fagocitos, 667
- Farmacocinética
 pediatría, 671-672
 resumen de, 688c-689c
 vigilancia terapéutica de fármacos, 575-576
- Fármacos
 Fármacos antiepilépticos, 580-581
 ácido valproico, 581
 carbamacepina, 581
 etosuximida, 581
 fenitofna, 580-581
 fenobarbital, 580
 parámetros farmacocinéticos de, 688c
- Fármacos cardioactivos, 577-579
 digoxina, 577-578
 disopiramida, 579
 farmacocinética de, 688c
 lidocaina, 587
 procainamida, 578-579
 quinidina, 578
- Fármacos de antirresorción, 468
- Fármacos de bloqueo adrenérgicos β , 512, 513c
- Fármacos inmunosupresivos, 582-583, 689I
- Fármacos mal uso de, 598-601, 690c-691c
 anfetaminas, 599-600
 cannabinoides, 600
 cocaína, 600-601
 esteroides anabólicos, 600
 fenciclidina, 601
 hipnóticos sedantes, 601
 opiáceos, 601
 prevalencia de, 599c
- Fármacos psicoactivos, 581-582
 antidepresivos tricíclicos, 581-582
 litio, 581
 parámetros farmacocinéticos de los, 689c
- Fase folicular del ciclo menstrual, 433
- Fase lútea del ciclo menstrual, 433
- Fatiga en cardiopatía, 498
- Fenciclidina (PCP), 601
- Fenilalanina, 182-183
- Fenilketonuria (PKU), 182-183, 669
- Feniletanolamina N-metiltransferasa (PNMT), 424, 425
- Fenitofna, 580-581
- Fenobarbital, 580
- FEO (flujo electroosmótico), 107
- Feocromocitomas (Pheo)
 ácido homovanilínico, 614
 catecolaminas, 424
 consecuencias y pronóstico de, 428
 cromogranina A, 426, 428, 613
 diagnóstico de, 426, 428, 429
 tratamiento de, 428
- Ferritina, 367c, 368c, 369
- Feto
 edad gestacional, 557
 enfermedad hemolítica en, 555-557
 madurez pulmonar en, 557-560
- α_1 -Fetoproteína (AFP)
 características de, 190, 195
 líquido amniótico, 555
 marcador de tumores, 608, 612
- Fibras ópticas, 136
- Fibrinógeno
 características de, 190, 198
 enfermedad cardiovascular, 502, 509, 513
- Fibronectina, 202, 635, 659
 fetal (fFN), 202, 659
- Fibrosis quística (FQ), 540, 669
 prueba de sudor para, 544, 563-564, 669
- Filtración
 agua, 5-6
 técnica de separación, 18
- Filtrado sin proteínas, 220
- Filtros
 agua, 5-6
 aire particulado de alta eficiencia, 37
 alta eficiencia para aire particulado (AEAP), 37
 aseguramiento de la calidad del espectrofotómetro, 96
 fluorómetros, 99
 HEPA, 37
 monocromadores, 94
 separación, 18
- FiO_2 (fracción de oxígeno inspirado), 351
- Flebotomía, 26-28, 657
- Florescencia
 cromatografía, 111
 fluorometría, 98-100
 inmunoensayos, 152, 157-158, 159
 inmunofluorescencia directa e indirecta, 159
 polarización, 99, 157-158, 560
- Flujo electroosmótico (FEO), 107, 211
- Fluoroinmunoensayo de lantánido mejorado por disociación (DELFA), 158
- Fluorometría, 98-100
 aminoácidos de cadena ramificada, 184-185
 espectrofotómetros, 93, 94, 97
 fenilalanina, 182
 fluorometría, 99
 instrumentación en, 99-100
 porfirinas, 383
 ventajas y desventajas de, 100
- Fluorómetros de filtro, 99
- Fluorómetros monocromadores, 99
- Fluoruro, 371-372
- FO_2Hb (oxihemoglobina fraccionaria), 352
- Folatos, 519c, 523-524
- Folículos
 ovarios, 392
 tiroides, 446
- Formas, para POCT, 174
- Fórmula de Planck, 91
- Fosfatasa alcalina (ALP), 252-253
 enfermedad hepática, 484
 ensayos quimioluminiscentes, 153
 intervalos de referencia de, 57, 253
 isoenzimas, 252-253
- Fosfatasa de ácido (ACP), 253-255
 estudio para, 254
 fuentes de error, 255
 fuentes de tejido de, 254
 intervalo de referencia para, 255
 significado del diagnóstico de, 254
- Fosfatasa alcalinas carcinoplacentarias, 253
- Fosfatidilcolina (PC), 558
- Fosfatidilglicerol (PG), 558
- Fosfato, 334-336
 ácido, 523
 balance acidobase, 523
 determinación de, 336
 distribución de, 335
 funciones del, 334-335
 hiperfosfatemia, 336
 hipofosfatemia, 335-336, 637, 638c
 nutrición parenteral total, 637
 reabsorción en los túbulos renales, 339, 523
 regulación del, 335, 523
 valores de referencia del, 336c
- Fosfenitofna, 581
- Fosfolípidos
 análisis de, 303
 líquido amniótico, 557-559
 propiedades químicas de los, 284-285
- Fotoceldas, 94-95
- Fotodetectores, 94-96
- Fotodiodos, 95
- Fotometría (Véase también Espectrofotometría)
 análisis automático, 136-138
 flama, 98
 fluorometría, 98-100
 láser en, 101
 turbidez y nefelometría, 100, 101
 quimioluminiscencia, 100
- Fotosensibilidad, 379, 380, 381
- Fototubos, 95
 multiplicadores, 95
- FPIA (inmunoensayo de polarización de fluorescencia), 157-158
- Fracción de oxígeno inspirado (FiO_2), 351
- Fraccionamiento de proteínas, 205-207
 determinación de globulinas totales, 207
 electroforesis, 207-211
 capilar, 210-211
 enfoque isoelectrico, 211
 proteína sérica, 207-208, 209, 210
 proteínas de alta resolución, 210
 enlace de colorante, 206-207
 fraccionamiento de sales, 206
- Fracturas
 fragilidad, 471
 osteomalacia, 469-470
 osteoporosis, 470, 471, 647
 raquitismo, 469-470
- Frecuencia respiratoria (FR), 618
- FSH (Véase Hormona estimuladora de folículos)
- Fuerza centrífuga relativa (FCR), 18
- Fumar
 cardiopatías, 502, 511
 efecto en los analitos, 29, 30c
- Función cardíaca (Véase Cardiopatía)
- Función de la hipófisis, 400-409
 características anatómicas, 400, 401
 embriología y, 400
 función hipotalámica-hipofisaria, 400-402
 hipófisis anterior en, 400, 401, 402-408
 hipófisis posterior en, 400, 401, 408-409
 hipogonadismo, 441
 hipopituitarismo, 407-408
 hormona del crecimiento, 402-405
 hormonas hipofisiotrópicas o hipotalámicas, 402
 oxitocina en, 400, 409
 prolactina en, 405, 407
 vasopresina en, 400, 409
- Función endocrina (Véase también Hormonas)
 ancianos, 645-647
 glándula paratiroides, 458-461
 glándula suprarrenal, 413-429
 glándula tiroides, 446-454
 hipófisis, 400-409
 hipotálamo en, 400-402, 664-665
 pacientes pediátricos, 664-666
 páncreas, 539-540
 sistemas reproductivos, 432-442
- Función gastrointestinal, 547-551
 absorción de calcio, 459-460, 461
 absorción de fármacos, 571-572
 intestinos en, 549-551
 secreción gástrica, 547-549
 trastornos de, 463, 468
- Función gonadal, 432-442
 ovarios, 432-436
 anatomía de, 432
 ciclo menstrual en, 432-433, 434
 desarrollo puberal femenino, 434
 hipogonadismo hipogonadotrópico, 434-435
 hirsutismo, 432, 435-436
 ovulación, 433
 producción hormonal, 432
 terapia de reemplazo de estrógeno, 436, 511
- testículos, 436-442
 anatomía de, 436-437
 fisiología de, 437-438
 hipofunción de, 438-441
 hipogonadismo, 438, 441
 terapia de reemplazo de testosterona, 441-442
 trastornos del desarrollo sexual, 438
- Función hepática
 ácidos biliares séricos, 484
 actividad de síntesis, 479-480
 almacenamiento de vitaminas, 479
 ALT, 251, 484
 anatomía en, 476-477
 bilirrubina, 481-483
 cáncer, 608

Función hepática, (cont.)

- capacidad de síntesis hepática, 485
- cirrosis, 480
- concentraciones de amoníaco, 231
- desintoxicación y fármacos, 480, 572
- edad avanzada, 649
- enfermedades, 480-481
- enzimas, 484-485
- excreción y secreción, 477-479
- hepatitis, 486-491
- ictericia, 478-479, 480
- metabolismo del nitrógeno, 485-486
- pacientes pediátricos, 656, 661-663
- rastreo electroforético en, 209, 210
- relacionadas con fármacos y alcohol, 481
- síndrome de Reye, 481
- tumores, 480-481
- urobilinógeno, 483-484
- valoración de la, 481-491

Función pancreática, 538-545

- anatomía y, 538, 539
- edad avanzada, 647
- enfermedades, 540-541
- fisiología de la, 538-540
- pruebas de la, 541-545
 - absorción de D-xilosa, 545
 - electrolitos en el sudor, 544
 - enzimas, 544-545
 - grasa en las heces, 543-544
 - radiográficas, 545
 - secretina/CCK, 542
 - tolerancia a los almidones, 545

Función pulmonar (Véase Pulmones)

Función renal, 518-536

- análisis de, 524-529
 - análisis de orina, 526-529
 - cistatina C, 526
 - electroforesis de orina, 525
 - mediciones de aclaramiento, 524-525
 - microalbúmina, 213, 279, 525-526
 - mioglobina, 525
 - balance acidobase, 345, 346, 347, 348, 523
 - balance hídrico, 522
 - características anatómicas en, 518, 519
 - creatinina, 223-224, 521
 - edad avanzada, 648-649
 - eliminación de fármacos, 572
 - eliminación de nitrógeno no proteico), 220-221, 521-522
 - equilibrio electrolítico, 322, 339-340, 522-523
 - filtración glomerular en, 339, 519
 - fisiología y, 519-524
 - función endocrina, 523-524
 - función tubular en la, 339-340, 519-521
 - funciones, 339, 518
 - hormona paratiroidea, 462
 - metabolismo de la vitamina D, 461-462, 524
 - metabolismo del calcio, 461-462
 - pacientes pediátricos, 656, 660, 663
 - regulación del magnesio, 327, 523
 - trasplante y, 535-536
 - trastornos de la, 529-537
 - ácido úrico, 228
 - afecciones tubulares, 530
 - cálculos, 531
 - enfermedades glomerulares, 212-213, 529-530
 - hipercalcemia, 463
 - hipocalcemia, 333, 463
 - infecciones de las vías urinarias, 531
 - insuficiencia renal, 531-536
 - obstrucciones, 531
- Función suprarrenal, 413-429
- catecolaminas en, 424-426, 428, 429
 - causas de hiperactividad simpática, 426
 - corteza suprarrenal en, 414-424
 - esteroidogénesis de la corteza, 414-415
 - exceso de andrógeno, 423-424
 - hiperplasia suprarrenal congénita, 415-418, 666
 - insuficiencia suprarrenal, 418-419
 - médula suprarrenal en, 424-426, 428-429
- Funciones de potencias, 73, 74, 76

G

- G-6-PD (deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato), 258-259, 274
- Gabinets, seguridad, 36, 38c
- Galactorrea, 407
 - idiopática, 407
- Galactosemia, 274, 661-662
- Gases
 - comprimidos, 36, 43-44
 - presión parcial de, 350, 351
- Gases sanguíneos, 344-361
 - aseguramiento de la calidad en, 358-361
 - equilibrio acidobase, 344-349
 - intercambio de oxígeno y gas en, 349-353
 - intervalos de referencia de, 348c
 - medición de
 - analizadores en, 354
 - calibración en, 357-358
 - corrección de temperatura en, 358
 - espectrofotométrica, 353-354
 - parámetros calculados, 358
 - pH y pCO₂, 356
 - PO₂, 354-355
 - sensores electroquímicos en, 356-357
 - sensores ópticos en, 357
 - muestra para, 27
 - pacientes pediátricos, 659
 - prueba del punto de atención para, 175
- Gastrina, 548, 549
 - plasmática, 549
- Gastrinomas, 540
- Gel
 - almidón, 106
 - electroforesis, 106, 208, 300
 - poliacrilamida, 106, 300
 - precipitación inmunitario, 147-150
- Gel de azarosa
 - electroforesis, 106, 208, 300
 - precipitación inmunitaria, 147-150
- GeneChips, 164
- Género, en la aterosclerosis, 501
- Genes, susceptibilidad, 608
- Genómica, 115
- Geriatría, definición, 643
- Gerontología, 643
- GH (Véase Hormona del crecimiento)
- GH-RH (hormona liberadora de hormona del crecimiento), 403, 665
- Ginecomastia, 438
- Glándula tiroidea, 446-454
 - anatomía y desarrollo de la, 446-448
 - control de la función de la tiroides, 448
 - evaluación de, 448-450
 - anticuerpos, 449
 - aspiración con aguja fina, 450
 - autoinmunidad de la tiroides, 449
 - captación de yodo radiactivo, 449-450
 - T₄ y T₃, 449
 - tiroglobulina, 446, 449
 - tirotropina, 448-449
 - ultrasonido, 450
 - hormonas de la, 331, 446-448
 - trastornos de la, 450-454
 - adenomas tóxicos, 453
 - bocio multinodular, 453
 - edad avanzada, 647
 - enfermedad de Graves, 451-453
 - enfermedad de la tiroides inducida por la amiodarona, 453-454
 - enfermedad no tiroidea, 454
 - hipotiroidismo, 446, 450-451
 - nódulos de la tiroides, 454
 - tiroditis subaguda, 450, 454
 - tirotoxicosis, 448, 451, 452c
- Glándulas paratiroides, 446, 460
 - hiperparatiroidismo, 463-464, 466, 467,
- Globulinas, 194-199
 - antiquimotripsina α_1 , 195-196
 - antitripsina α_1 , 194-195
 - ceruloplasmina, 196

- complemento, 198
- enfermedad hepática, 485
- fetoproteína α_1 , 195, 555, 608, 612
- fibrinógeno, 190, 198, 509, 513
- Gc, 196
- glucoproteína de ácido α_1 , 195
- haptoglobina, 196
- hemopexina, 197
- inhibidor de inter- α -tripsina, 196
- inmunoglobulinas, 198-199
- lipoproteínas, 197
- macroglobulina α_2 , 196-197
- microglobulina β_2 , 197-198, 525, 612
- proteína reactiva C, 190c, 198, 636, 667
- total, 207
- transferrina, 197, 634
 - unión con la tiroxina (TBG), 151, 447-448, 664
- Glóbulos blancos en la orina, 528
- Glóbulos rojos (Véase Eritrocitos)
- Glomérulo
 - anatomía de, 518, 519
 - electrolitos y, 339
 - enfermedades de, 212-213, 529-530
 - función de, 519
- Glomerulonefritis, 529-530
- Glucagon, 267, 268c, 271
- Glucocorticoides, 267, 469
- Glucogénesis, 266-267
- Glucógeno, 265
- Glucogenólisis, 267
- Glucólisis, 265-266, 267c
- Gluconeogénesis, 265, 267c, 336, 662
- Glucoproteína de ácido α , (orosomucoide), 190c, 195
- Glucoproteínas, 192, 193
- Glucosa
 - automonitoreo, 276
 - ayuno, 269, 272c
 - ayuno deteriorada, 269, 2721
 - estructura de, 263, 264
 - hiperglucemia, 268-273
 - hipoglucemia, 273-274
 - histograma de frecuencia de, 52
 - líquido cefalorraquídeo, 561-562
 - mediciones de, 275-276
 - metabolismo de, 265-268, 337, 661-662
 - plasmática de ayuno, 269, 272s
 - pruebas en el lugar de atención, 119, 175
 - pruebas posprandiales de 2 h, 276-277
 - tolerancia de
 - ancianos, 647-648
 - categorías de, 272c
 - deteriorada, 269
 - orina, 271, 527, 637
 - pruebas para, 272, 277
- Glucósidos cardíacos, 512, 513, 577-578
- Glucosuria, 271, 527, 637
- Glutamina, 486, 561
- γ -Glutamyltransferasa (GGT), 255-256
 - gráfica de probabilidad para, 60
 - histograma de frecuencia para, 59
 - trastornos del hígado, 485
- GnRH (hormona liberadora de gonadotropina), 401, 433, 437, 666
- Gonadotropina coriónica humana (hCG), 613
- GOT (Véase Aminotransferasa de aspartato)
- Gota, 228
- GPBB (isoenzima de fosforilasa de glucógeno BB), 510, 513c
- GPT (Véase Aminotransferasa de alanina)
- Gradiente de albúmina en ascitis, 566
- Gráfica de diferencia 53
- Gráficas de control, 72, 77, 78c
- Gráficas de Lineweaver-Burk, 240, 241
- Gráficas de probabilidad, 55, 56, 59, 60
- Grasa (Véase también Lípidos)
 - absorción deficiente, 541
 - composición del cuerpo, 633
 - fecal, 543-544, 551
 - síntesis en el hígado, 479
- Grupos prostéticos, 237, 241
- Guantes, 37

- H**
- Haptenos (Hp), 146-147
- Haptoglobina, 190c, 196
- HBV (virus de la hepatitis B), 486-488, 489
- hCG (gonadotropina coriónica humana), 613
- HDL (Véase Lipoproteínas de alta densidad)
- Hece
- enzimas proteolíticas en, 545
 - grasa en, 543-544, 551
 - urobilinógeno en, 484
- Hélices anfipáticas, 285-286
- Hematología, PLDA para, 176
- Heme
- catabolismo de, 477-478
 - hemoglobina, 383, 384
 - síntesis de, 378, 379
- Hemocromatosis, 368
- Hemodialisis, 534
- Hemofiltración, 535
- Hemoglobina, 383-393
- A_{1c}, 60, 277-278
 - A₂, 384, 392
 - análisis de, 390-393
 - anormal, 391-392
 - Bart, 389
 - capacidad de oxígeno (enlace), 352
 - correlaciones de enfermedad con, 385-387, 389-390
 - curva de absorbancia de, 354
 - degradación de, 384-385, 386
 - disociación a partir de oxígeno, 353
 - electroforesis de, 392
 - estructura de, 383-384
 - función en el cuerpo, 383
 - glucosilada (HbA_{1c}), 60, 277-278
 - glucosilada, 60, 277-278
 - hierro, 367
 - líquido cefalorraquídeo, 561
 - orina, 528
 - síntesis de, 384-385
 - sistema de amortiguación de bicarbonato, 345
 - transporte de oxígeno, 351-352
- Hemoglobina fetal, 384
- cuantificación de, 392-393
 - persistencia hereditaria de, 390
 - tinción de elución ácida para, 392
- Hemoglobinopatías
- definición, 378, 384
 - diagnóstico de, 390-393
 - hemoglobina
 - C, 387
 - D, 387
 - E, 387
 - S, 385-387, 391-392
 - SC, 387
- Hemolisis
- ensayos enzimáticos, 248, 250, 253, 255
 - procesamiento de muestras, 27, 29
- Hemopexina, 190, 197
- Hemosiderosis, 368
- Heparina, 360
- Hepatitis, 486-491
- A, 486
 - B, 486-488, 489, 491
 - BcAg (HBcAg), 488, 489
 - BeAg (HBeAg), 488, 489
 - BsAg (HBsAg), 487-488, 489
 - C, 488-489, 491
 - crónica, 490-491
 - delta, 489-490
 - E, 490
 - exploración electroforética en, 210
 - incubación corta, 486
 - incubación prolongada, 486-488, 489
 - infecciosa, 486
 - sérica, 486-488, 489
- Hepatoma, 480-481
- H-FABP (proteína cardiaca de unión a ácidos grasos), 510, 513c
- Hibridación *in situ*, 164
- Hidratos, 15
- Hidrolasas, 237, 238, 253
- Hidrólisis, 264
- Hidropesía fetal, 389
- 1,7-Hidroxycorticosteroide (17-OHCS), 420
- 18-Hidroxycorticosterona, 417
- 21-Hidroxilasa, deficiencia, 665
- Hierro, 366-369
- absorción de, 366, 367
 - capacidad de enlace de hierro total, 369
 - contenido de hierro total, 368-369
 - daño tisular, 368
 - deficiencia de, 365c, 367-368
 - distribución de, 366
 - evaluación de laboratorio de, 368
 - excreción de, 366
 - ferritina, 369
 - funciones bioquímicas de, 365c, 367
 - intervalos de referencia de, 365c, 368c
 - marcadores de laboratorio en estados de enfermedad, 367c
 - por ciento de saturación, 369
 - requerimientos dietéticos de, 366
 - sérico, 367c, 368-369
 - sobrecarga de, 3651, 368
 - transferrina, 197, 369
 - transporte de, 366, 367
- Hiperactividad del simpático, 426
- Hiperaldosteronismo, 416, 417
- idiopático (HAI), 417
- Hiperbilirrubinemia, 480
- Hipercalcemia, 333-334, 462-465
- causas de, 3321, 463-465
 - hiperparatiroidismo, 333, 462
 - hipocalciúrica benigna familiar (HHBF), 461, 464
 - humoral de malignidad, 465
 - pacientes pediátricos, 663-664
 - signos y síntomas de, 334, 463
 - tratamiento de, 334
- Hipercalcúria, 462
- Hipercarbia, 346, 349
- Hipercarotenemia, 480
- Hipercloremia, 325, 637, 638
- Hipercolesterolemia, 289, 294, 295
- familiar (HF), 294, 295
- Hipercortisolismo, 419-423
- Hiperfenilalaninemia, 182-183
- Hiperfosfatemia, 336
- Hiper glucemia, 268-273 (Véase también Diabetes mellitus)
- hallazgos de laboratorio en, 269
 - pacientes pediátricos, 662
- Hiperlipidemia combinada, 295
- Hiperlipidemias, 502
- Hiperlipoproteinemia, 294-295, 296
- Hiperlipoproteinemia combinada, 296
- familiar (HCF), 296
- Hipermagnesemia, 329-330
- Hipernatremia, 320
- manifestaciones y causa de, 319c, 381
 - pacientes pediátricos, 660
- Hiperosmolalidad, 322
- Hiperparatiroidismo
- familiar, 464
 - hipercalcemia, 333, 463-464
 - osteomalacia, 469-470
 - primaria 463-464, 466, 467
 - raquitismo, 469-470
 - secundaria, 466, 467c
 - terciaria, 467-468
 - vitamina D, 622
- Hiperplasia, 605
- Hiperpotasemia, 323-324
- nutrición parenteral total, 638c
 - pacientes pediátricos, 660, 661c
- Hiperprolactinemia, 406-407, 440
- Hiperproteinemia, 202
- Hipertensión (HT)
- aldosterona, 416, 429
 - ancianos, 647
 - cardiopatía, 502, 503-504, 511
 - definición, 503
 - esencial, 511
 - feocromocitomas, 426
 - hipercalcemia, 463
 - maligna, 504
 - portal, 480
 - primaria, 504
 - renal, 504, 534
 - secundaria, 504
 - subclínico, 449
- Hipertiroidismo, 449, 451, 647
- Hipertigliceridemia, 295-296
- Hipertrofia septal asimétrica, 501
- Hiperuricemia, 228-229
- Hiperventilación, 349
- Hipervitaminosis, 464, 620
- Hipnóticos sedantes, 601
- Hipoalbuminemia, 333
- Hipoaldosteronismo, aislado, 416
- Hipoalfalipoproteinemia, 296, 298
- Hipobetalipoproteinemia, 296
- Hipocalcemia, 332-333, 465-468
- causas de, 332-333, 466-468
 - hipomagnesemia, 332-333
 - neonatos, 333
 - nutrición parenteral total, 638c
 - pacientes en cirugía y cuidado intensivo, 333
 - pacientes pediátricos, 663-664
 - signos y síntomas de, 333, 466
 - tratamiento de, 333
- Hipocloremia, 325
- Hipocortisolismo (Véase Insuficiencia suprarrenal)
- Hipofisis, 400
- Hipofosfatemia, 335-336, 637, 638
- Hipogammaglobulinemia, 668
- Hipoglucemia, 273-274, 662
- fisiológica, 662
- Hipoglucoorraquia, 562
- Hipogonadismo
- diagnóstico de, 441
 - hipergonadotrópico, 438-440
 - hipertalámico, 434
 - hipotalámico, 434
 - mujeres, 434-435
 - varones, 438, 440-441
- Hipolipoproteinemia, 296, 298
- Hipomagnesemia, 327-329
- causas de, 327-328
 - hipocalcemia, 332-333, 663-664
 - nutrición parenteral total, 638
 - pacientes pediátricos, 664
 - síntomas de, 328-329
 - tratamiento de, 329
- Hiponatremia, 318-320
- causas de, 318-319
 - clasificación de, 319
 - nutrición parenteral total, 381
 - pacientes pediátricos, 660
 - pseudohiponatremia, 319
 - síntomas de, 319
 - tratamiento de, 319-320
- Hipoparatiroidismo, 332, 460-461, 467
- autoinmunitario, 467
 - hipoparatiroidismo, 332, 460-461, 467
 - primario, 332
- Hipopituitarismo, 407-408
- Hipopotasemia, 322-323
- hiperaldosteronismo, 416, 417
 - nutrición parenteral total, 637, 638c
 - pacientes pediátricos, 660, 661
- Hipoproteinemia, 202
- Hipotalamo
- anatomía, 400, 401
 - función de la hipófisis, 400-402
 - hormonas de, 402
- Hipotiroidismo, 450-451
- ancianos, 647
 - causas de, 451
 - congénito, 446, 664-665
 - deficiencia de yodo, 446

- Hipotiroidismo, (*cont.*)
 pacientes pediátricos, 664-665
 primario, 664-665
 secundario, 664-665
 síntomas, 450
 subclínico, 449
 tratamiento de, 451
- Hipouricemia, 229
- Hipoventilación, 349
- Hipovitaminosis, 467, 619
- Hipovolemia, 317
- Hipoxemia, 349
- Hipoxia, 336, 337
- Hirsutismo, 432, 435-436
- Histogramas
 frecuencia, 49, 50, 52, 59, 60, 62
 frecuencia acumulada, 50-51, 59
- Hitachi, analizadores
 estaciones de lavado en, 134
 fotómetro en, 136
 historia de, 125
 mezclado en, 135
 sondas de muestra en, 131, 132
 soportes para muestras en, 129
- HIV (virus de inmunodeficiencia humana), 159
- Hojas de información sobre la seguridad del material (HISM), 5, 39-40
- Holoenzimas, 237
- Homeostasis
 calcio, 331, 332, 458-469, 523
 envejecimiento, 646
 pH, 344
- Homocisteína, 185-186, 510, 513
- Homocistinuria, 185-186, 529
- estimulante de la tiroides (TSH) (*Véase* Tirotropina)
- hipofisiotrópicas, 402
- Hormona(s)
 ancianos, 645-647
 factores de crecimiento, 402-405, 665-666
 función renal, 523-524
 función testicular, 437
 función tiroidea, 446-448
 glándulas suprarrenales, 414-429
 hipófisis, 400-409
 hipomagnesemia, 328
 hipotálamo, 402
 inhibidora de la hormona del crecimiento (GH-IH), 665
 islotes de Langerhans, 539
 liberadora de gonadotropina (GnRH), 401, 433, 437, 666
 liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH), 403, 665
 liberadora de tirotropina (TRH), 401, 448, 664
 luteinizante (LH), 401, 433, 437, 666
 metabolismo del calcio, 331, 458-461
 ovulación, 433
 pacientes pediátricos, 664-666
 paratiroides, 460-461
 producidas por los ovarios, 432
 regulación de la glucosa, 267-268
 trópicas, 402, 403c
- Hormona adrenocorticotrópica (ACTH)
 biosíntesis de la hormona esteroidea, 414-415
 cortisol, 418, 421-422, 665
 regulación de la glucosa, 267
 ritmos diurnos, 402
 y vasopresina, 402
- Hormona antidiurética (ADH)
 deficiencia de, 409
 función de la hipófisis, 400, 408, 409
 función renal, 520, 521
 mecanismo de la sed, 409, 522
 osmolalidad, 315-316, 409
 producción de, 400, 409
 secreción de ACTH, 418
- Hormona de la tiroides
 acciones de la, 448
 proteína de unión con, 447-448
 síntesis de la, 446-447
- Hormona del crecimiento (GH), 402-405
 acciones de, 403-404
 deficiencia de, 405, 665-666
 exceso de (acromegalia), 404-405, 526
 modificadores de secreción de, 403
 prueba para, 404
 regulación de glucosa, 267
 secreción de, 665
- Hormona estimuladora de folículos (FSH)
 control de testosterona, 437
 ovulación, 433
 pacientes pediátricos, 666
 secreción de, 401
- Hormona liberadora de corticotropina (CRH)
 prueba de estimulación de CRH, 421-422
 secreción, 414, 415
 secreción de ACTH, 418, 665
- Hormona paratiroidea (PTH)
 crecimiento óseo, 663
 equilibrio electrolítico, 523
 hipercalcemia, 463-465
 hipocalcemia, 466-467
 recombinante humana, 469
 regulación del calcio, 331, 332, 333-334, 460-461, 523
 regulación del magnesio, 327, 523
- Hs-CRP, 508, 513c
- Hueso
 cortical, 462
 metabolismo del calcio, 462, 663
 pacientes pediátricos, 663
 trabecular, 462
 vitamina D, 460, 663
- I**
- ICON (Ensayo de inmunocentración), 158
- Ictericia, 29, 478, 480
 hepática, 478
 pediátrica, 480, 482, 661
 posterior a hepatitis, 478-479
 tipos y causas de, 478-479, 480
- IDCG (inmunodeficiencia combinada grave), 668
- IDE (índices de desviación estándar), 81
- Identificación
 muestras, 127, 139
 pacientes, 27
- Idiotipos, 199
- IDR (inmunodifusión radial), 149
- IECP (inmunoensayo enzimático de captura de micropartículas, 157
- IEE (índice de estabilidad de espuma), 558
- IEO (inmunoensayo óptico)
- IF (inmunoensayo fluorescente), 151c, 152
- IFCP (Inmunoensayo por fluorescencia para concentración de partículas, 157
- IFD (inmunofluorescencia directa), 159
- IFI (inmunofluorescencia indirecta), 159
- IFNS (inmunoensayo por fluorescencia en el nivel del sustrato), 157
- IFSF (Inmunoensayo de fase sólida por fluorescencia), 157
- IgA
 características, 1901, 199, 668c
 pacientes pediátricos, 668
 trastornos hepáticos, 486
- IgD, 190c, 199, 668c
- IgE, 190c, 199, 668
- IGF (factor de crecimiento insulínico), 403-404, 635, 665, 666
- IgG
 características de, 190, 198, 199, 668
 líquido cefalorraquídeo, 214-215, 562-563
 pacientes pediátricos, 668
 subclases, 668
 trastornos hepáticos, 486
- IgM
 características de, 190, 198-199, 668
 pacientes pediátricos, 668
 trastornos hepáticos, 486
- IITMP (Inmunoensayo de inhibición turbidimétrico mejorado por partículas, 156
- IMA (*Véase* Infarto del miocardio)
- Imágenes suprarrenales, 417-418
- Immunodeficiencias, 668
- Imprecisión, 64-65
- Incidentaloma, 427, 429
- Incubación, 135
- Índice
 altura, 632
 cintura-cadera, 648
 estabilidad de espuma (IEE), 558
 icterico, 482
 IgG-albúmina, 215, 562
 L/S, 558, 559-560, 659
 lecitinas/esfingomielinas (L/S), 558, 559-560, 659
 masa corporal (IMC), 618
 nitrógeno de la urea/creatinina, 221
 nutricional inflamatorio pronóstico, 633
 PA:PRA, 417
- Inexactitud, 64, 65-66
- Infantes (*Véase* Pacientes pediátricos)
- Infarto del miocardio (IMC), 503
 aminotransferasa de aspartato, 250
 cadenas ligeras de miosina, 507
 cardiopatía coronaria, 503
 cinasa de creatina, 244, 246, 506
 deshidrogenasa de lactato, 248, 249, 505-506
 diagnóstico de, 505-511
 marcadores de insuficiencia cardíaca congestiva en, 509
 mioglobina, 199-200, 394, 506-507
 proteínas en la fase aguda, 507-508
 troponinas, 201-202, 246, 507
- Infecciones
 testículos, 440
 tracto urinario, 531
- Infecciones/obstrucciones de las vías urinarias, 531
- Infertilidad, 434, 436c
- Inflamación
 marcadores de, en IMA, 507-508
 reactivos de fase aguda, 208, 209, 210
- Información de los resultados, 175
- Información sobre el paciente, promedio de la, 79-80
- Infundíbulo, 400
 hipotálamo, 400
- Inhibición no competitiva, 241, 242
- Inhibidores
 competitivos, 241-242
 inter- α -tripsina (ITI), 190, 196
 no competitivos, 241, 242
 reacciones enzimáticas, 241-242
- Inhibina, 437
- Immunoblots, 158-159
- Imunocitoquímica, 159
- Inmunocromatografía enzimática, 158
- Inmunodeficiencia combinada grave (IDCG), 668
- Inmunodifusión radial, 149
- Inmunoelectroforesis (IEF) 149-150
- Inmunoensayo(s), 146-160
 análisis de digoxina, 578
 análisis de DNA por citometría de flujo, 160
 antígeno carcinoembrionario, 611
 CK-MB, 247
 consideraciones generales, 146-147, 151
 difusión doble, 148-149
 difusión simple, 149
 diseño de ensayo, 153-155
 donador de enzimas clonadas (CEDIA), 157
 ejemplos de, 156-158
 enzimas, 243
 enzimático (IME), 151, 152
 enzimático de captura de micropartículas (IECM), 157
 etiquetado, 151-160
 etiquetas para, 151-153
 fase sólida por fluorescencia (IFSF), 157
 fluorescencia (FIA), 151c, 152
 concentración de partículas (IFCP), 157
 nivel del sustrato (IFNS), 157

- heterogéneos, 155
 - homogéneos, 155
 - inhibición turbidimétrica mejorado por partículas (IITMP), 156
 - immunoblots, 158-159
 - immunocitoquímica, 159
 - immunofenotipo, 159-160
 - immunohistoquímica, 159
 - no competitivos, 154-155
 - óptico (IEO), 158
 - polarización por fluorescencia (FPIA), 157-158
 - precipitación inmunitaria en gel, 147-150
 - rápidos, 158
 - sin etiquetado, 147-151
 - técnicas de separación, 155-156
 - transferencia de excitación por fluorescencia (FETI), 157
 - turbidimetría y nefelometría, 150-151
 - Inmunoensayos marcados, 151-153
 - análisis de DNA mediante citometría de flujo, 160
 - consideraciones generales de los, 151
 - diseño del estudio, 153-155
 - ejemplos de, 156-158
 - immunoblot, 158-159
 - immunocitoquímica, 159
 - inmunoensayo rápido, 158
 - immunofenotipos, 159-160
 - immunohistoquímica, 159
 - técnicas de separación en, 155-156
 - Inmunofenotipo, 159-160
 - Inmunofluorescencia directa (IFD), 159
 - Inmunofluorescencia indirecta (IIF), 159
 - Inmunogenidad de proteínas, 189, 191
 - Inmunógeno, 146
 - Inmunoglobulinas (Ig)
 - características de, 190c, 198-199
 - líquido cefalorraquídeo, 214-215, 562-563
 - monoclonales, 199, 208, 209
 - pacientes pediátricos, 667-668
 - sistema inmunitario, 667, 668c
 - trastornos del hígado, 485
 - Immunohistoquímica, 159
 - Inmunoinhibición, 247
 - Instrumentación
 - control de calidad de, 70
 - cromatografía, 108-115
 - electroforesis, 105-107
 - electroquímica, 101-105
 - espectrofotometría y fotometría, 91-101
 - osmometría, 117-119
 - pruebas en el lugar de atención, 119-120
 - quimioluminiscencia, 100
 - Insuficiencia cardíaca congestiva, 500-501, 502, 509
 - ancianos, 650
 - coronaria 501-503
 - ancianos, 650
 - factores de riesgo para, 291c, 501-502
 - insuficiencia cardíaca en, 500-501
 - lípidos y lipoproteínas en, 283, 295, 296, 298, 502
 - presentación de, 502
 - diagnóstico de, 505-511
 - dieta, 291, 292c, 511
 - hipertensiva, 503-504, 511
 - hipocalcemia, 466
 - inefectiva, 504-505
 - infartos de miocardio, 503
 - aminotransferasa de aspartato, 250
 - cinasa de creatina, 244, 246
 - deshidrogenasa de lactato, 248, 249, 505-506
 - mioglobina, 199-200, 394, 506-507
 - tropomina, 201-202, 246, 507
 - insuficiencia cardíaca congestiva, 500-501, 502, 509
 - monitoreo, 511
 - reumática, 504
 - síntomas de, 497-498
 - tratamiento quirúrgico de, 514
 - tratamientos con fármacos de la, 511-513
 - Insuficiencia primaria del ovario, 434
 - Insuficiencia renal, 531-536
 - aguda, 531-532, 534-535
 - crónica, 532, 533, 533
 - diabetes mellitus, 532-534
 - hipertensión, 534
 - metabolismo del calcio, 465, 468
 - terminal, 532, 535-536
 - tratamiento de, 534-536
 - uremia, 220
 - Insuficiencia suprarrenal, 418-419
 - Insulina
 - descripción, 267
 - diabetes mellitus, 271, 662
 - hipocalcemia, 323
 - metabolismo de carbohidratos, 267, 268c
 - prueba para, 279
 - resistencia a, 647-648
 - Insulinoma, 273-274
 - Interacciones de matrices, 305
 - Interfase, 176
 - Interleucinas, 636
 - Intervalo
 - analítico, 64
 - dinámico, 64
 - lineal, 64
 - osmolal, 317, 591
 - terapéutico, 572
 - Intervalos de referencia
 - análisis estadístico de, 58-61
 - ácido ascórbico, 626
 - ácido úrico, 230
 - ácidos grasos, 627
 - aclaramiento de creatinina, 525
 - amilasa, 257
 - aminotransferasa aspártica, 251
 - aminotransferasa de alanina, 251
 - amoníaco, 232
 - bilirrubina, 483, 590
 - calcio, 334, 335c
 - cinasa de creatina, 248
 - cloruro, 326c
 - creatinina, 227
 - deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato, 259
 - deshidrogenasa de lactato, 250
 - dióxido de carbono, 327
 - fosfatasa ácida, 255
 - fosfatasa alcalina, 253
 - fosfato, 336c
 - gases de la sangre arterial, 348c
 - glutamyltransferasa gamma, 256
 - hierro, 368c
 - lactato, 338c
 - lipasa, 258
 - lípidos en las heces, 544
 - lípidos, 290c
 - magnesio, 330c
 - osmolalidad, 317c
 - potasio, 324c
 - proteínas plasmáticas, 190c
 - prueba de absorción de D-xilosa, 551c
 - pruebas en el lugar de atención, 174
 - sodio, 3221
 - urea, 223
 - urobilinógeno, 484
 - vitamina B₁₂, 625
 - definición de, 57-58
 - edad avanzada, 650-651
 - niños, 58
 - recolección de información para, 58
 - validación de, 61
 - Intervalos/valores normales (Véase Intervalos de referencia)
 - Intestinos, 549-551
 - absorción de calcio en, 459-460, 461
 - fisiología de, 549
 - pruebas de, 550-551
 - Investigaciones en casos de violación, 254
 - Inyectores de asa, 111
 - Inyectores para cromatografía, 110-111
 - Inyectores para muestras, 110-111
 - Ion hidrógeno (H⁺), 344-345 (Véase también pH)
 - Iontoforesis, 105, 544, 564
 - nitrito de pilocarpina, 544, 564, 669
 - ISE (Véase Electrodos selectivos de iones)
 - Islotes de Langerhans, 267, 268, 539
 - Isoenzimas
 - amilasa, 256-257
 - anhidrasa carbónica, 510, 513
 - cinasa de creatina, 245-246, 506, 507
 - definición, 237
 - deshidrogenasa de lactato, 248-250, 506
 - fosfatasa alcalina, 252-253
 - fosforilasa de glucógeno BB (GPBB), 510, 513
 - III de anhidrasa carbónica, 510, 513c
 - marcadores de tumores, 609-610
 - Nagao, 253
 - Regan, 253
 - Isoformas, 237
 - Isomerasas, 237
 - Isopropanol, 591
 - Istostenuria, 527
 - Isquemia, cardíaca, 501, 502-503, 650 (Véase también Cardiopatía)
 - ITEF (inmunoensayo de transferencia de excitación por fluorescencia), 157
 - ITI (inhibidor de inter- α -tripsina), 190c, 196
- ## J
- Jeringas, 15, 133, 360
 - Joint Commission on Accreditation of Health care Organizations (JCAHO), 35, 126, 169
- ## K
- K_a (constante de disociación), 8
 - Katal, 26
 - Kernicterus, 480
 - K_m (constante Michaelis-Menten), 239-240, 241
 - Kringles, 287
 - Kwashiorkor, 628, 630
- ## L
- Lactación, 328, 406, 407
 - Lactato, 336-338
 - determinación del, 336-338
 - líquido cefalorraquídeo, 562
 - manejo de las muestras, 336-337
 - propiedades bioquímicas y fisiológicas, 336, 337
 - regulación del, 336
 - usos clínicos del, 336
 - valores de referencia del, 338
 - Lámparas
 - cátodo hueco, 97
 - espectrofotómetros, 93-94, 96
 - espectrofotómetros de absorción atómica, 97
 - fluorómetros, 99
 - vapor de mercurio, 96
 - LCR (reacción en cadena de la ligasa), 163
 - LCR (Véase Líquido cefalorraquídeo)
 - LD (Véase Deshidrogenasa de lactato)
 - LDL (Véase Lipoproteínas de baja densidad)
 - Lesiones, 45-46
 - esfuerzo y desnutrición, 629-630
 - Leucemias, 159-160, 164
 - Leucocitos, en la orina, 528
 - Ley de Beer (Beer-Lambert), 25-26, 91-93
 - LH (Véase Hormona luteinizante)
 - Liasas, 237
 - Licencia para PLA, 169
 - Lidocaína, 578
 - Ligasas, 237
 - Límite de detección, 64
 - Linealidad, 96
 - Linfocitos, 160, 667
 - Linfocitos B, 667
 - Linfomas, 159-160, 164

- Lipasa (LPS), 257-258, 544-545
 lipoproteína (LPL), 288, 296
- Lípidos, 283-306
 absorción de, 288
 ácidos grasos, 283-284, 303
 análisis de, 298-306
 exactitud, 304-305
Cholesterol Reference Method Laboratory Network en, 305
 analizadores compactos, 303
 objetivos del funcionamiento, 292c, 305
 precisión en, 304
 control de calidad, 305
 recolección de muestras, 305-306
 estandarización, 304-306
- apolipoproteínas, 285-286, 303
 arteriosclerosis, 293-294, 650
 cardiopatía coronaria, 283, 295, 296, 298, 502
 colesterol, 284, 285, 298-299
 HDL, 300-302
 LDL, 302
 distribución de los, 290-291
 edad avanzada, 650
 enfermedades relacionadas con los, 293-296, 298
 fosfolípidos, 284-285, 303
 función hepática, 479
 heces, 543-544
 lipoproteínas, 285-287, 300-302
 metabolismo de los, 288-290, 479
 propiedades químicas de los, 283-285
 triglicéridos, 284, 299-300
 valores de referencia para, 290c
- Lipiduria, 530
- Lipólisis, 267
- Lipoprotein Measurement Working Group*, 291
- Lipoproteína (a) (Lp(a)), 287, 296
- Lipoproteínas de alta densidad (HDL)
 análisis de, 300-302
 características de, 286, 287
 cardiopatía y, 294
 electroforesis de proteínas séricas, 197
 función de, 283
 vía inversa de transporte de colesterol, 289-290
- Lipoproteínas de baja densidad (LDL)
 aféresis para extraer, 295
 análisis de, 302
 características de, 286, 287
 cardiopatía, 294
 electroforesis de proteínas séricas, 197
 función de, 283
- Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)
 características de las, 286c, 287
 electroforesis de, 197
 función de las, 283
- Lipoproteínas, 283-306 (*Véase también* Lípidos)
 alta densidad
 análisis de, 300-302
 características, 286, 287
 cardiopatía y, 294
 electroforesis de las proteínas séricas, 197
 función de, 283
 vía de transporte de colesterol inversa, 289-290
 análisis de, 298-306, 300-303
 analizadores compactos en, 303
 control de calidad en, 305
 Cholesterol Reference Method Laboratory Network en, 305
 exactitud en, 304-305
 normalización en, 304-306
 objetivos, 292c, 305
 precisión en, 304
 recolección de muestras, 305-306
 apolipoproteínas en, 285-286
 baja densidad
 aféresis para extraer, 295
 análisis de, 302
 características de, 286, 287
 cardiopatías, 294
 electroforesis en las proteínas séricas, 197
 función de las, 283
 características de las, 286c
- cardiopatía coronaria, 283, 295, 298, 502
 definición, 190c, 192, 197, 283
 distribución entre la población, 290-291
 estructura de, 285-287
 función de, 283
 hiperlipoproteinemia, 294-295
 hipolipoproteinemia, 296, 298
 lipoproteína (a), 287, 296
 muy baja densidad, 197, 283, 286c, 287
 propiedades fisiológicas y metabolismos de, 287-290
 quilomicrones, 286-287
 trastornos relacionados con, 293-296, 298
- Líquido(s), 555-566
 ascítico, 566
 células intersticiales, 315
 colección y procesamiento de, 28-29
 extracelular (LEC), 315
 extracelular intravascular, 315
 gástrico, 548-549
 intracelular (LIC), 315
 líquido cefalorraquídeo, 561-563
 pancreático, 539, 542
 paracentesis, 28, 29, 566
 pericárdico, 565
 peritoneal, 565-566
 pleural, 565
 sinovial, 564
 sudor, 544, 563-564
- Líquido amniótico (LA), 555-560
 análisis de
 defectos del tubo neural, 555
 edad gestacional, 557
 enfermedad hemolítica del recién nacido, 555-557
 enfermedades congénitas, 555
 madurez pulmonar fetal, 557-560
 colección de, 555
 procesamiento de, 28, 29
- Líquido cefalorraquídeo (LCR)
 análisis de, 561-563
 deshidrogenasa de lactato en, 561
 funciones de, 560-561
 glucosa en, 28-29, 561-562
 glutamina en, 486, 561
 procesamiento de, 28-29
 proteínas en, 28-29, 214-215, 562-563
 recolección de, 561
 sangre y hemoglobina en, 561
 volumen de, 561
- Líquidos serosos, 564-566
 líquido pericárdico, 565
 líquido peritoneal, 565-566
 líquido pleural, 565
- Litio, 465, 469, 581
- Lóbulo del hígado, 476-477
- Logaritmo inverso, 19-20
- Logaritmo negativo, 19-20
- Logaritmos, 19-20
- Longitud de onda, 91, 96
- Lp(a) (lipoproteína (a)), 287, 296
- LPL (lipoproteína lipasa), 288, 296
- LPS (lipasa), 257-258, 544-545
- Luminol, 152
- Luminómetros, 138
- Luteinización, 432
- Luz
 fuentes de, 93-94, 97
 medición en análisis automáticos, 136-137
 nefelometría, 100
 parásita, 96
 polarizada, 99, 157-158
 ultravioleta, 383
- Macronutrientes, 618
- Madurez sexual, 656, 666
- Magnesio, 327-330
 determinación de, 330
 fisiología del, 327
 hipermagnesemia, 329-330
 hipomagnesemia, 327-329
 hipopotasemia, 323
 nutrición parenteral total, 637
 reabsorción de los túbulos renales, 339, 523
 regulación del, 327, 523
 valores de referencia de, 330c
- Mamas
 cáncer de, 608, 613
 desarrollo de, 434
- Manejo de datos
 análisis automatizado, 138-139, 142
 automatización total de laboratorio, 142
 pruebas en el lugar de atención, 174, 176
- Manganeso, 365c, 372
- Mantenimiento preventivo, 70
- Mantisa, 16
- Mapecto del espectro, 142
- Marasmo, 628, 630
- Marbetes, código de barras, 127, 129, 130, 139
- Marcadores cardíacos, 505-510
 albúmina modificada por isquemia, 510, 513c
 características de, 505
 diagnóstico de cardiopatía, 497, 506
 enzimas, 505-506
 homocisteína, 185-186, 510, 513c
 importancia de, 513
 isoenzima BB de fosforilasa de glucógeno, 510, 513
 isoenzima III de anhidrasa carbónica, 510, 513
 marcadores de inflamación y coagulación como, 507-509, 513c
 péptido natriurético B, 509, 513c
 proteína cardíaca de enlace a ácidos grasos, 510, 513c
 proteínas, 506-507
 pruebas en el LDC para, 510-511
 troponinas, 200-201, 246, 507
- Marcadores luminescentes, 152-153
- Marcadores para inmunoensayos
 enzimas, 152
 fluorescentes, 152
 luminiscentes, 152-153
 radiactivos, 151-152
 resumen de, 151c
- Marcadores radiactivos, 151-152
- Marcadores tumorales, 608-614
 ácido homovanílico, 613-614
 ácido siálico asociado a lípidos en el plasma, 614
 microglobulina beta-2, 612
 antígeno carcinoembrionario, 613
 antígeno de cáncer 15-3, 613
 antígeno de cáncer 19-9, 613
 antígeno de cáncer 125, 612
 antígeno específico de la próstata, 608, 614
 antígeno vanililmandélico, 614
 antígenos del carcinoma de células escamosas, 614
 cáncer de la tiroides, 449
 cromogranina A, 426, 428, 613
 detección de cáncer, 608
 detección temprana, 609
 detectar recurrencia, 609
 determinar el pronóstico, 609
 efecto de gancho, 612
 enolasa específica de las neuronas, 614
 enzimas, proteína, hormonas, 609-610
 especificidad y sensibilidad de los, 605
 específicos de células, 611
 fetoproteína alfa, 608, 612
 genes de la susceptibilidad, 608
 gonadotropina coriónica humana, 613
 monoclonales definidos, 611
 no específicos, 611
 proteínas carcinoembrionarias, 610-611
 receptor de estrógeno, 613
 receptor de progesterona, 614
 recomendaciones al hacer los pedidos, 612

M

- Macroamilasemia, 256
- Macro-CK, 247
- Macroglobulina α -2, 190c, 196-197
- Macroglobulinemia de Waldenström, 199

- terapia dirigida, 609
 - vida media de los, 612
 - vigilar el tratamiento, 608-609
 - Marihuana, 600
 - Masa celular corporal, 633
 - Masa extracelular, 633
 - Masa magra del cuerpo, 633
 - Material de referencia certificado (CRC/MRE), 5
 - Material de vidrio, 9-15
 - buretas, 111
 - características de, 685c
 - categorías de, 9
 - jeringas, 15
 - limpieza, 10, 687c
 - pipetas, 10-15
 - recipientes de laboratorio, 10
 - riesgos de, 44
 - tolerancias de clase A, 11c
 - Materiales criogénicos, 44
 - Materiales de control, 70-71, 360
 - Materiales de referencia estándar (MRE), 5
 - Materiales de referencia, 5
 - Matraces, 10
 - Erlenmeyer, 10
 - volumétricos, 10, 11c
 - Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF)*, 116-117
 - Mecanismo catalítico de enzimas, 238-239
 - Media (estadística), 51, 52
 - Mediana, 51
 - Medicamentos
 - abuso, 598-601, 690c-691c
 - anfetaminas, 599-600
 - cannabinoides, 600
 - cocaína, 600-601
 - esteroides anabólicos, 600
 - fenciclidina, 601
 - hipnóticos sedantes, 601
 - opiáceos, 601
 - prevalencia de, 599c
 - arteriosclerosis, 294
 - causa de enfermedad tiroidea, 453-454
 - efecto en los analitos, 29, 31
 - enfermedad cardíaca, 511, 512-513
 - farmacocinética de, 688c-689c
 - fármacos antiinflamatorios no esteroideos, 416
 - hipercalcemia, 465
 - hiperpotasemia, 324
 - hipomagnesemia, 328
 - metabolismo, 480, 672
 - vitaminas, 627c
 - cáncer, 468-469
 - pediatría, 671-672
 - supresores de aldosterona, 416
 - toxicidad para el hígado, 481
 - Medición
 - análisis automático, 136-138
 - unidades de, 3, 41
 - Mediciones de eliminación, 224, 524-525
 - Medidas precautorias normales, 39
 - Medidor de sólidos totales, 527
 - Medidores de la lectura de salida, 103
 - Medidores de pH, 102-104
 - calibración de los, 103, 358
 - ecuación de Nernst, 103, 356
 - electrodo de combinación de los, 103-104
 - electrodo indicador en los, 102
 - electrodos de referencia en, 102
 - lectura de salida en, 103
 - unión líquida en, 102-103
 - Médula
 - renal, 518
 - suprarrenal, 424-426, 428-429
 - Mejoramiento de la calidad (MC), 174
 - Mejoramiento del desempeño (MD), 175
 - Menopausia, 434-435, 646
 - Mercurio, 40, 595-596
 - Metabolismo
 - aclaramiento de fármacos, 575
 - aminoácidos, 180, 181
 - bilirrubina, 478
 - carbohidratos, 265-268, 274, 661-662
 - energía del, 661-662
 - fármacos, 480, 672
 - glucosa, 265-268, 337, 661-662
 - lípidos, 287-290, 479
 - nitrogeno, 485-486
 - primer paso, 572
 - vitaminas, 626-627
 - Metabolitos en porfirias, 380c
 - Metaloenzimas, 365
 - Metaloproteínas, 192, 365
 - Metanefrinas, 425, 426
 - Metanol, 591
 - Metástasis, 605, 607
 - Metemoglobina (MetHb), 352, 353
 - Metiltransferasa de catecol (COMT), 425
 - Metirapona, 419
 - Método
 - anticuerpo doble, 156
 - bilirrubina de Jendrassik-Grof, 482-483
 - biuret, 205, 212
 - Caraway, 229
 - Fahey-McKelvey, 149
 - hexocinasa para glucosa, 275, 276
 - Kjeldahl, 204
 - Mancini, 149
 - punto final (Mancini), 149
 - tiempo fijo, 242
 - Métodos cinéticos
 - Fahey-McKelvey, 149
 - método de Jaffe, 225, 227
 - Métodos de amplificación de señales, 163-164
 - Métodos de referencia, 66
 - Metotrexato, 583
 - Mezcla en análisis automáticos, 134-135
 - Mezcladores rompedores, 134-135
 - Micción, 531
 - Micelas, 189, 288
 - Microalbúmina, 213, 279, 525-526
 - Microalbuminuria, 213, 279, 525-526, 534
 - Microamperímetro, 355
 - Microelectrodos, 357
 - Microglobulina β -2 (β_2 M)
 - características de la, 190c, 197-198
 - función renal, 525
 - marcador tumoral, 612
 - Micronutrientes, 618
 - Microorganismos patógenos
 - orina, 527, 528
 - prueba de inhibición de Guthrie, 182, 184, 185
 - seguridad biológica, 38-39
 - detección mediante sondas de ácidos nucleicos, 164
 - Micropipetas, 12, 13
 - Microsistemas, 164
 - Microvelosidades, 549
 - Mieloma múltiple, 464
 - Minerales y NPT, 637, 638c
 - Miocarditis, 504
 - Mioglobina
 - análisis de, 394
 - análisis renal, 525
 - estructura y función en el cuerpo, 393-394
 - importancia clínica de la, 394
 - marcador cardíaco, 199-200, 394, 506-507
 - Mixedema, 527
 - Moda, 51
 - Modificación de Benedict, 276
 - Molalidad, 7
 - Molaridad (M), 7, 21
 - Moléculas de adhesión, 607
 - Molibdeno, 365c, 372-373
 - Monitoreo de glucosa sanguínea, 119
 - Monocromadores
 - analizadores automatizados, 136
 - Monosacáridos, 264
 - Monóxido de carbono, 592-593
 - Movilidad, 105
 - MRC/MRE (material de referencia certificado), 5
 - MRE (material de referencia estándar), 5
 - Mucoproteínas, 192
 - Mucoviscidosis (Véase Fibrosis quística)
 - Muerte, causas de, 6461
 - Muestras
 - almacenamiento de las, 29, 70
 - aseguramiento de la calidad de la, 69-70
 - ayuno, 29
 - cadena de cuidado para, 31
 - capilares, 657
 - diagnóstico, 39
 - dimensiones de las, 132
 - evaporación de, 130, 657
 - identificación de, 127
 - preparación de, 127
 - procesos en la, 29, 140-141
 - pruebas en el lugar de atención, 173
 - recolección de, 26-27, 69
 - ácido úrico, 230
 - alcoholes, 591
 - amoníaco, 231-232
 - análisis de los gases de la sangre, 358-360
 - bicarbonato, 326
 - bilirrubina, 483
 - calcio, 334
 - cloruro, 325
 - creatinina, 227, 524
 - edad avanzada, 651
 - estudios de los intervalos de referencia, 58
 - fósforo, 336
 - líquido de la pleura, 565
 - potasio, 324
 - lactato, 336-337
 - lípidos y lipoproteínas, 305-306
 - líquido amniótico, 555
 - líquido sinovial, 564
 - magnesio, 330
 - oligoelementos, 366
 - orina, 28, 524, 526
 - pacientes pediátricos, 657
 - potasio, 320
 - sudor, 544, 564
 - urea, 222-223
 - vigilar los fármacos terapéuticos, 576-577
 - tipos de, 26-29
 - urobilinógeno, 484
 - variables de las, 29, 30c-31c, 31
 - Muestreo de venas suprarrenales, 418
 - Muestreo en tubo cerrado, 130
 - Músculos
 - cinasa de creatina en, 244, 245
 - pruebas funcionales, 633
- ## N
- NAD/NADH
 - metabolismo de la glucosa, 265-266
 - niacina, 623
 - reacciones enzimáticas, 242
 - Nanofiltración, 6
 - National Cholesterol Education Program (NCEP)*
 - factores de riesgo de cardiopatía, 291c
 - normas del tratamiento, 292c
 - normas en la dieta, 292c
 - objetivos, 292, 305
 - National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)*, 5
 - National Fire Protection Association (NFPA)*, 36
 - Nefelometría, 100, 101, 150-151
 - Neuronas
 - características anatómicas de las, 518, 519
 - características fisiológicas de, 519-524
 - Nefropatía diabética (ND), 648
 - Negativos falsos (NF), 62
 - Negativos verdaderos (NV), 62
 - Negociaciones de contrato, 173
 - Neonatos (Véase Pacientes pediátricos)
 - Neoplasia, 605
 - Neurohipófisis (hipófisis posterior), 400
 - Neutrófilos, 528
 - segmentados, 528

NFPA (*National Fire Protection Association*), 36
 Niacina, 619c, 623
 Nictalopia, 620
 Nicturia, 498
 Niños (*Véase* Pacientes pediátricos)
 Nitratos, 512
 Nitrito urinario, 527
 Nitrógeno
 balance del, 192, 635-636
 metabolismo pediátrico, 662-663
 no proteínico, 220-232
 ácido úrico, 227-230, 522
 amoníaco, 231-232
 creatina/creatinina, 223-227, 521
 eliminación del, 521-522
 urea, 220-223, 52c
 proteínas, 188
 total, 203-204
 urea, 220 (*Véase también* Urea)
 ureico sanguíneo (NUS), 220 (*Véase también* Urea)
 valoración hepática, 485-486
 Nitrógeno no proteínico, 220-232
 ácido úrico, 227-230, 522
 amoníaco, 231-232
 compuestos de importancia clínica, 220
 creatina/creatinina, 223-227, 521, 524
 eliminación de, 521-522
 urea, 220-223, 521
 Nivel mínimo del fármaco, 575
 NNP (*Véase* Nitrógeno no proteínico)
 Nódulos tiroideos, 454
 Nomenclatura de enzimas, 237-238
 Noradrenalina (NE), 424, 425
 Normalidad (N), 7, 21-22
 Normalización
 análisis de lípidos, 298, 304-306
 pruebas en el lugar de atención, 171-172
 Normas
 calibrar analizadores automatizados, 138-139
 electrodo del pH, 358
 laboratorio, 40
 Light, 565
 primarias, 5, 70
 secundarias, 5, 70
 Normas de ejecución
 análisis de lípidos, 292c, 305
 analitos comunes, 68c
Northern blot, 162
 NPT (*Véase* Nutrición parenteral total)
 NSE (enolasa específica de neuronas), 614
 Nucleoproteínas, 192
 5'-Nucleotidasa, 485
 NUS (nitrógeno ureico sanguíneo), 220 (*Véase también* Urea)
 Nutrición parenteral total (NPT), 636-638
 electrolitos en la, 637
 minerales en la, 637
 oligoelementos en la, 637-638
 pruebas en, 638
 pruebas en la orina, 637
 Nutrientes esenciales, 619

O

Obesidad, 648
 Objetivos de desempeño analítico, 305
 Obstrucción del tracto biliar, 252, 255
 Obstrucciones
 conducto biliar, 252, 255
 vías urinarias, 531
Occupational Safety and Health Act (OSHA), 5, 35, 45
 Oftalmopatía, 452
 25(OH)D₃ (25-hidroxicolecalciferol), 622
 Oligoelementos, 365-373
 cinc, 365c, 370-371
 cobalto, 365c, 371
 cobre, 365c, 369-370
 consideraciones generales de, 366
 cromo, 365c, 371

definición, 365
 esenciales, 365c
 fluoruro, 371-372
 funciones y anormalidades de los, 365c
 hierro, 365c, 366-369
 manganeso, 365c, 372
 molibdeno, 365c, 372-373
 nutrición parenteral total, 637-638
 selenio, 365c, 373
 ultraoligoelementos, 365
 valores de referencia, 365c
 Oligomenorrea, 434
 Oligosacáridos, 264
 Oliguria, 527
 Olor de la orina, 526
 Opiáceos, 601
 Oposonización, 198
 Organismos infecciosos
 detección mediante sondas de ácidos nucleicos, 164
 orina, 527, 528
 prueba de inhibición de Guthrie, 182, 184, 185
 Organofosfatos, 596
 Orina (*Véase también* Análisis de orina)
 alcaptonuria, 184
 análisis de aminoácidos en, 186
 aparición de la, 526
 bacterias en la, 527, 528, 531
 bilirrubina en la, 528
 calcio en la, 334
 células en la, 528
 cetonas en la, 278, 527
 cilindros en la, 528-529
 cistinuria, 186, 529
 cortisol en la, 420
 cristales en la, 529
 densidad relativa de la, 527
 electroforesis de, 525
 enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, 184-185
 fármacos en la, 598
 fenilcetonuria, 182-183
 glucosa en la, 271, 527, 637
 hemoglobina en la, 528
 homocistinuria, 185, 529
 lípidos en la, 530
 metanefrina en la, 426
 microalbúmina en la, 213, 279, 525-526, 534
 olor de la, 526
 osmolalidad de la, 317, 320
 pH de la, 527
 porfirinas en la, 381
 potasio en la, 417
 proteínas en la, 211-214, 527
 recolección de, 28, 212, 524
 turbidez de, 526
 urobilinógeno en la, 484, 528
 volumen de la, 526-527
 Orosomucoide, 190c, 195
OSHA (Occupational Safety and Health Act), 5, 35, 45
 Osmolalidad
 definición, 117, 315
 determinación de, 317
 determinaciones de etanol, 591
 hiponatremia, 319, 320
 importancia clínica de, 315-316
 muestras para determinar la, 317
 orina, 320
 regulación del potasio, 322
 valor de referencia de, 317c
 Osmolaridad, 315
 Osmometría, 117-119, 317
 Osmómetros de punto de congelamiento, 118-119, 317
 Osteoblastos, 460
 Osteoclastos, 460
 Osteomalacia, 469-470, 524, 622
 Osteopatías
 cáncer, 532
 enfermedad de Paget, 252
 fosfatasa ácida, 254

fosfatasa alcalina, 252
 hipercalcemia, 463
 osteomalacia, 469-470, 524, 622
 osteoporosis, 470-472
 raquitismo, 469-470, 618, 622
 Osteoporosis, 470-472, 646-647
 Otorrea, 562
 Ovarios, 432-436
 características anatómicas de los, 432
 ciclo menstrual, 432-433, 434
 hipogonadismo hipogonadotrópico, 434-435
 hirsutismo, 432, 435-436
 insuficiencia primaria de los ovarios, 434-435
 ovulación, 433
 producción de hormonas, 432
 pubertad en las mujeres, 434
 síndrome del ovario poliquístico, 435
 terapia de reemplazo de estrógeno, 436, 511
 Ovulación, 433
 Oxidación, 354
 ultravioleta, 6
 Oxidasa de glucosa, 275-276
 Oxidasa de monoamina (MAO), 425
 Oxidorreductasas, 237, 238c, 258
 Oxígeno
 disociación de hemoglobina, 353
 fracción inspirada, 351
 intercambio de gases, 349-351
 presión parcial de, 350, 351, 352-353, 354-355
 transporte de, 351-352
 valoración del paciente, 352-353
 Oxihemoglobina (O₂Hb), 352, 353-354
 Oxihemoglobina fraccionaria (porcentual) (FO₂Hb), 352
 Oximetría de pulso (SpO₂), 352
 Oxitocina, 400, 409

P

Pacientes
 cuidado intensivo, 333
 estudios en intervalos de referencia, 57-58
 identificación, 27
 preparación, 69
 Pacientes geriátricos, 643-652
 cambios bioquímicos y fisiológicos en, 645-650
 diabetes y resistencia a la insulina, 647-648
 electrolitos, 649
 enzimas, 650
 función cardiovascular, 650
 función endocrina, 645-647
 función hepática en, 649
 función pulmonar, 649
 función renal, 648-649
 lípidos, 650
 cambios en analitos en, 646c
 causas principales de muerte en, 646c
 enfermedades y trastornos con, 645c
 impacto en el laboratorio, 643-644
 incremento de la población de, 643
 resultados de laboratorio, 650-652
 ejercicio y nutrición en, 652
 intervalos de referencia, 650-651
 monitoreo de fármacos terapéuticos, 651-652
 variables preanalíticas en, 651
 Pacientes pediátricos, 656-672
 balance hídrico en, 660-661
 bilirrubina en, 480, 482, 483c
 calcio en, 333
 cambios derivados del desarrollo, 656-657
 circulación en, 656
 colesterol en, 290-291, 295
 crecimiento de, 656, 663
 deficiencia de la hormona del crecimiento, 405
 desarrollo de los órganos en los, 656
 diabetes en, 662
 elección del analizador para, 658
 electrolitos en, 660-661
 enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce en, 184-185

- enfermedad hemolítica del recién nacido, 555-557
- enfermedades genéticas en, 668-671
- equilibrio ácido-básico en, 659
- fenilcetonuria en, 182-183
- flebotomía en, 657
- función endocrina en, 664-666
- función hepática en, 656, 661-663
- función renal en, 656, 660, 663
- galactosemia en, 274
- gases en sangre en, 659
- homocistinuria, 185
- ictericia en, 480, 482, 661
- madres diabéticas, 271
- madurez de los pulmones en los, 557-560
- madurez sexual en, 656, 666
- metabolismo de los fármacos en, 671-672
- metabolismo del calcio y los huesos en, 663-664
- metabolismo del nitrógeno, 662-663
- metabolismo energético en, 661-662
- nutrición parenteral total, 637
- prematuros, 656-657
- producción de anticuerpos en, 667-668
- prueba del punto de atención para, 658
- puntos preanalíticos en, 657
- respiración en, 656
- sistema inmunitario en, 666-668
- toxicidad del plomo, 594, 595
- vitamina E en, 620
- PAI (plasma acoplado inductivamente), 98
- Palpitaciones, 498
- Pancreatitis, 540-541
- Pancroocimina (Véase Colecistocina)
- Panencefalitis esclerosante (PEE), 562
- Panhipopituitarismo, 407, 408, 665
- Paquetes de prueba, reactivo en, 133, 134
- Paraproteínas, 199
- Parásitos, 528
- Parche escrotal, 442
- Partícula de Dane, 486
- Patógenos llevados por el aire, 39
- Patógenos transportados por la sangre, 38-39
- PBG (porfobilinógeno), 380, 382
- PCO₂ (presión parcial de dióxido de carbono), 354, 356
- PCR (reacción en cadena de la polimerasa), 162-163, 164
- PCT (porfiria cutánea tardía), 379, 380-381
- PE (porfiria eritropoyética), 379, 381
- PEC (porfiria eritropoyética congénita), 379, 380
- Pelagra, 623
- Pepsina, 548
- Péptido inhibitorio vasoactivo (VIP), 414
- Péptido natriurético
- auricular (ANP), 414
 - B (BNP), 509, 513c
 - cerebral (BNP), 509, 513c
- Percentiles, 51, 59
- Pérdidas de sodio, aumento de la, 318
- Pericarditis, 505
- Peroxidas tiroidea (TPO), 446
- Persistencia del conducto arterioso, 499
- Persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (PHEF), 390
- Personal, 169-171, 173, 174
- Peso
- atómico, 684c-685c
 - cardiopatía, 511
 - equivalente, 7
 - niños, 656
 - pérdida de, 623
- Pesos atómicos, 684c-685c
- pH (Véase también Gases sanguíneos)
- arterial, valor de referencia para, 344
 - balance ácido-básico, 344-345, 348-349, 523
 - conservación de la homeostasis del, 344
 - jugo gástrico, 672
 - medición del, 354, 356
 - orina, 527
 - pacientes pediátricos, 659
 - plasma sanguíneo, 344
 - reacciones enzimáticas, 240
 - soluciones amortiguadoras, 8, 344
- PHE (porfiria hepatoeritropoyética), 379, 381
- PIA (porfiria intermitente aguda), 379, 380
- PIE (factor inhibitorio de prolactina), 405
- Piel en el sistema inmunitario, 667
- Pielonefritis, 531
- Pipeta(s), 10-15
- autodesague, 11
 - autolimpieza, 11
 - automáticas, 13
 - bulbos para, 12
 - calibración de, 14-15
 - clasificación de, 11c
 - contener y entregar, 10-11
 - contener, 10-11
 - descarga, 11
 - despachadores, 13, 14
 - desplazamiento de aire, 13
 - desplazamiento positivo, 13
 - diluidor/despachadores, 13, 14
 - entregar, 10-11
 - graduadas, 11c, 12
 - limpieza, 10
 - medición, 11c, 12
 - medición o graduación, 11c, 12
 - micropipetas, 12, 13
 - Mohr, 12
 - Ostwald-Folin, 12-13
 - Pasteur, 13
 - pipetas, 14-15
 - posiciones correctas, 12
 - pruebas en el lugar de atención, 174
 - recomendaciones para, 13-14
 - serológicas, 12
 - técnica para, 11, 12
 - termómetros, 9
 - tolerancia clase A, 11c
 - transferencia, 11c, 12-13
 - transferir, 11, 12-13
 - volumétricas, 12, 13
- Piridoxina, 619c, 623
- Piuria, 531
- pK, definición, 344
- pK_a, 8
- Placas, 293-294
- Placas de química seca
- calibración de, 139
 - espectrofotometría en, 137
 - historia de, 125
 - incubación en, 135
 - mezclado en, 134
 - procesamiento de señales y manejo de datos en, 139
 - reactivos en, 133
 - separación en, 135
- Plaguicidas, 596-597
- Plan químico de higiene, 40
- Plasma, 27
- acoplado inductivamente (PAI), 98
 - plomo, 594-595
- Plumboporfirina, 379
- PMEP (prueba de microscopía ejecutada por el proveedor), 168
- PO₂ (presión parcial de oxígeno), 350, 351, 352-353, 354-355
- Polidipsia, 316, 317, 319
- Polimorfismo de la longitud del fragmento de restricción, 164
- Polipéptidos, estructura de los, 187-188
- Polisacáridos, 264
- Políticas en PLA, 173-174
- Poliuria, 526
- Porcentaje de pureza, 22
- Porcentaje de saturación de hierro, 367c, 368c, 369
- Porcentaje de transmitancia (%T), 92, 93, 682c-683c
- Porcentaje real de oxihemoglobina (O₂Hb), 353-354
- Porfobilinógeno (PBG), 380, 382
- Porfiria
- aguda intermitente (PAI), 379, 380
 - cutánea tarda (PCT), 379, 380-381
 - deficiencia de deshidratasa de ALA (PDA), 379
 - eritropoyética (PE), 379, 381
 - hepatoeritropoyética (PHE), 379, 381
 - secundaria, 381
 - variegada (PV), 379
- Porfirinas, 378-383
- análisis de, 381-383
 - correlaciones en enfermedades con, 379-381
 - función en el cuerpo, 378
 - propiedades químicas de, 378
 - síntesis de, 378-379
- Porfirinógenos, 378
- Porfirinurias, 381
- Positivos falsos (PF), 62, 63
- Positivos verdaderos (PV), 62, 63
- Poszona, 148
- Potasio, 322-324
- colapso celular, 322
 - comparación de métodos para, 52, 53
 - determinación del, 324
 - ejercicio, 322
 - excreción urinaria de, 417
 - hiperosmolalidad, 322
 - hiperpotasemia, 322, 323-324, 638c
 - hipopotasemia, 322-323, 417, 638c
 - nutrición parenteral total, 637
 - pacientes pediátricos, 660-661
 - recolección de muestras determinación de, 324
 - regulación del, 322, 339, 522
 - valores de referencia de, 325c
- Potencial de óxido-reducción, 8
- Potencial Redox, 8
- Potenciales de reducción estándar, 102c
- Prealbúmina (transtirretina)
- líquido cefalorraquídeo, 562
 - proteínas plasmáticas, 190c, 193
 - valoración nutricional, 634-635
- Prealbúmina de unión con tiroxina (TBPA), 448
- Precipitación
- inmunitaria, 147-150
 - contrainmunolectroforesis, 149
 - difusión doble (Ouchterlony), 148-149
 - difusión sencilla (immunodifusión radial), 149
 - electroforesis de inmunofijación, 149-150
 - inmunolectroforesis, 149-150
 - métodos para, 148c
 - técnica del cohete, 150
 - no inmunitaria, 155-156
 - química, 300, 301
- Precipitación inmunitaria en gel, 147-150
- contrainmunolectroforesis, 149
 - difusión doble (Ouchterlony), 148-149
 - difusión simple (immunodifusión radial), 149
 - inmunolectroforesis, 149-150
 - métodos para, 148c
 - técnica del cohete, 150
- Precisión, 64-65, 304
- Pregnenolona, 414, 415
- Presión barométrica (PB), 350
- Presión de vapor, 7
- Presión osmótica, 7
- Presión parcial de los gases, 350, 351
- Presión parcial del oxígeno (PO₂), 350, 351, 352-353, 354-355
- Prevalencia de la enfermedad, 62, 63c
- Prezona, 148
- Primidona, 580
- Prismas, 94
- PRL (Véase Prolactina)
- Probabilidad de detección del error (P_{ed}), 73, 74
- Probabilidad de rechazo falso (P_h), 73, 74
- Probetas graduadas, 10
- Procainamida, 578-579
- Procedimiento de Shewhart de varias reglas, 76, 77, 78-79
- Procedimiento Westgard de varias reglas, 73, 75-79, 80
- Procedimientos
- manuales para, 69
 - pruebas en el lugar de atención, 173-174
- Proceso de las muestras, 29

- Proceso de señales, 138-139
 Productos de la división de fibrina, 198
 Productos finales de glucosilación avanzada (AGE), 648
 Productos químicos reactivos, 41
 Proenzimas, 237
 Prueba de aprovechamiento
 análisis de los gases de la sangre, 361
 control de calidad externo, 80-81, 82
 pruebas en el lugar de atención, 174-175
 límites de error en, 68
 Progesterona, 432
 Programas para computadora, 139
 Prolactina (PRL), 405-407
 galactorrea idiopática, 407
 hiperprolactinemia, 406
 prolactinoma, 406-407, 440
 secreción de, 402
 Prolactinoma, 406-407
 Prooxidante, 368
 Propiedades coligativas de soluciones, 7
 Prostaglandinas (PG), 524
 Protección personal, 37-38, 41
 Proteína C reactiva (CRP)
 características de, 190c, 198
 enfermedad cardíaca, 508, 513c
 evaluación nutricional, 636
 inmunidad, 667
 Proteínas plasmáticas, 193-199
 albúmina, 193-194, 634
 características de, 190c
 globulinas, 194-199
 prealbúmina (transtiretina), 193, 562, 634-635
 sistema amortiguador plasmático, 345
 valoración nutricional, 633-636
 Proteínas totales
 análisis de, 204-205
 absorción ultravioleta, 205
 método de Biuret, 205
 método de Kjeldahl, 204
 refractometría, 204
 unión con la tinción, 205
 anormalidades de, 202, 203c
 líquido cefalorraquídeo, 214-215
 orina, 211-214
 Proteínas y reactivos de fase aguda
 α -antitripsina, 190c, 194-195
 electroforesis de proteínas, 210
 fibrinógeno, 190c, 198, 509, 513c
 inmunidad, 667
 proteína reactiva C, 190c, 198, 636, 667
 Proteína(s), 186-215
 amiloides, 202
 aminoácidos en síntesis de, 181c
 análisis de, 203-211
 anfetéricas, 188
 anormalidades de, 202, 203
 balance del nitrógeno, 192
 carcinoembrionarias, 610-611
 cardíaca de enlace a ácidos grasos (H-FABP), 510, 513c
 carga de, 188-189
 catabolismo de, 192
 conjugadas, 192
 contenido de nitrógeno en las, 188
 definición, 180
 dimensiones moleculares de las, 186
 enlace a IGF, 665
 enlace al factor de crecimiento insulínico, 665
 específica de grupo, 196
 estructura de, 187-188
 fase aguda
 electroforesis de proteínas, 209, 210
 fibrinógeno, 190c, 198, 509, 513c
 inmunidad, 667
 proteína C reactiva, 190c, 198, 636, 667
 fibronectina, 202, 635, 659
 funciones de las, 192-193
 G, 374
 G, estimuladora, 461
 globina, 383, 384
 inmunogenicidad de, 189, 191
 líquido cefalorraquídeo, 28-29, 214-215, 562-563
 mielina básica, 215, 563
 mioglobina, 199-200, 394, 506-507, 525
 oligoclonales, 214, 563
 orina, 211-214
 plasma, 1901, 193-199
 producción hepática de, 479, 485
 punto isoelectrico de, 189
 relacionada con la hormona paratiroidea (PTHrP), 464-465
 separación en analizadores automatizados, 135
 simples, 192
 síntesis de, 191-192
 solubilidad de, 189
 Tamm-Horsfall, 213-214
 troponina, 200-201, 246, 507
 unión con el retinol (RBP), 635
 unión con vitamina D, 196
 unión para la tiroides, 447-448
 valoración nutricional, 633-636
 Proteinuria, 211-214
 electroforesis y, 525
 exceso, 213
 glomerular, 212-213
 importancia de las, 212-214
 métodos de análisis para determinar, 211-212
 microalbuminuria, 213, 279, 525-526, 534
 proteína de Tamm-Horsfall, 213-214
 prueba para, 527
 tubular, 213
 Proteoglicanos, 192
 Proteómica, instrumentación, 115-117
 electroforesis bidimensional, 116
 espectrometría de masas MALDI-TOF, 116-117
 espectrometría de masas SELDI-TOF, 117, 118
 Protooncogén Ret, 464
 Protoporfirina (PROTO), 378
 cinc (PPC), 381, 383
 cinc de eritrocito (ZPP), 381, 383
 Proyecciones de Fisher, 263
 Proyecciones de Haworth, 263, 264
 Prueba(s)
 absorción de la D-xilosa, 545, 550-551
 descartadas, 169, 170c
 especialistas, 638
 F, 55, 56, 67
 Hoesch, 382
 inmunológica para desnutrición, 632
 intolerancia al almidón, 545
 manchas, 598
 microscopia ejecutada por el proveedor, 168
 moderadamente complejas, 169
 molecular (Véase Sondas de ácidos nucleicos)
 muy compleja, 169
 orales de tolerancia a la glucosa (POTG), 272, 277
 posprandiales, 276-277
 Schilling, 624
 sensibilidad a la angiotensina (AST), 505
 solubilidad, 391-392
 supresión de clonidina, 428
 supresión de dexametasona, 421
 t, 55-56, 67
 tolerancia a la lactosa, 550
 Watson-Schwartz, 382
 Pruebas en el lugar de atención (PLA), 169-176
 análisis de lípidos, 303
 análisis químicos, 175
 analitos descartados, 169, 170c
 capacitación para, 174
 coagulación, 175-176
 comunicación en, 172-174, 175
 conectividad en, 176
 control de calidad de, 81, 83, 174, 175
 coordinación de, 170-171
 definición, 169
 elementos para establecer las, 169c
 estandarización en, 171-172
 estructura del sistema, 172
 formas/registros para, 174
 gases en la sangre, 175
 glucosa, 175
 hematología, 176
 licencia CLIA y reglamentos para, 169, 171c
 negociación contractual, 173
 organización de, 173-174
 pacientes pediátricos, 658
 personal de apoyo para, 169-171
 procedimientos/políticas, 173-174
 pruebas cardíacas, 510-511
 pruebas de eficacia, 174-175
 recertificación para, 174
 selección de dispositivos/métodos, 172-173
 solicitudes de nuevas pruebas, 172
 técnicas analíticas para, 119-120
 validación de, 173
 PSA (Véase Antígeno específico de la próstata)
 PTH (Véase Hormona paratiroidea)
 Pubertad, 434, 438
 Pulmones
 edad avanzada, 649
 equilibrio ácido-básico, 345, 346, 348
 madurez fetal de los, 557-560
 presión parcial de los gases en, 351
 Punción de talón, 27, 657
 Punción digital, 27, 657
 Punción lumbar, 561
 Punto de congelamiento, 7
 Puntos isoelectricos (pI), 189
 Púrpura de bromocresol (PCB), 206-207
 PV (valor predictivo de una prueba negativa), 62, 63
 PV+ (valor predictivo de una prueba positiva), 62, 63
- ## Q
- Queladores, 368
 Quemadores, trayectoria larga de premezcla, 97
 Quilomicrones, 286-287, 288-289
 Quimioluminiscencia
 análisis automatizado, 138
 análisis de nitrógeno, 204
 inmunoensayos, 151c, 152-153
 principios de, 100
 Quimioterapia, 228
 Quinidina, 578
- ## R
- Rabdomiólisis, 525
 Radiación
 electromagnética, 91
 eliminación de desechos, 45
 no ionizante, 41-42
 políticas de seguridad contra la, 41-42
 Radicales libres, 645
 Radioinmunoensayo (RIE), 151-152, 158
 Raquitismo, 469-470, 618, 622
 RBP (proteína de unión con retinol), 635
 Reabsorción
 ácido úrico, 227, 522
 definición, 345
 tubular, 339, 520
 urea, 220, 521
 Reacción
 cadena de la ligasa (LCR), 163
 cadena de la polimerasa (PCR), 162-163, 164
 cadena de la transcriptasa polimerasa inversa (RT-PCR), 163
 Folin-Ciocalteu, 212
 Jaffe, 225-226, 227
 prueba clínica, 276
 Trinder, 275, 597
 Reacciones químicas en analizadores, 133-136
 incubación en, 135
 mezclado en, 134-135
 separación en, 135
 sistemas automatizados, 141
 tiempo de reacción en, 135-136
 Reactividad cruzada, 147

- Reactivos
 agua, 5-6
 análisis automáticos, 132-133
 anticuerpos monoclonales, 147, 611
 aseguramiento de la calidad de los, 70
 Ehrlich, 484
 enzimas como, 243
 líquidos, 132
 materiales de referencia, 5
 propiedades de las disoluciones, 6-8
 pruebas en el lugar de atención, 174
 químicos, 4-5
 secos, 132-133
 Recambio óseo, 462
 Receptor de estrógeno (RE), 613
 Receptor de progesterona (PgR), 613, 614
 Receptores de la transferrina (TrfR circulante), 368
 Receptores de la transferrina sérica, 368
 Receptores detectores del calcio, 460, 461
 Recién nacidos (Véase Pacientes pediátricos)
 Recuperación, 346
 Reducción
 definición, 354
 potenciales estándar de, 102c
 5 α -Reductasa, deficiencia, 439
 Refractometría, 204-205, 527
 Registradores cromatográficos, 111
 Registros para PLA, 174
 Reglamentos, 35, 169
 Reglas de control, 72-79
 definición, 72
 gráficas de funciones de potencia, 73, 74, 76
 procedimiento de Shewhart de reglas diversas,
 76, 77, 78-79
 técnica de suma acumulada, 79
 utilizadas con frecuencia, 73j
 violaciones de, 75
 Rejillas de difracción, 94
 Relación A/G (albúmina-globulina), 205
 características de, 190c, 193-194
 enfermedad hepática, 485
 evaluación nutricional, 634
 fraccionamiento de, 205-207
 líquido cerebrospinal, 215, 562
 microalbuminuria, 213, 279, 525-526, 534
 pacientes pediátricos, 663
 relación de A/G, 205
 Relación de albúmina y creatinina, 526
 Relación de líquido y plasma (L/P), 565
 Relación de respuesta de dosis
 inmunoensayos, 153-154, 155
 toxicología, 588-589
 Remanentes en analizadores automatizados,
 127, 130
 Renina
 actividad de la renina en el plasma, 416
 aldosterona, 415
 control del volumen sanguíneo, 316
 función renal, 523-524
 Requerimientos dietéticos recomendados (RDR),
 626
 biotina, 626
 folato, 624
 niacina, 623
 piridoxina, 623
 riboflavina, 623
 tiamina, 622
 vitamina A, 620
 vitamina B₁₂, 624
 vitamina D, 621
 vitamina E, 621
 vitamina K, 622
 Rescate con leucovorina, 583
 Resinas de intercambio catiónico, 231
 Resistencia iónica, 8
 Resistividad, 8
 Resorción ósea, 331
 Respiradores, 37
 Retinol, 620
 Retroalimentación negativa, 401
 Revascularización transmiocárdica con láser, 514
 Revisión de los colegas, 361
 RIA (radioinmunoensayo), 151-152, 158
 Riboflavina, 619c, 622-623
 Riesgos
 biorriesgos, 38-39
 eléctricos, 43
 eliminación de materiales, 44-45
 equipo de seguridad para, 36-38
 ergonómicos, 44
 gases comprimidos, 43-44
 incendio, 42-43
 materiales criogénicos, 44
 mecánicos, 44
 químicos, 39-41
 radiación, 41-42
 regulaciones para, 35
 señalización y etiquetado de, 36, 37
Right to Know Law, 39
 Rinorrea, 562
 Riñones (Véase Función renal)
 Ritmo diurno
 hormonas de la hipófisis en, 400, 401-402
 síndrome de Cushing, 420-421
 Ritmos circadianos, 400, 401-402
 RNA (ácido ribonucleico), 161, 191-192
 Robótica, 127, 141, 142
 Rotores para analizadores, 127, 129
 RT-PCR (reacción en cadena de la transcriptasa
 polimerasa inversa), 163
 Ruta aeróbica, 265, 266
 Rutas de administración de fármacos, 571
S
 Sacarosa, 265
 Sal
 fraccionamiento con, 206
 ingesta excesiva de, 320
 precipitación, 189
 Salicilatos, 597
 Saliva, 421
 Sangre
 arterial, 27
 colección de, 26-28, 69, 657
 completa, 27
 entera, 27
 líquido cefalorraquídeo, 561
 orina, 528
 regulación de volumen, 315, 316-317
 Saturación de oxígeno, 352, 353-354
 Saturación de transferrina, 367c, 368c, 369
 Secreción
 bilirrubina, 478-479
 creatinina, 223
 definición, 346
 hormones de la tiroides, 446-448
 tubular, 520
 Secreción gástrica, 547-549
 análisis de, 548-549
 fisiología y bioquímica de, 547-548
 pH de, 672
 Secreciones pulsátiles, 400, 401
 Secretagogos, 547
 Secretina, 540, 542
 Sed
 hormona antidiurética y, 522
 iponatremia, 319
 osmolalidad regulatoria, 315, 316
 Sedimento de la orina, 528-529
 Seguridad, 35-46
 accidentes, 45-46
 biológica, 38-39
 conocimiento de la, 35-36
 contra incendios, 42-43
 eléctrica, 43
 eliminación de materiales peligrosos,
 44-45
 equipo, 36-38
 fuego, 42-43
 materiales criogénicos, 44
 mecánica, 44
 química, 39-41
 radiación, 41-42
 reglamentos de, 35
 relacionada con gases comprimidos, 43-44
 responsabilidades de la, 35-35
 riesgos ergonómicos, 44
 señales y marbetes, 36, 37
 Selección del método, 64-69
 comparación de, 66-69
 evaluación de, 64, 65
 imprecisión en, 64-65
 inexactitud en, 65-66
 Selenio, 365c, 373, 638
 Semiceldas, 101, 102c
 Sensibilidad
 analítica, 64
 diagnóstica, 61-63
 fluorometría, 100
 marcadores tumorales, 608
 Sensores, 356-357
 electroquímicos, 356-357
 macroelectrodos, 356-357
 ópticos, 357
 Señales de riesgo, 36, 37
 Señales para indicar peligro, 36, 37
 Separación de la fase sólida, 156
 Sesgo, 50, 59
 estadístico, 56, 691
 Seudoadosteronismo, 416
 Seudocolinesterasa (SChE), 596-597
 Seudohiponatremia, 319
 Seudohipoparatiroidismo, 333, 460-461, 467
 SGOT (Véase Aminotransferasa de aspartato)
 SGPT (Véase Aminotransferasa de alanina)
 Siderofilina (Véase Transferrina)
 Signo de Chvostek, 466
 Signo de Trousseau, 466
 Silla turca, 400
 Síncope, 498
 Sincronización de muestras, 28, 576
 Síndrome
 alcoholismo fetal, 498
 Bartter, 416
 coronario agudo, 501-503
 Crigler, 478, 661
 Dubin-Johnson, 478-479
 Fanconi, 527
 feminización testicular, 439
 Gilbert, 478
 Gitelman, 416
 insuficiencia respiratoria (SIR), 557, 659
 Kallmann, 440
 leche y álcali, 465
 Lesch-Nyhan, 228-229
 malabsorción, 541, 550, 551
 Menkes del pelo ensortijado, 196, 370
 nefrótico, 208, 209, 530
 NEM, 464
 neoplasia endocrina múltiple (NEM), 464
 ovario poliquístico (SOPQ), 435, 436
 realimentación, 629
 Reye, 231, 481
 rotor, 478
 secreción inadecuada de ADH
 (SSIAHD), 319
 Turner, 434
 urémico, 220, 532, 535-536
 Zollinger-Ellison, 540, 548, 549
 Síndrome de células de Sertoli aisladas, 440
 lesión testicular e infección, 440
 síndrome de feminización testicular, 439
 Síndrome de Cushing, 419-422
 aldosteronismo primario, 417-418, 429
 algoritmo para la determinación de, 422
 dependencia de ACTH en, 421-422
 diagnóstico de, 420-421, 429
 embriología y anatomía en, 413-414
 feocromocitoma, 424, 426, 428
 hipercortisolismo, 419-423
 incidentaloma, 427, 429

- Síndrome de Cushing, (*cont.*)
pacientes pediátricos, 665
procedimientos de localización, 422
tratamiento de, 423
- Síndrome de Klinefelter, 438-439
deficiencia de 5 α -reductasa, 439
distrofia miotónica, 439-440
- Sintasa de ácido δ -aminolevulínico (ALA), 276, 378-379
- Síntesis
carbohidratos, 479
enzimas, 479-480
grasas, 479
hem, 378-379
hemoglobina, 384-385
hormonas de la tiroides, 446-447
porfirinas, 378-379
proteínas, 191-192, 479
- Sinusoides hepáticos, 477
- Sistema
amortiguador de fosfato, 345
automatización de laboratorio clínico Hitachi (SALC), 141
hipotalámico-hipofisario de la corteza suprarrenal, 665
Internacional de Unidades (SI), 3, 4c, 675c
MODULAR ANALYTICS, 141
multiplicador de contracorriente, 520
oxidasa de función mixta (MEO), 574
portal hipotalámico-hipofisario, 400-402
renina-angiotensina (SRA), 316, 415-416, 522, 523
replicasa Q-beta, 163
reproductor (Véase Función gonadal)
- Sistema inmunitario
adaptación, 667
células asesinas naturales en, 667
células B en, 667
fagocitos en, 667
innato, 667
pacientes pediátricos, 666-668
piel en, 667
producción de anticuerpos en, 667-668
proteínas de fase aguda en, 667
sistema de complemento en, 667
trastornos de, 668
- Sistema reproductor femenino, 432-436
ciclo menstrual, 432-433, 434
desarrollo puberal femenino, 434
hipogonadismo hipogonadotrópico, 434-435
hirsutismo, 432, 435-436
infertilidad, 434, 436c
ovarios en, 432-436
ovulación, 433
producción hormonal por, 432
terapia de reemplazo de estrógeno, 436, 511
- Sistema reproductor masculino
hipofunción testicular, 438-441
hipogonadismo, 441
infertilidad, 436c
terapia de reemplazo de testosterona, 441-442
testículos, 436-442
trastornos del desarrollo sexual, 438
- Sistema respiratorio
edad avanzada, 649
equilibrio ácido-básico, 345, 346, 347, 348, 349
pacientes pediátricos, 656
- Sistemas amortiguadores (Véase también Gases sanguíneos)
bicarbonato-ácido carbónico, 345, 346, 348
fosfato, 345
regulación del ion hidrógeno, 344-345
- Sistemas de control de calidad estadísticos, 70, 71-72
definición, 70
información de los pacientes en, 79-81
operación general de, 71-72
reglas de control, 72-79
- Sistemas de información en el laboratorio (SIL), 142
- Sistemático, error (ES)
constante, 54, 55
criterios de valor sencillo, 68
detección con reglas de control, 73, 74, 75-76
- estadística, 54, 55, 70, 71
inexactitud, 64, 66
proporcional, 54, 55
- Sitios activos de enzimas, 237
- Sitios alostéricos, 237
- Sitosterolemia, 288
- SO₂ (saturación de oxígeno), 352, 353-354
- Sodio, 317-322
determinación de, 320-322
función renal, 522
hipernatremia, 319c, 320, 638c, 660
hiponatremia, 318-320
intervalo de referencia de, 322c
muestras para, 320
nutrición parenteral total, 637
osmolalidad, 316
pacientes pediátricos, 660
regulación del, 318, 339, 522
sudor, 544, 563, 564
- Solubilidad de las proteínas, 189
- Soluciones amortiguadoras
definición, 8, 344
electroforesis, 105-106
soluciones, en, 8
- Soluciones concentradas, 7
- Soluciones diluidas, 7
- Solutos, 6
- Somatomedinas (Véase Factores de crecimiento análogos a la insulina)
- Somatostatina (SS)
liberación de la hormona del crecimiento, 402, 403, 665
regulación de la glucosa, 267-268
- Somatotropina (Véase Hormona del crecimiento)
- Sondas
ácidos nucleicos
aplicaciones de, 164
definición, 161
panorama de las, 160
propiedades químicas de, 161
técnicas de hibridación, 161-164
analizadores automatizados, 130, 131, 132
termistores, 9
- Sorbente, 109
- Southern blot, 162, 164
- SPE (electroforesis de proteínas séricas), 207-208, 209, 210
- SpO₂ (oximetría de pulso), 352
- SSIADH (síndrome de secreción inadecuada de ADH), 319
- Suero, 5, 27, 30c
- Sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEAS), 414
- Suministros para laboratorio (Véase Equipo de laboratorio)
- Supresión de captopril, 417
- Sustancias
delicuescentes, 16
infecciosas, 39
- Sustancias interferentes
ácido úrico, 230
amoníaco, 232
análisis de orina, 222-223
creatinina, 227
- Sustancias químicas
almacenaje de, 36-37, 40-41
carcinógenas, 41
carcinógenas, 41
combustibles, 40-41
corrosivas, 41
corrosivas, 41
derrames de, 41
efectos tóxicos por, 40
eliminación de, 44-45
etiquetado de, 36, 37
grados de pureza, 4-5
incompatibles, 678c-679c
inflamables, 40-41
inflamables/combustibles, 40-41
peligrosas, 40
reactivas, 41
seguridad con, 39-41
- Sustancias trombolíticas, 513
- Sustratos
concentración de, 239-240
definición, 238
relación con la enzima y el producto, 239
- T**
- T₃ (triyodotironina)
estudios para determinar, 449
libre, 448, 449
proteína de unión con, 448
síntesis de, 446-447, 664
- T₄ (tetrayodotironina)
estudios para, 449
libre, 448, 450
producción de, 410
proteína de unión con, 448
regulación de la glucosa, 267
síntesis de, 446-447, 664
- Tabla periódica de los elementos, 692 (Véase también Oligoelementos)
- Tabletas, reactivo en, 132-133
- Tacrolimus, 583
- Tactoides, 386
- Talasemia, 387, 389-390
alfa, 389
beta, 389-390
definición, 378, 384
diagnóstico de, 390-393
mayor, 389, 390
menor, 389, 390
- Tasa de filtración glomerular (TFG)
cálculo de, 224
creatinina, 224-225
estimada, 525
función renal, 519, 524
pacientes pediátricos, 660
- Tasa metabólica basal (TMB), 629
- TB (Tuberculosis), 39
- TBG (globulina de unión con tiroxina), 447-448
- TBPA (prealbúmina de unión con tiroxina), 448
- TD₅₀, 589
- Técnica
cohetes, 150
cusum (suma acumulada), 79
inmunoensayo multiplicado por enzimas (TIME), 156-157
Laurell, 150
Ouchterlony, 148-149
película gruesa y fina, 125, 357
suma acumulada (cusum), 79
- Técnicas analíticas, 91-120
cromatografía, 108-115
electroforesis, 105-107
electroquímica, 101-105
espectrofotometría y fotometría, 91-101
osmometría, 117-119
proteómica, 115-117
pruebas en el lugar de atención, 119-120
- Técnicas de hibridación, 161-164
amplificación de señal, 163-164
hibridación *in situ*, 164
Northern blot, 162
polimorfismo de la longitud del fragmento de restricción, 164
reacción en cadena de la polimerasa, 162-163
reacción en cadena de la transcriptasa-polimerasa inversa, 163
reacción en cadena de ligasa, 163
replicación de secuencia autosostenida, 163
resumen de, 162c
sistema de replicada Q-beta, 163
Southern blot, 162, 164
- Técnicas de medicina nuclear, 449
- Técnicas de separación, 17-19
análisis automático, 135
análisis de lipoproteínas, 300
centrifugación, 17-18
cromatografía, 108-109

- diálisis, 18-19
 - filtración, 18
 - immunoensayos, 155-156
 - Tecnología de circuitos integrados, 142
 - Tecnología de placa (*Véase* Placas de química seca)
 - Temperatura
 - análisis de los gases de la sangre, 357-358
 - ebullición, 7
 - mediciones de, 9
 - reacciones enzimáticas, 240-241
 - Tensión arterial (*Véase* Hipertensión)
 - Tensoactivos, 558
 - Teofilina, 582
 - Teoría del valor predictivo, 61-63, 64
 - Terapia antiplaquetaria, 513
 - Terapia de reemplazo de estrógeno, 436, 511
 - Teratógenos, 40
 - TERF (transferencia de energía de resonancia por fluorescencia), 163
 - Teriparatida, 469, 472
 - Termómetro del *National Institute of Standards and Technology* (NIST), 9
 - Termómetros, 9
 - electrónicos, 9
 - líquido en gas, 9
 - Testículos, 436-442
 - características anatómicas de los, 436-437
 - funciones de los, 437-438
 - hipofunción de los, 438-441
 - hipogonadismo, 441
 - lesiones e infecciones en, 440
 - terapia de reemplazo de testosterona, 441-442
 - trastornos del desarrollo sexual, 438
 - Testosterona
 - desarrollo posnatal, 438
 - desarrollo prenatal, 437-438
 - efecto en la espermatogénesis, 438
 - efectos secundarios sexuales, 438
 - función testicular, 436, 437
 - funciones de la, 437-438
 - hipogonadismo hipergonadotrópico, 438-440
 - hipogonadismo hipogonadotrópico, 440-441
 - mecanismos celulares de la, 437
 - pacientes pediátricos, 666
 - terapia de reemplazo, 441-442
 - Tetania, 331
 - Tetraedro del fuego, 42
 - Tetrahidropterina (BH_4), 182
 - Tetrahidrocannabinol (THC), 600
 - Tetralogía de Fallot, 499-500
 - Tetrapéptidos, 187
 - Tetrayodotironina (*Véase* T_4)
 - TFG (*Véase* Tasa de filtración glomerular)
 - TFGE (tasa de filtración glomerular estimada), 525
 - THC (tetrahidrocannabinol), 600
 - Tiamina, 619c, 622
 - Tiempo de coagulación activada (TAC), 175-176
 - Tiempo de protrombina, 485, 622
 - Tiempo de reacción, 135-136
 - Tiempos de coagulación, 176
 - TIME (técnica de inmunoensayo multiplicado por enzimas), 156-157
 - Tinción de elución con ácido, 392
 - Tinción de Sudán, 543
 - Tiroglobulina, 446, 449
 - Tiroiditis
 - De Quervain, 454
 - dolorosa, 454
 - Hashimoto, 451
 - linfocítica, 449, 451
 - linfocítica crónica, 449
 - no supurativa subaguda, 454
 - posparto, 454
 - subaguda, 450, 454
 - Tirosinemia, 183-184
 - Tirototoxicosis, 451
 - enfermedad de Graves, 449, 451-453
 - síntomas y signos de, 448, 452c
 - trastornos relacionados con, 453c
 - Tirotropina (TSH)
 - captación de yodo radiactivo, 450
 - estudios para, 448-449
 - hipotiroidismo, 450
 - regulación de la tiroides, 402, 448
 - ritmo diurno, 402
 - secreción de, 401, 664
 - síntesis de hormona de la tiroides, 446
 - Tiroxina (*Véase* T_4)
 - Titulación amperométrica-voltamétrica, 326
 - TnI (troponina I), 200, 201, 246, 507
 - TnT (troponina T), 200, 202, 246, 507
 - Tocoferoles, 620
 - Tolerancia a la glucosa deteriorada, 269, 272c
 - Tonometría, 360
 - Toracentesis, 565
 - Tos en cardiopatía, 498
 - Toxicidad (*Véase también* Aspectos toxicológicos)
 - aguda y crónica, 589
 - cinc, 365c, 371
 - plomo, 594-595
 - sustancias peligrosas, 40
 - vitamina A, 620
 - vitamina D, 464, 622
 - vitamina K, 622
 - TPO (peroxidasa tiroidea), 446
 - Trabécula, 462
 - Tranquilizantes, 601
 - Transaminasa glutámica-oxaloacética (GOT), 250-251, 484-485
 - Transaminasa glutámica-pirúvica (GPT), 251, 484-485
 - Transaminasas, 250, 484-485
 - Transcetolasa de eritrocito (ETK), 622
 - Transferasas, 237, 238c, 250
 - Transferencia de energía de resonancia por fluorescencia (TERF), 163
 - Transferrina (siderofilina)
 - características de, 190c, 197
 - hierro, 367c, 368c, 369
 - valoración nutricional, 634
 - Transfusión intrauterina, 556
 - Transmitancia, porcentaje de (%T), 92, 93, 682c-683c
 - Transportador ABCA1, 289-290
 - Transportadores de monoamina vesicular (TMAV), 424
 - Transporte
 - activo, 315
 - cinc, 370
 - cobre, 369
 - hierro, 366, 367
 - oxígeno, 35 1-352
 - Transtirretina (TTR)
 - líquido cefalorraquídeo, 562
 - proteínas plasmáticas, 190c, 193
 - valoración nutricional, 634-635
 - Trasplante
 - corazón, 514
 - riñón, 535-536
 - Trastorno de sistemas combinado, 624
 - Trastornos congénitos
 - agammaglobulinemia, 668
 - cardiopatía, 498-500
 - hiperplasia suprarrenal, 415-418, 666
 - hipotiroidismo, 446
 - porfiria eritropoyética, 379, 380
 - uso de líquido amniótico para diagnóstico, 555
 - Trastornos del esqueleto (*Véase* Osteopatías)
 - Trastornos del sistema nervioso central
 - cinasa de creatina, 244
 - hipercalcemia, 463
 - hipocalcemia, 466
 - Trastornos hepatobiliares
 - fosfatasa alcalina en, 252
 - γ -glutamyltransferasa en, 255
 - Trastornos neuromusculares, 466
 - Trasudados, 565
 - Trazadores, 152, 153
 - TRH (hormona liberadora de tirotropina, 401, 664
 - Trifosfato de adenosina (ATP), 265-266
 - Trigliceridemia familiar, 295
 - Triglicéridos
 - absorción de, 288
 - análisis de, 299-300
 - endógenos, 287
 - hipertrigliceridemia, 295-296
 - objetivos del rendimiento analítico para los, 292c
 - propiedades químicas de los, 284
 - Triosas, 263
 - Tripeptidos, 187
 - Triyodotironina (*Véase* T_3)
 - TSH (*Véase* Tirotropina)
 - TTR (*Véase* Transtirretina)
 - Tuberculosis (TB), 39
 - Tubos
 - evacuados, 26, 27, 28c
 - vacío, 26, 27, 28c
 - Túbulo contorneado distal
 - anatomía de, 518, 519
 - fisiología de, 520
 - reabsorción de electrólito, 339
 - Túbulo contorneado proximal
 - características anatómicas del, 518, 519
 - electrólitos y, 339
 - funciones de, 519-520
 - Túbulos contorneados
 - distales, 339, 518, 519, 520
 - enfermedades de, 530
 - proximales, 518, 519-520
 - Túbulos renales
 - afecciones de los, 530
 - asa de Henle en, 518, 519, 520
 - características anatómicas de, 518, 519
 - conducto colector en, 340, 518, 519, 521
 - contorneado distal, 339, 518, 519, 520
 - contorneado proximal, 518, 519-520
 - electrólitos, 339-340
 - función de, 519-521
 - Tumores (*Véase también* Cáncer)
 - benignos y malignos, 605
 - células de los islotes, 397, 540
 - glándulas suprarrenales, 424, 426, 428, 429
 - hígado, 480-481
 - hipercalcemia, 464-465
 - hipófisis, 404, 405, 406, 407-408
 - páncreas, 274, 540, 613
 - Tumorigénesis, 605
 - Turbidez de muestras, 29, 526
 - Turbidimetría, 100, 150-151
 - Turnos
 - control de calidad, 71
 - intervalos de referencia, 58
- U**
- UI (unidades internacionales), 26
 - Úlceras, 548
 - pépticas, 548
 - Ultracentrifugación, 300, 302
 - preparativa, 300
 - Ultrafiltración del agua, 6
 - Ultraoigoelementos, 365
 - Ultrasonido en la tiroides, 450
 - Umbral renal, 520
 - Unidades
 - actividad, 243
 - derivadas, 3, 41
 - internacionales (UI), 26, 243
 - medición, 3, 4c
 - que no son del SI, 3, 4c
 - SI (Sistema Internacional de Unidades), 3, 4c, 675c, 676c
 - Uniones líquidas, 102-103
 - Urea, 220-223
 - aclaramiento de la, 525
 - análisis de, 221-222, 223c
 - cantidades necesarias de muestras, 222-223
 - correlaciones de la enfermedad con la, 220-22 1
 - eliminación de la, 521
 - intervalos de referencia, 223

Urea, (*cont.*)
 pacientes pediátricos, 663
 propiedades bioquímicas de la, 220
 sustancias que interfieren, 222-223

Uremia, 220

Urobilinógeno
 análisis de, 483-484
 función hepática, 478
 heces, 484
 orina, 484, 528

Uroporfirina (URO), 378

V

Vacuna contra hepatitis B, 487

Valencia, 7

Validación de PLA, 173

Valoración de la nutrición, 618-638
 ácidos grasos esenciales, 627-628
 composición corporal en, 632-633
 desnutrición, 618, 628-632
 edad avanzada, 652
 energía, 618
 índice creatinina/altura en, 632
 marcadores proteínicos en, 633-636
 albúmina, 634
 balance del nitrógeno, 635
 características ideales de, 634c
 factor-1 de crecimiento insulínico, 635
 fibronectina, 635
 interleucinas, 636
 proteína C-reactiva, 636
 proteína de unión con el retinol, 635
 transferrina, 634
 transtirretina, 634-635
 modificación del peso en, 632
 necesidades energéticas, 618
 nutrición parenteral total en, 636-638
 pruebas funcionales en, 633
 pruebas inmunológicas en, 632
 vitaminas en, 618-627

Valores de ensayo, 22

Vancomicina, 579-580

Vapores tóxicos, 40

Variación intraindividual, 49

Variaciones analíticas, 49

Variaciones interindividuales, 49

Vasodilatadores, 512, 513c

Vasopresina (*Véase* Hormona antidiurética)

Vasos, 10, 111, 15
 precipitados de Griffin, 10

Vello, púbico, 434

Velocidades
 aracnoideas, 561
 intestinales, 549

Velocidad de reacciones enzimáticas, 239-240

Vena porta, 476

Venenos, 588

Venipunción, 26-28, 657

Verde de bromocresol (VBC), 206, 207

VHA (virus de hepatitis A), 486

Viada media, de fármacos, 573, 574

Vías
 colesterol endógeno, 288, 289
 colesterol exógeno, 288-289

Emdben-Myerhof, 265, 266
 endógena de lípidos, 288, 289
 exógena de lípidos, 288-289
 transducción de señales, 605, 606
 transporte inverso de colesterol, 288, 289-290

Vigilancia de longitud de onda múltiple, 142

Vigilancia terapéutica de fármacos (VTF), 571-583
 absorción en la, 571-572
 aclaramiento metabólico en la, 574-575
 aclaramiento renal en la, 575
 antibióticos, 579-580
 antineoplásicos, 583
 aspectos toxicológicos, 597-598
 broncodilatadores, 582
 distribución de medicamentos en la, 572, 575
 edad avanzada, 651-652
 eliminación de fármacos en la, 572-575, 651-652
 farmacocinética en la, 575-576, 688c-689c
 fármacos cardioactivos, 577-579
 fármacos inmunosupresores, 582-583
 fármacos libres y unidos a otra sustancia, 572
 fármacos psicoactivos, 581-582
 indicaciones, 571
 medicamentos antiepilépticos, 580-581
 niveles máximo y mínimo, 575
 oscilación de régimen permanente, 575-576
 pacientes pediátricos, 671c, 672
 recolección de muestras para la, 576-577
 vías de administración en la, 571

Vigilancia transcutánea, 142, 355, 659

Virilización, 432

Virus de inmunodeficiencia humana (HIV), 159

Virus de la rubeola, 498

Virus y cardiopatía, 505

Vitamina
 A, 465, 619c, 620
 B₁ (tiamina), 619c, 622
 B₂ (riboflavina), 619c, 622-623
 B₃ (ácido pantoténico), 626
 B₆ (piridoxina), 619c, 623
 B₁₂, 619c, 624-625
 C (ácido ascórbico), 619c, 626
 D₃, 331, 332
 E, 6191, 620-621
 K, 619c, 622

Vitamina D, 621-622
 deficiencia de, 619c, 622
 función renal, 524
 hipervitaminosis D, 464
 hipovitaminosis D, 467
 mecanismo de acción, 459
 metabolismo del calcio, 458-460, 464
 raquitismo, 470, 618, 622
 síntesis de, 458, 459

Vitaminas liposolubles, 620-622
 síntomas de deficiencias, 619c
 vitamina A, 620
 vitamina D, 621-622
 vitamina E, 620-621
 vitamina K, 622

Vitaminas solubles en agua, 622-626
 ácido ascórbico, 626
 ácido pantoténico, 626
 biotina, 625-626
 carnitina, 626

folato, 623-624
 niacina, 623
 piridoxina, 623
 riboflavina, 622-623
 síntomas de deficiencia, 619c
 tiamina, 622
 vitamina B₁₂, 624-625

Vitaminas, 618-627 (*Véase también vitaminas específicas*)
 almacenamiento en el hígado, 479
 cantidades mínimas tolerables de, 626
 deficiencia/dependencia de, 618-619
 deficiencias de, 618-620
 determinaciones químicas de, 619-620
 dietas especiales, 627
 efecto de fármacos y anticonceptivos en, 627c
 factores que afectan el metabolismo de, 626-627
 solubles en agua, 619, 622-626
 solubles en grasas, 619, 620-622

VLDL (*Véase* Lipoproteínas de muy baja densidad)

Voltimetría de decaído anódico, 105

Volumen
 distribución de fármacos, 572
 orina, 526-527
 pipetas, 10-11
 sanguíneo, 316-317

VP (porfiria variegada), 379

VTF (*Véase* Vigilancia terapéutica de fármacos)

W

Western blot, 158-159

X

Xantocromia, 561
 Xantomas, 294
 Xenobiótica, 574

Y

Yodo
 hipotiroidismo, 446, 447
 terapia radiactiva, 452-453

Z

Zeitgeber, 401-402
 Zimógeno, 237
 Zona F, 414, 415, 418
 Zona fascicular, 414
 Zona G, 414, 415f, 416
 Zona glomerular, 414
 Zona R, 414, 415
 Zona reticular, 414
 ZPP (protoporfirina de cinc de eritrocito), 381, 383