CLIN12LAB

Libro de Sesiones de los Laboratorios Clínicos del
Hospital Universitario 12 de Octubre

Editores

Fernando Calvo Boyero

Olga Nerea Coya Linares

David Melero López

Ana Elena López Jiménez

SaludMadrid Hospital Universitario 12 de Octubre

Primera edición 2020

Editores de este volumen:

Fernando Calvo Boyero, Olga Nerea Coya Linares, David Melero López, Ana Elena López Jiménez

Publicado en España por:

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica

Hospital Universitario 12 de Octubre

Av. de Córdoba, s/n, 28041 Madrid (España)

Tlf: 913 90 80 00

https://www.comunidad.madrid/hospital/12octubre/profesionales/servicios-centrales/analisis-clinicos

https://www.comunidad.madrid/hospital/12octubre/profesionales/servicios-centrales/bioquimica-clinica

Imagen de Portada diseñada por Víctor Felipe Sanz Fernández

I.S.B.N.: 978-84-09-19792-7

Madrid (España), 2020

Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento – NoComercial – SinObraDerivada 4.0 Internacional.

CLIN12LAB

Libro de sesiones de los Laboratorios Clínicos del Hospital Universitario 12 de Octubre

1ª Edición

Editores

Fernando Calvo Boyero

Olga Nerea Coya Linares

David Melero López

Ana Elena López Jiménez

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre
Madrid (España)

LISTADO DE EDITORES

Fernando Calvo Boyero
Residente de Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid
Email: fernando.calvo@salud.madrid.org

David Melero López
Residente de Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid
Email: david.melero@salud.madrid.org

Olga Nerea Coya Linares
Residente de Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid
Email: olganerea.coya@salud.madrid.org

Ana Elena López Jiménez
Jefe de Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid
Email: elenaana.lopez@salud.madrid.org

LISTADO DE COLABORADORES

José Manuel Estrada Lorenzo
Bibliotecario
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Víctor Felipe Sanz Fernández
Diseñador Gráfico

LISTADO DE AUTORES

Enrique Albuerne Suárez
Residente de Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Alberto Blázquez Encinar
Especialista en Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Fernando Calvo Boyero
Residente de Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

José Miguel Comino Cáceres
Especialista en Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Olga Nerea Coya Linares
Residente de Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda
Especialista en Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

David Cuevas Gómez
Residente de Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Aitor Delmiro Magdalena
Especialista en Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Silvia Díaz Díaz
Especialista en Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Irene González Martínez
Residente de Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Adrián González Quintana
Especialista en Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Irene Hidalgo Mayoral
Especialista en Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

María Victoria Huertas García
Residente de Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Ilenia Liria González
Especialista en Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Ana Elena López Jiménez
Jefe de Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Miguel Ángel Martín Casanueva
Especialista en Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Isabel Meana Baldomir
Especialista en Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

David Melero López
Residente de Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

María Ángeles Orellana Miguel
Especialista en Microbiología Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Daniel Párraga García
Especialista en Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Raúl Recio Martínez
Especialista en Microbiología Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Jon Sánchez Munárriz
Residente de Bioquímica Clínica
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Diego Tuñón Le Poultel
Residente de Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

PRÓLOGO

Clin12Lab surge desde la dirección del Servicio de Bioquímica-Análisis Clínicos del Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid para recoger los contenidos formativos que se imparten en las sesiones internas del Servicio.

Se crea con la ilusión de divulgar a lo largo del tiempo, de manera amena y concisa, conocimientos y temas novedosos en el ámbito del Laboratorio Clínico. Los autores son residentes asesorados por sus tutores y especialistas de las diferentes secciones que constituyen el Servicio.

En esta primera edición se han dividido los contenidos en cuatro bloques. Por un lado, se han agrupado las sesiones cuyo contenido se incluye en el temario de la Especialidad, publicado en la Orden SCO/3252/2006, de 2 de octubre, en el Boletín Oficial del Estado (BOE); dichos contenidos se van actualizado según los avances en investigación y el asesoramiento de los diversos especialistas del Servicio. Estas sesiones desarrollan aspectos de uso habitual en la práctica clínica que van desde el diagnóstico de laboratorio del infarto agudo de miocardio a temas tan actuales como los nuevos biomarcadores en las enfermedades mitocondriales, ya que el Hospital es Centro de Referencia Nacional de Enfermedades Metabólicas Hereditarias.

En segundo lugar, se incluyen revisiones bibliográficas de diversos temas, que pasan por una completa revisión del abordaje diagnóstico del Mieloma Múltiple, o la aplicación de nuevas tecnologías de análisis de aire espirado para el diagnóstico de intolerancias alimentarias y sobrecrecimiento bacteriano.

En tercer lugar, se presenta la revisión de dos patologías a partir de casos clínicos: la sepsis y la polidipsia primaria.

Por último, esta edición finaliza con un bloque enfocado en los Procesos de Calidad del Laboratorio de acuerdo con la norma UNE-EN ISO 15189, de la que el hospital ha obtenido la acreditación casi completa de sus laboratorios recientemente.

Queremos agradecer a todos los autores que han participado en la elaboración de este documento su esfuerzo y dedicación con el proceso editorial. Asimismo, agradecer a los tutores del Servicio su asesoramiento en los capítulos redactados por los residentes. Y por último, agradecer a todos los profesionales del Servicio su compromiso y contribución a mantener viva la llama de nuestro Laboratorio.

El equipo editorial

ÍNDICE DE CONTENIDOS

BLOQUE I SESIONES DE TEMARIO DE LAS ESPECIALIDADES DE ANÁLISIS CLÍNICOS Y BIOQUÍMICA CLÍNICA 13

INTRODUCCIÓN A LA ENDOCRINOLOGÍA Y NEUROHIPÓFISIS. Autores: David Cuevas Gómez, Silvia Díaz Díaz 14

FUNCIÓN TIROIDEA. Autores: Fernando Calvo Boyero, Silvia Díaz Díaz 25

IMPORTANCIA DEL LABORATORIO EN LA FISIOPATOLOGÍA CARDIOVASCULAR. Autores: Jon Sánchez Munárriz, Ana Elena López Jiménez 31

NUEVOS BIOMARCADORES DE ENFERMEDAD MITOCONDRIAL. Autores: David Cuevas Gómez, Aitor Delmiro Magdalena 41

BLOQUE II SESIONES BIBLIOGRÁFICAS 48

MIELOMA MÚLTIPLE: REVISIÓN. Autor: Irene Hidalgo Mayoral 49

NOCIONES BASICAS DE SALUD PÚBLICA. Autor: Daniel Párraga García 57

ALTERACIONES GENÉTICO-MOLECULARES EN GENES NUCLEARES EN ENFERMEDADES MITOCONDRIALES. Autores: Adrián González Quintana, Alberto Blázquez Encinar, Miguel Ángel Martín Casanueva 68

PRUEBAS BIOQUÍMICAS EN EL DIAGNÓSTICO DE FEOCROMOCITOMA/ PARAGANGLIOMA. Autor: Silvia Díaz Díaz 76

DERRAME PLEURAL TUBERCULOSO: MARCADORES BIOQUÍMICOS EN EL ENFOQUE DIAGNÓSTICO. Autores: María Victoria Huertas García, José Miguel Comino Cáceres 83

CISTATINA C. Autores: Irene González Martínez, Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda 90

ANÁLISIS DE LCR DESDE EL LABORATORIO DE URGENCIAS. CASOS PRÁCTICOS. Autores: Enrique Albuerne Suárez, Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda 95

CRIBADO TOXICOLÓGICO DE DROGAS DE ABUSO. Autores: Fernando Calvo Boyero, Ana Elena López Jiménez 100

TEST DEL HIDRÓGENO ESPIRADO. Autores: Olga Nerea Coya Linares, Aitor Delmiro Magdalena 105

BLOQUE III CASOS CLÍNICOS 111

CASO CLÍNICO: SEPSIS EN SENO DE NEUMONIA NEUMOCÓCICA. Autores: Diego Tuñón Le Poultel, Raúl Recio Martínez, María Ángeles Orellana Miguel, José Miguel Comino Cáceres 112

POTOMANÍA: LA OBSESIÓN POR BEBER AGUA. Autores: David Melero López, Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda 120

BLOQUE IV CALIDAD DEL LABORATORIO NORMA UNE-EN ISO 15189 124

UNE-EN ISO 15189: INSTALACIONES Y CONDICIONES AMBIENTALES. EQUIPOS DE LABORATORIO, REACTIVOS Y MATERIALES FUNGIBLES. Autores: Isabel Meana Baldomir, Daniel Párraga García 125

UNE-EN ISO 15189: PERSONAL. Autores: Diego Tuñón Le Poultel, Daniel Párraga García 131

UNE-EN ISO 15189: PROCESOS PREANALÍTICOS. Autores: Irene Hidalgo Mayoral, Daniel Párraga García 135

UNE-EN ISO 15189: PROCESOS ANALÍTICOS. Autores: Olga Nerea Coya Linares, Daniel Párraga García 138

UNE-EN ISO 15189: PROCESOS POSTANALÍTICOS. Autores: David Melero López, Daniel Párraga García 146

UNE-EN ISO 15189: RESOLUCIÓN DE RECLAMACIONES. NO CONFORMIDADES. EVALUACIÓN Y AUDITORIAS. Autores: Ilenia Liria González, Daniel Párraga García 149

UNE-EN ISO 15189: ACCIONES CORRECTIVAS Y ACCIONES PREVENTIVAS. OBJETIVOS DE CALIDAD Y MEJORA CONTINUA. CONTROL DE LOS REGISTROS. Autores: María Victoria Huertas García, Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda 155

BLOQUE I

SESIONES DE TEMARIO DE LAS ESPECIALIDADES DE ANÁLISIS CLÍNICOS Y BIOQUÍMICA CLÍNICA

INTRODUCCIÓN A LA ENDOCRINOLOGÍA Y NEUROHIPÓFISIS

Autores: David Cuevas Gómez, Silvia Díaz Díaz

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Endocrinología, hormonas, neurohipófisis, ADH.

1. Hormonas:

Las hormonas son sustancias producidas por una glándula o célula endocrina hacia el medio interno. Las hormonas se transportan a través del torrente sanguíneo y hacen su efecto en determinados órganos o tejidos diana.

❖ 1.1. Estructura química y proceso de síntesis:

Las hormonas se pueden clasificar en base a su naturaleza química en 3 grandes grupos (Figura 1):

- PROTEÍNAS, POLIPÉPTIDOS Y GLUCOPROTEÍNAS:

La mayoría de las hormonas perteneces a este grupo. Algunas de ellas son la vasopresina, la hormona del crecimiento, la TSH o el cortisol. Estas hormonas se sintetizan en los ribosomas del retículo endoplasmático rugoso y se almacenan en vesículas secretoras hasta que se necesitan. En general suelen sintetizarse como preprohormonas, que se escinden en el retículo endoplasmático a prohormonas y finalmente, en el aparato de Golgi se convierten en hormonas tras procesos de proteólisis y/o de glicosilación. Estas hormonas son hidrosolubles.

- ESTEROIDES:

Estas hormonas son secretadas por la corteza suprarrenal, ovarios, testículos y placenta, la gran mayoría son derivados del colesterol. No se almacenan ya que al ser liposolubles difunden a través de la membrana celular para llegar a la sangre.

- DERIVADOS DE AMINOÁCIDOS:

Pueden ser derivados de la tirosina como la tiroxina y triyodotironina secretadas por la glándula tiroidea o la adrenalina, noradrenalina y dopamina secretadas por la médula adrenal. También pueden derivar del triptófano como la melatonina secretada por la glándula pineal. Pueden ser hidrosolubles o liposolubles.

Figura 1. Clasificación de las hormonas según su naturaleza química. Imagen obtenida de: https://es.slideshare.net/JannyLaurean/clasificacion-qumica-de-las-hormonas-15979213/

1.2. Secreción y transporte:

El efecto de las hormonas puede ser inmediato o duradero, pero en cualquier caso, los niveles de las hormonas están controladas fundamentalmente por mecanismos de retroalimentación. En la mayoría de los casos las hormonas inhiben de forma directa su propia síntesis y secreción mediante un mecanismo de retroalimentación negativa.

Las hormonas endocrinas tienen una vida media, una velocidad y un ritmo de secreción propios y característicos que cambian a lo largo del día para adaptarse a las necesidades habituales del organismo. Por ejemplo, algunas se secretan de forma mayoritaria por las mañanas siguiendo un ritmo circadiano diurno (como el cortisol), otras se secretan fundamentalmente por la noche (como la hormona del crecimiento) y otras se secretan únicamente en determinados estados fisiológicos como es el caso de gonadotropina coriónica humana durante las primeras etapas del embarazo.

Las hormonas actúan a concentraciones muy pequeñas dado que una ínfima cantidad es capaz de generar respuestas notablemente intensas.

En cuanto al transporte, mientras que las hormonas peptídicas y las catecolaminas se transportan libres en sangre gracias a su carácter hidrosoluble, las hormonas esteroideas y tiroideas al ser liposolubles se transportan fundamentalmente unidas a proteínas plasmáticas (Tabla 1) aunque ejercen su acción cuando se encuentran en su forma libre. Por tanto, se va a establecer un equilibrio entre la cantidad de hormona libre y la unida a las proteínas transportadoras.

Transportador	**Hormona transportada**
Globulina fijadora de tiroxina (TBG) y transtiretina	Tiroxina (T4) y triyodotironina (T3)
Transcortina	Cortisol, aldosterona y progesterona
Globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG)	Testosterona y estradiol
Albúmina	Testosterona, estradiol, T4, T3, cortisol, aldosterona y progesterona

Tabla 1. Principales hormonas liposolubles y sus proteínas transportadoras.

- 1.3. Determinación de los niveles de hormonas:

El análisis de una patología vinculada con la alteración de la función endocrina va unida a la determinación de los niveles de hormonas. En el análisis de los niveles hormonales se deben tener en cuenta distintos aspectos:

En primer lugar, la estabilidad de las hormonas. Pequeñas hormonas peptídicas como la ACTH necesitan que las muestras se mantengan en hielo y en presencia de EDTA para evitar su degradación por parte de distintas peptidasas.

Otro aspecto a tener presente es el ritmo de secreción. En el caso de que la hormona presente un ritmo de secreción circadiano, se debe recoger la muestra en una determinada franja horaria para la cual se disponga de valores de referencia. De lo contrario, no se puede interpretar adecuadamente los niveles hormonales.

En el caso de que la hormona presente una secreción pulsátil, se deben recoger varias muestras espaciadas en el tiempo o determinar los niveles de la hormona tras aplicar al paciente un estímulo que estimule la liberación de la hormona.

Además, de estos dos aspectos, cuando se desea explorar la funcionalidad de un determinado eje, en algunos casos será necesario determinar simultáneamente varias hormonas del mismo eje (como por ejemplo las hormonas trópicas y las hormonas efectoras).

Por último, otra forma útil de estudiar el sistema endocrino consiste en aplicar al paciente pruebas de estímulo o test de supresión para valorar la capacidad de la glándula endocrina o del eje para responder a este estímulo externo.

La cuantificación de los niveles de la mayoría de las hormonas se realiza empleando técnicas basadas en inmunoquímica. En estas técnicas se utilizan anticuerpos monoclonales capaces de reconocer una región de la hormona conocida con el nombre de epítopo. La cuantificación se realiza gracias a que estos anticuerpos se encuentras unidos a distintos compuestos como moléculas fluorescentes, isotopos radiactivos, enzimas o átomos de rutenio.

2. Fisiología del eje hipotálamo-hipófisis-glándula efectora:

- 2.1. Hipotálamo:

El hipotálamo es una pequeña región nuclear que forma parte del diencéfalo y se sitúa por debajo del tálamo, en la base del cerebro. El hipotálamo desempeña múltiples funciones. Por un lado, participa en la regulación del sistema cardiovascular controlando la regulación de la presión arterial y la frecuencia cardiaca. El hipotálamo también es el encargado de regular la temperatura corporal y la fiebre. Concretamente, en el hipotálamo anterior se encuentra un conglomerado de neuronas termosensibles que controlan la temperatura corporal normal así como el inicio del fenómeno febril. A esta zona se la conoce como el centro termorregulador principal.

Otra de las funciones del hipotálamo es la regulación del agua corporal. El hipotálamo regula el agua corporal por dos mecanismos: por un lado, originando la sensación de sed y por otro lado, controlando la excreción de agua en la orina. Cuando se eleva la concentración de electrolitos en sangre (es decir, aumenta la osmolaridad), se estimulan los osmorreceptores hipotalámicos y como resultado se activa la sensación de sed, que incita a beber agua. Por otro lado, las neuronas del núcleo supraóptico del hipotálamo van a liberar la hormona antidiurética o ADH o vasopresina a nivel de la neurohipófisis incrementando la reabsorción de agua a nivel de los túbulos colectores renales. El hipotálamo también participa en la regulación del apetito ya que en esta región del cerebro se localizan los centros del hambre y la saciedad.

Por último, el hipotálamo desempeña importantes funciones endocrinas ya que, por un lado, controla la secreción de hormonal de la neurohipófisis. La vasopresina y la oxitocina son sintetizadas en el hipotálamo en el núcleo supraóptico y paraventricular respectivamente. Posteriormente, estas hormonas son transportadas a través de los axones de estas neuronas hasta la neurohipófisis donde se almacenan. Ante determinaos estímulos generados en el hipotálamo, estas hormonas van a ser liberadas a la sangre al nivel de la neurohipófisis.

Por otro lado, el hipotálamo controla la secreción hormonal de la adenohipófisis a través de hormonas estimuladoras o inhibidoras sintetizadas en el hipotálamo. Estas hormonas, llegan a la adenohipófisis a través de los vasos sanguíneos porta hipotalámicos-hipofisarios. Algunas de estas hormonas son: GHRH, TRH, CRH, GnRH, etc.

- 2.2. Hipófisis:

La hipófisis también denominada glándula pituitaria tiene un tamaño de 1 cm de diámetro y está situada en la silla turca. Permanece unida al hipotálamo por el tallo hipofisario. Está constituida por un lóbulo anterior o adenohipófisis, un lóbulo posterior o neurohipófisis separados por una zona denominada “pars intermedia” donde se secreta la hormona estimulante de melanocitos (MSH) que solo es funcional en la etapa fetal y la *pars tubelaris* (o *infundibularis*) que constituye una pequeña cantidad de parénquima hipofisario próxima al tallo hipofisario.

En la adenohipófisis o hipófisis anterior, tiene lugar la síntesis, almacenamiento y liberación de seis hormonas de naturaleza proteica: GH, prolactina, TSH, ACTH, FSH y LH. La mayoría de estas hormonas hipofisarias ejercen sus efectos principales mediante la estimulación de las glándulas efectoras: (glándula mamaria, tiroides, corteza suprarrenal, ovario o testículo) las cuales a su vez, van a secretar otra hormona que originará una respuesta por parte de distintos tejidos diana. Sin embargo, la hormona del crecimiento y la prolactina, ejercen un efecto directo sobre distintos tejidos del organismo, sin necesidad de actuar primero sobre otra glándula.

En la neurohipófisis tiene lugar la secreción de dos hormonas peptídicas sintetizadas en el hipotálamo: la oxitocina y la vasopresina. La neurohipófisis consta de tres partes: la eminencia media del *tuber cinérum*, el tallo infundiular o tallo hipofisario y el lóbulo neural o posterior o prolongación infundibular.

La hipófisis está íntimamente relacionada con el hipotálamo a través de una conexión nerviosa y una conexión vascular. La conexión nerviosa está constituida por los axones de las neuronas del núcleo supraóptico y paraventricular.

En cuanto a la conexión vascular, la arteria hipofisaria superior (que nutre a la hipófisis y al hipotálamo) recoge las hormonas del hipotálamo para posteriormente, ramificarse en numerosos capilares en la eminencia media formando así el plexo capilar primario. Después, estos capilares confluyen en los vasos portales que se dirigen a la adenohipófisis donde se formará de nuevo un plexo capilar (secundario) que finalmente culmina en unas venas que salen a la circulación general.

Estas conexiones, permiten que el hipotálamo controle la secreción de hormonas hipofisarias a través de señales hormonales o nerviosas.

- 2.3. Regulación del eje:

La producción de hormonas por el hipotálamo, la hipófisis y los órganos diana está muy regulada por un mecanismo de retroalimentación negativa.

Las hormonas sintetizadas por las glándulas periféricas (por ejemplo, el cortisol en la corteza suprarrenal) inhiben la secreción de hormonas a nivel hipotalámico y a nivel hipofisario. Por ejemplo: el cortisol inhibe la liberación de CRH por parte del hipotálamo y de ACTH por la hipófisis. A este mecanismo de regulación se le conoce con el nombre de asa larga.

Del mismo modo que en el caso anterior, la hormona liberada por la hipófisis inhibe la liberación de hormonas hipotalámicas. Siguiendo con el ejemplo anterior: la ACTH inhibe la liberación de CRH por parte del hipotálamo. Este segundo mecanismo de control se suele denominar asa corta.

Por último, las propias hormonas hipotalámicas van a inhibir su regulación. Por ejemplo, la CRH liberada por el hipotálamo va a inhibir la liberación de más CRH.

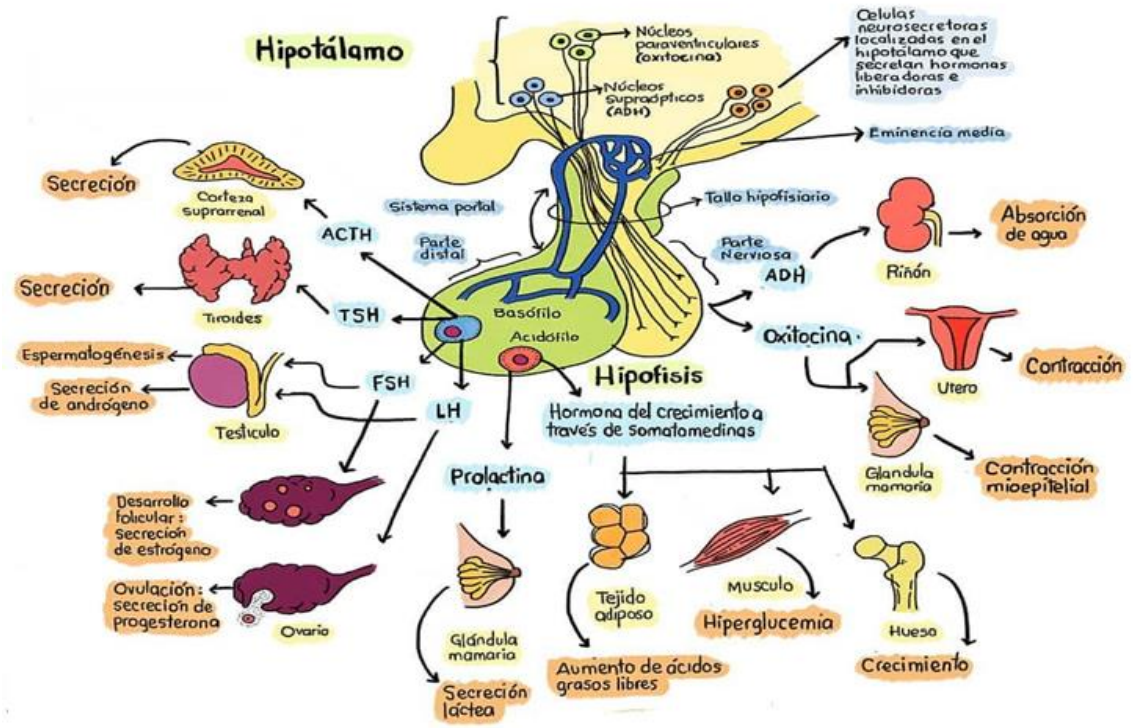


Figura 2. Esquema de la fisiología del eje hipotálamo-hipófisis**.** Imagen obtenida de: https://www.pinterest.es/pin/662873638882808409/

3. Hormonas secretadas por la neurohipófisis:

- 3.1. Oxitocina:

Esta hormona de naturaleza proteica constituida por 9 aminoácidos presenta una estructura similar a la vasopresina y se sintetiza en el núcleo paraventricular del hipotálamo ejerciendo su acción a dos niveles. A nivel del útero actúa sobre las células del miometrio favoreciendo las contracciones durante el parto.

También actúa a nivel de la glándula mamaria, concretamente sobre las células mioepiteliales favoreciendo la eyección de la leche durante la lactancia. Esta acción es consecuencia de un reflejo neuroendocrino de succión cuyo estímulo se inicia en los receptores táctiles localizados en los alrededores del pezón.

Aunque estas son las dos funciones más claras de la oxitocina, se han realizado numerosos estudios que le aportan a la oxitocina distintas funciones potenciales. Por ejemplo, dado que se han identificado niveles más elevados de oxitocina en el suero de los humanos tras el orgasmo, la oxitocina se ha ganado el nombre de hormona del amor e incluso se ha postulado que podría estar involucrada en el establecimiento de lazos afectivos con la pareja.

En otro estudio realizado sobre el autismo se observaron niveles más reducidos de oxitocina en la sangre de los niños autistas con respecto a controles sanos por lo que también se ha postulado que esta hormona podría estar involucrada en la fisiopatología del autismo.

Otros trabajos indican que la administración de oxitocina aumenta el nivel de confianza en uno mismo reduciendo el miedo social, incrementa la generosidad, reduce el desarrollo de tolerancia a ciertas drogas...

Sin embargo, todas estas funciones a día de hoy no están aceptadas por la mayoría de la comunidad científica debido a que no existen evidencias sólidas que permita atribuirles tantas funciones a la oxitocina. La contracción de la musculatura uterina y la eyección de la leche materna son las únicas dos funciones de la oxitocina que son ampliamente aceptadas.

- 3.2. Vasopresina:

La hormona antidiurética o ADH o vasopresina es una hormona de naturaleza proteica constituida por nueve aminoácidos que presenta una estructura similar a la de la oxitocina. Su función principal es reducir la excreción del agua en la orina (efecto antidiurético) regulando así el equilibrio hídrico y la osmolaridad. Esta acción la ejerce al unirse a los receptores V2 localizados en el túbulo contorneado distal y en los conductos colectores de la neurona. La activación de estos receptores promueve la expresión de unas proteínas denominadas acuaporinas que potencian la reabsorción tubular de agua desde la luz tubular hasta el intersticio medular.

La vasopresina también puede unirse a los receptores V1 localizados en los vasos sanguíneos. Estos receptores están acoplados a una proteína Gs que media la activación de la adenilato ciclasa y la generación de AMP cíclico intracelular. La activación de estos receptores va a generar vasoconstricción.

El principal estímulo para la liberación de ADH es el aumento de la osmolaridad plasmática. Los osmorreceptores hipotalámicos son muy sensibles al incremento de la osmolaridad plasmática de modo que pequeños aumentos estimulan la liberación de ADH. La disminución del volumen plasmático también estimula la secreción de ADH. Este fenómeno es detectado por receptores de volumen ubicados en las venas pulmonares y en la aurícula izquierda. La hipotensión detectada por los barorreceptores carotídeos y aórticos también estimula la liberación de ADH. Ciertos fármacos como la morfina, la nicotina o la carbamacepina inducen la liberación de vasopresina mientras que otros como el etanol la inhiben. Por último, también se ha comprobado que la angiotensina II estimula la liberación de ADH.

4. Patologías relacionadas con la vasopresina:

- 4.1. Diabetes insípida:

La diabetes insípida es una enfermedad producida por un déficit de vasopresina o por una baja respuesta a esta hormona. Debido a cualquiera estos dos fenómenos, los túbulos colectores del riñón pierden la capacidad para concentrar la orina lo que explica la gran producción de orina diluida y la hipernatremia que presentan estos pacientes.

Los pacientes presentan un incremento de la osmolaridad plasmática. Este aumento de la osmolaridad plasmática estimula los osmorreceptores hipotalámicos implicados en la sensación de sed, de modo que

los pacientes suelen referir la ingesta de grandes cantidades de agua. El volumen extracelular de estos pacientes suele ser normal dado que compensan las pérdidas de agua con la ingesta de más líquidos. Sin embargo, en algunas ocasiones se puede encontrar un volumen extracelular reducido, en estos casos los pacientes presentan más signos de deshidratación.

- 4.1.1. TIPOS DE DIABETES INSÍPIDA:

Existen dos tipos fundamentales de diabetes insípida:

La diabetes insípida central (o neurogénica o hipotalámica) se caracteriza por un déficit de vasopresina. Obedece a una lesión hipotalámica o hipofisaria de cualquier etiología (ya sea tumoral, vascular, infecciosa, autoinmune…) que afecte al núcleo supraóptico del hipotálamo, el tallo hipofisario o la neurohipófisis impidiendo, en cualquier caso, la liberación de la ADH a la circulación sanguínea. Aunque la mayoría de los casos de diabetes insípida central se deben a una causa adquirida, en torno a un 5% del total de casos se deben a una causa genética. La diabetes insípida familiar es una enfermedad autosómica dominante originada por una mutación en el gen de la vasopresina que impide su correcto plegamiento, como consecuencia de esto, la mayor parte de la ADH se degrada y solo una pequeña cantidad se secreta. La enfermedad se manifiesta durante los primeros años de vida con poliuria e hipernatremia. Frente a esta forma familiar de diabetes insípida aislada, el síndrome de Wolfram o DIDMOAD es un trastorno neurodegenerativo muy raro, de carácter autosómico recesivo que cursa con diabetes insípida central (DI), diabetes mellitus (DM), atrofia óptica (OA) y sordera (D). La mayor parte de estos casos se han asociado con mutaciones en el gen *WFS1* localizado en el cromosoma 4 que codifica la proteína WFS1 o wolframina implicada en múltiples funciones celulares como el tráfico de membrana o la homeostasis del calcio intracelular. Estos pacientes suelen desarrollar diabetes insípida en la segunda década de vida.

La diabetes insípida nefrogénica es una alteración renal caracterizada por dificultad para concentrar la orina secundaria a la resistencia renal a la hormona antidiurética. Las causas de la diabetes insípida nefrogénica pueden ser congénitas o adquiridas. La causa más común de diabetes insípida nefrogénica de carácter congénito se debe a una mutación en los receptores V2, esta mutación origina que se disminuya la afinidad de éstos por la vasopresina. Este gen se encuentra ubicado el cromosoma X por lo que se trata de una enfermedad ligada al sexo. Con menos frecuencia la diabetes insípida nefrogénica puede ser causada por mutaciones en el gen de la acuaporina y en estos casos la herencia es autosómica dominante o recesiva, dependiendo de la mutación. Los síntomas en la diabetes insípida nefrogénica suelen aparecer en la primera semana de vida. Las formas adquiridas de la diabetes insípida nefrogénica pueden ser secundarias a la administración de fármacos como el litio o pueden estar causada por algún tipo de alteración metabólica como la hipercalcemia o hipopotasemia.

- 4.1.2. DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE DIABETES INSÍPIDA:

El diagnóstico de la diabetes insípida (Figura 3) parte de una anamnesis detallada. Es fundamental solicitar al paciente que mida el volumen de la orina durante 24 horas. Una vez confirmada la poliuria se debe reinterrogar al paciente. La presencia de nicturia orienta hacia diabetes insípida mientras que la ausencia de la misma junto con ciertos rasgos psicológicos anormales suelen apuntar hacia una potomanía. El diagnóstico diferencial se debe realizar comparando la diabetes insípida con la diabetes mellitus, a este respecto es fundamental determinar la glucemia y glucosuria así como la natremia (esto último más con fines terapéuticos para comprobar el estado de hidratación del paciente). En el caso de que los niveles de glucosa sean normales en suero y en orina se debe determinar la concentración de sodio en la orina, una concentración de sodio inferior a 20 mEq/L, junto con leve hipernatremia, poliuria con nicturia apuntan hacia una probable diabetes insípida.

Para confirmar el diagnóstico de diabetes insípida se suele realizar un test de restricción hídrica o de deshidratación (Tabla 2). Esta prueba debe realizarse con el paciente ingresado y durante el tiempo que dure la prueba (nunca se superarán las 17 horas) el paciente no podrá ingerir ningún líquido. Durante la prueba se medirá la producción de orina, la concentración de electrolitos en sangre y orina, la presión arterial, la frecuencia cardiaca y el peso del paciente. La prueba se interrumpirá si el paciente pierde un 5% de su peso corporal, la osmolaridad urinaria se estabiliza tras tres determinaciones o supera los 580 mOsm/Kg, la osmolaridad plasmática se eleva por encima de 305 mOsm/Kg o se detecta una natremia superior a 148 mEq/L. Una vez interrumpida la prueba se le suministra al paciente desmopresina (un análogo de la ADH).

En un individuo sano, la osmolaridad de la orina va aumentando con el tiempo. Además, la administración de desmopresina al finalizar la prueba no implica ninguna diferencia dado que el organismo ha actuado de forma correcta secretando ADH para concentrar la orina y reabsorber el agua disponible.

En un paciente con diabetes insípida, la osmolaridad de la orina no varía durante la prueba. Tras la administración de desmopresina, los pacientes con diabetes insípida central responden concentrando la orina, de modo que la osmolaridad en esta aumenta. Sin embargo, aquellos que padezcan diabetes insípida nefrogénica, no experimentarán ninguna modificación y su orina seguirá presentando una baja osmolaridad.

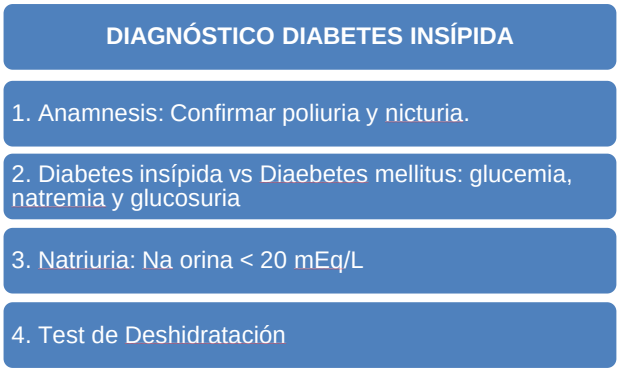


Figura 3. Algoritmo diagnóstico de diabetes insípida.

Osmolaridad urinaria	Post restricción hídrica	Post desmopresina	Diagnóstico
mOsm/Kg	<300	>850 o incremento del 50%	DIC
mOsm/Kg	<300	<300	DIN

Tabla 2. Interpretación del test de restricción hídrica. DIC: Diabetes Insípida Central; DIN: Diabetes Insípida Nefrogénica.

Una vez establecido el diagnóstico de diabetes insípida, en el caso de que esta sea de origen central se suele realizar una resonancia magnética nuclear con el objetivo de visualizar la hipófisis mientras que en la diabetes insípida nefrogénica se suele recurrir a la historia del paciente o a pruebas complementarias (determinación de niveles de litio, potasio, calcio…). De no encontrarse ninguna causa adquirida y en el caso de que los pacientes sean jóvenes, se suele sospechar de una causa genética.

El tratamiento de la diabetes insípida central consiste en suministrarle al paciente desmopresina (un análago de la ADH). En el caso de la diabetes insípida nefrogénica, no existe ningún tratamiento del todo eficaz y se les suele recomendar a los pacientes que incrementen su ingesta hídrica para evitar la deshidratación.

- 4.1.3. CASO CLÍNICO 1:

Mujer de 47 años que acude a urgencias por astenia y polidipsia. No presenta antecedentes clínicos de interés y refiere que desde hace un mes y medio presenta una intensa polidipsia (bebe más de 6 litros de agua al día) y poliuria (la paciente refiere que su diuresis diaria es de unos 5 L). También dice presentar astenia intensa y calambres musculares en los miembros inferiores. En la exploración solo destaca cierta sequedad cutáneomucosa.

Se le extrae una analítica de urgencias en la que se observan niveles normales de glucosa en suero (92 mg/dL) con una marcada hipernatremia (156 mEq/L) y el sistemático de orina descarta la presencia de glucosuria. Sin embargo, la orina presenta una concentración de sodio de 18 mEq/L.

Ante estos hallazgos se sospecha de una posible diabetes insípida por lo que se procede a ingresar a la paciente en el servicio de Endocrinología.

En planta se reinterroga a la paciente que afirma presentar nicturia (levantándose por la noche entre 6-8 veces a orinar) y haber perdido 3 kg de peso en el último mes por pérdida de apetito y dificultad para tragar probablemente por una reducida producción de saliva. Una vez en planta se le realiza un análisis de orina de 24 horas con una diuresis diría de 4 L y una concentración de sodio de 17 mEq/L. Ante estos resultados se decide someter a la paciente a un test de deshidratación para confirmar el diagnóstico. Los resultados se recogen en Tabla 3.

Tiempo	Peso (Kg)	TA (mmHg)	FC (lpm)	OsmO (mOsm/Kg)	OsmS (mOsm/Kg)	Na S(mEq/L)
Basal	59,7	97/52	66	84	289	145
1ª Hora	59,5	96/61	76	107	289	141
2ªHora	59,4	81/56	84	120	292	146
3ºHora	59,05	88/60	82	132	294	149
Tras ADH	58,2	105/63	87	438	298	147

Tabla 3. Resultados del test de deshidratación del primer caso clínico. TA: Tensión Arterial; FC: Frecuencia Cardiaca; LPM: latidos por minuto; OsmO: Osmolaridad urinaria; OsmS: Osmolaridad en suero, NaS: natremia.

A la tercera hora se detectó una natremia superior a 148 mEq/L por lo que se puso fin a la prueba. Como se observa en los resultados, la osmolaridad en orina no varió durante la prueba y siempre fue inferior a 300 mOsm/Kg por lo que los resultados son compatibles con diabetes insípida. Entonces, se administró a la paciente desmopresina para identificar el tipo de diabetes insípida. La osmolaridad en orina se incrementó más del 50% tras suministrar el fármaco por lo que se trata de una diabetes insípida central.

Una vez establecido el diagnóstico de diabetes insípida central se decide realizar una resonancia magnética nuclear de la hipófisis para identificar la causa. En la resonancia se observa un marcado engrosamiento del tallo hipofisario sugerente de lesión infiltrativa. Además, también se realiza un PET-TAC que no muestra un incremento de la actividad metabólica ni en el tallo hipofisario ni en ninguna otra región del cerebro por lo que se descarta la presencia de un tumor.

Teniendo presente todos estos datos, se sospecha que la etiología del proceso podría ser una hipofisitis autoinmune por lo que se decide poner a la paciente en tratamiento con desmopresina (1 comprimido por la noche) para su diabetes insípida y con glucocorticoides para la posible hipofisitis (1 comprimido de prednisona de 30 mg cada 8 horas durante 7 días y luego un único comprimido por las mañanas). Un mes después se realiza un control analítico en el que se observa un sodio en suero de 141 mEq/L y en orina de 172 mEq/L y una osmolaridad urinaria de 746 mOsm/Kg. La paciente refiere una gran mejoría de la sensación de sed y del volumen urinario. Se decide mantener el tratamiento.

Tres meses después se le realiza una nueva resonancia magnética nuclear de la hipófisis en la que se observa una disminución significativa del tallo hipofisario por lo que se inicia pauta descendente de glucocorticoides.

Un año después de la última consulta la resonancia magnética revela un tallo hipofisario normal por lo que se decide realizar un control analítico suspendiendo la toma de desmopresina la noche anterior a la extracción. La concentración de sodio plasmático fue de 143 mEq/L con una osmolaridad de 290 mOsm/Kg. La orina presentó una osmolaridad de 270 mOsm/Kg. Ante estos resultados y las preferencias de la paciente (que refiere levantarse a orinar unas 5 veces por la noche si no toma el fármaco) se decide mantener el tratamiento con desmopresina de forma crónica y realizar controles anuales.

- CASO CLÍNICO 2:

Varón de 74 años hipertenso y diagnosticado de trastorno bipolar y en tratamiento con litio desde hace años, refiere presencia desde aproximadamente 2 años de polidipsia y poliuria con una diuresis de unos 3L diarios con nicturia que le impide el descanso, también presenta sequedad de mucosas. En los últimos dos

meses acusa un marcado empeoramiento del cuadro y es remitido desde su centro de salud a consultas de endocrinología para estudio de posible diabetes insípida.

En la analítica realizada antes de la consulta se observa un sodio de 150 mEq/L, un calcio de 11 mg/dL y una creatinina de 1,3 mg/dL sin más alteraciones. También se le solicita una analítica de orina de 24 horas con una diuresis de 4L se objetiva una osmolaridad de 141 mOsm/Kg. Ante estos resultados y tras observarse niveles normales de glucosa se decide ingresar al paciente para la realización de un test de deshidratación. Los resultados se recogen en la Tabla 3:

Tiempo	OsmO (mOsm/Kg)	OsmS (mOsm/Kg)	Na S(mEq/L)
Basal	193	292	142
1ª Hora	138	296	141
2ªHora	157	296	142
3ºHora	135	298	145
Tras ADH	171	301	145

Tabla 4. Resultados del test de deshidratación del segundo caso clínico. OsmO: Osmolaridad urinaria; OsmS: Osmolaridad en suero, NaS: natremia.

A la tercera hora ya se disponía de tres determinaciones de osmolaridad urinaria inferiores a 300 mOsm/Kg por lo que se consideró que la osmolaridad urinaria ya se había estabilizado y se puso fin a la prueba. Estos resultados ya eran compatibles con diabetes insípida, sin embargo, la administración de desmopresina no supuso una gran variación de la osmolaridad en orina por lo que se estableció el diagnóstico de diabetes insípida nefrogénica.

Revisando la historia del paciente se comprueba que el paciente está en tratamiento con litio desde hace varios años, además también presenta hipercalcemia y cierta insuficiencia renal (creatinina de 1.3) por lo que se deriva a Nefrología. El nefrólogo recomienda suspender el tratamiento con indapamida que eleva la litemia y puede ser el responsable de la disminución del filtrado glomerular y de la diabetes insípida.

Tres meses tras la suspensión de indapamida, los niveles de sodio en sangre se normalizaron y la sintomatología de diabetes insípida remitió.

- 4.2. Síndrome de secreción inadecuada de ADH (SIADH):

El síndrome de hipersecreción inapropiada de ADH o síndrome de Schwarz-Bartter es una enfermedad caracterizada por hiponatremia, hipoosmolaridad plasmática e hipernatriuria producida por un exceso de liberación de ADH que origina una desmesurada retención de agua a nivel renal. En esta patología, la secreción de ADH no va a estar controlada por los niveles de osmolaridad de modo que va a existir una expresión constitutiva de ADH con dos posibles orígenes: la neurohipófisis o un foco ectópico. La hiponatremia severa puede originar cambios del estado mental, convulsiones o incluso el coma. Aproximadamente un tercio del total de las hiponatremias están causadas por el SIADH. Ante una hiponatremia se debe medir la osmolaridad plasmática, en el caso de que esta sea baja se puede descartar la pseudohiponatremia causadas por hiperglucemia, hiperlipemia e hiperproteinemia.

El SIADH se caracteriza por una hiponatremia normovolémica pero existen otras patologías que también comparten estas dos características como: el hipotiroidismo o la polidipsia primaria.

Los criterios diagnósticos del SIADH incluyen: osmolaridad plasmática baja, elevada osmolaridad en orina, euvolemia, natriuria elevada y la ausencia de otras causas de hiponatremia

Una vez establecido el diagnóstico de SIADH se debe investigar la causa subyacente, En primer lugar, se debe estudiar si el exceso de ADH procede de la neurohipófisis o de un foco ectópico. Para ello, se suele recurrir en primer lugar a técnicas de imagen como la resonancia magnética nuclear para estudiar el estado de la hipófisis o el TAC de tórax dado que la causa más común de la producción ectópica de ADH es un tumor de pulmón.

El tratamiento del SIADH consiste en reducir la ingesta de fluidos y en casos graves se puede administrar al paciente suero salino hipertónico.

- 4.2.1. CASO CLÍNICO:

Mujer de 86 años de edad que fue trasladada al hospital tras sufrir una caída. Refiere que desde hace una semana se sentía inestable y sufría pérdidas de equilibrio. Durante la exploración, no presentó alteraciones neurológicas y sus constantes vitales eran buenas. En su historia clínica destacan los siguientes hallazgos: osteoporosis, hipertensión, reflujo gastroesofágico y depresión.

Su tratamiento habitual consiste en: escitalopram, telmisartán, oxicodona, oxibutinina, simvastatina, pregabalina, omeprazol y denosumab. La analítica de urgencias mostró hiponatremia severa 118 mEq/L e hipoosmolar (264 mOsm/Kg) acompañada de hipernatriuria con elevada osmolaridad en orina, sin otras alteraciones.

Se procede al ingreso de la paciente para descartar otras causas de hiponatremia. El perfil tiroideo fue normal, la paciente no tomaba diuréticos y parecía soportar bien la restricción hídrica establecida como tratamiento, por lo que finalmente, se le diagnosticó de SIADH.

Posteriormente, se investigaron las causas subyacentes realizando una resonancia magnética que mostró una hipófisis de tamaño normal y un PET-TAC que no reveló zona con altas tasas metabólica compatibles con la presencia de un tumor. Entonces, se procedió a revisar la historia clínica de la paciente y se comprobó que el escitalopram puede producir un incremento de la liberación de ADH.

Tras 24 horas de restricción de líquidos, los niveles de sodio en suero fueron de 128. 48 horas tras el ingreso se normalizaron y se le dio el alta a la paciente con la suspensión del escitalopram.

Neurosurgical or neurological – increased ADH release:
- Guillain-Barré syndrome
- Subarachnoid haemorrhage
- Subdural haemorrhage

Infective – increased ADH release:
- Meningitis
- Encephalitis
- Abscesses
- Human immunodeficiency virus
- Sarcoidosis

Respiratory – increased ADH release:
- Tuberculosis
- Pneumonia
- Pneumothorax
- Atelectasis
- Asthma

Medications – increased ADH release:
- Antidepressants (eg sertraline)
- Anticonvulsants (eg carbamazepine, leveteiracetam)
- Antipsychotics (eg haloperidol)
- Anti-inflammatory drugs
- Ecstasy
- Cyclophosphomide

Malignancy – ectopic ADH production:
- Nasopharyngeal
- Mesothelioma
- Pancreatic
- Gastrointestinal
- Lymphoma
- Sarcoma

Non-ADH antidiuretic peptide release:
- Prolactinoma
- Waldenstrom macroglobulinemia

ADH, antidiuretic hormone; SIADH, syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone

Tabla 5. Causas del SIADH: Imagen obtenida de Tee K & Dang J (2017).

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

1. Coleman WB, Tsongalis GJ, editors. Molecular Pathology: The Molecular Basis of Human Diseases. Amsterdam: Elsevier; 2009.
2. Porth C, Grossman S. Porth fisiopatología. 9ª ed. Barcelona: Wolters Kluwer; 2014.
3. Guyton AC, Hall J. Compendio de fisiología médica. Barcelona: Elsevier Saunders; 2011.
4. González Hernández A. Principios de bioquímica clínica y patología molecular. 2ª ed. Barcelona: Elsevier España; 2014.

5. Castaño L, Calvo B, Vela A. Patología del metabolismo del agua asociado a enfermedad hipofisaria [Internet]. Rev Esp Endocrinol Pediatr. 2010;1(Suppl.):48-55. Disponible en: http://endocrinologiapediatrica.org/revistas/P1-E1/P1-E1-S12-A12.pdf
6. Tee K, Dang J. The suspect-SIADH. Aust Fam Physician [Internet]. 2017;46(9):677-80. Disponible en: https://www.racgp.org.au/download/Documents/AFP/2017/September/AFP-2017-9-Clinical-SIADH.pdf

FUNCIÓN TIROIDEA

Autores: Fernando Calvo Boyero, Silvia Díaz Díaz

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Tiroides, Patología Tiroidea, Urgencias Tiroideas.

Fisiología del eje hormonal tiroideo

La glándula tiroides se encuentra en la parte frontal del cuello, bajo la nuez de Adán. Dentro de su estructura, encontramos los folículos tiroideos o coloides, rodeados de las células foliculares. Estas células poseen un transportador de yoduro. Una vez internalizado, se oxida a yodo y se integra en la estructura de la tiroglobulina, yodando los residuos de tirosina, que posteriormente formarán las hormonas tiroideas, Tiroxina y Triyodotironina (1).

Junto a las células foliculares también podemos encontrar vasos sanguíneos que irrigan toda la glándula tiroides y células parafoliculares, que se encargan de la síntesis de calcitonina, hormona que interviene en la homeostasis del calcio y fósforo ante algunos estímulos como la hipercalcemia.

En cuanto a la regulación del eje hormonal, el hipotálamo secreta TRH, que estimula la adenohipófisis para la síntesis y liberación de tirotropina (TSH), hormona que estimula las células foliculares para la síntesis de T4 y T3, que actúan sobre los órganos diana. A su vez, niveles elevados de T4 o T3 en circulación provocan una retroalimentación negativa sobre el hipotálamo y la hipófisis.

Las hormonas tiroideas actúan principalmente intensificando las acciones de las catecolaminas sobre los tejidos, aumentando el metabolismo basal, el consumo de oxígeno y la glucogenólisis.

La mayor parte de las hormonas tiroideas en suero se encuentran ligadas a proteínas (más de un 99%), de las cuales el 70% está unido a la globulina fijadora de tiroxina (TBG), un 20% a albúmina y un 10% a transtiretina. Por esto, siempre se debe medir la concentración de hormona tiroidea libre, ya que no depende de variaciones en la concentración y la capacidad de fijación. Solamente en unas pocas condiciones clínicas, el valor de las hormonas totales puede ser más precisos que las fracciones libres, como en algunas enfermedades hereditarias y con algunos fármacos que desplazan a las hormonas de sus puntos de unión (estrógenos, tamoxifeno y metadona).

Bocio

El bocio es el aumento de tamaño de la glándula tiroides, que según su estructura se puede clasificar en nodular (aumentos focales del tamaño tiroideo, que da lugar al desarrollo de nódulos) o difuso, con un aumento global y regular de la glándula (Figura 1).

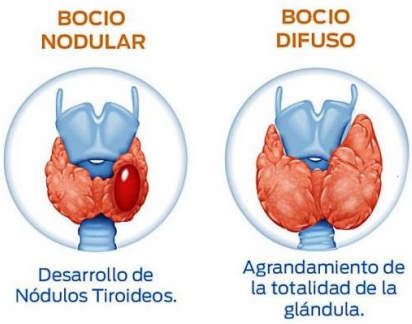


Figura 1. Clasificación del bocio según su estructura. Imagen modificada de: https://www.elfueguino.com.ar/tiroides-que-sucede-cuando-aumenta-su-tamano/

Según su producción hormonal se puede clasificar en normo, hipo o hiperfuncionante según las hormonas tiroideas estén en el rango de normalidad, por debajo o por encima.

Desde una perspectiva fisiopatológica, el aumento de tamaño de tiroides se puede deber a procesos de estimulación, inflamación o infiltración (Tabla 1).

Estimulación	• Deficiencia de yodo • Hipertiroidismo • Hipotiroidismo • Embarazo (HCG)
Inflamación	• Tiroiditis • Hipertiroidismo autoinmune (Graves) • Hipotiroidismo autoinmune (Hashimoto)
Infiltración	• Cáncer tiroideo • Linfoma • Enfermedad de depósito

Tabla 1. Causas de bocio según mecanismo fisiopatológico.

Enfermedad nodular tiroidea

Un nódulo tiroideo es una lesión de la glándula tiroidea que es radiológicamente distinta del parénquima tiroideo circundante. Existe una alta prevalencia en la población general (1% en varones, 5% en mujeres). Puede provocar algunos síntomas compresivos locales, como disfonía, disfagia o tos, y en su mayoría son benignos (85%) de los casos, aunque un pequeño porcentaje pueden ser de naturaleza maligna (2).

En el abordaje de la enfermedad nodular tiroidea, primero hay que revisar detenidamente la historia clínica y determinar la TSH. También es de utilidad la gammagrafía tiroidea en caso de TSH bajas para determinar si el nódulo es hipercaptante, lo que orienta a un nódulo tóxico productor de hormona tiroidea; o si es hipocaptante o la TSH está normal o elevada, realizar una ecografía y en su caso una citología para determinar la malignidad del nódulo.

Cáncer tiroideo

Existen varios tipos de cánceres tiroideos. Los principales son el cáncer papilar, el folicular, el medular y en anaplásico, en orden creciente de agresividad.

El cáncer folicular y el papilar se deben monitorizar con los niveles de tiroglobulina y de anticuerpos anti-tiroglobulina, mientras que el cáncer medular se debe seguir con la determinación de calcitonina.

Hipotiroidismo

Es la situación clínica producida por un déficit de la actividad de las hormonas tiroideas en los diferentes tejidos del organismo. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad son comunes independientemente de la etiología del hipotiroidismo. Destacan la astenia, la intolerancia al frío, la ganancia ponderal y la sequedad y palidez cutánea.

Esta situación puede deberse a un hipotiroidismo primario (>90% de los casos), donde existe una deficiente producción de hormonas por la glándula tiroidea, o a un hipotiroidismo central, donde existe una insuficiente estimulación de la tiroides por la TSH, debido a una afectación hipotálamo-hipofisiaria.

La TSH es la determinación más sensible en el diagnóstico de hipotiroidismo, ya que las variaciones de T4 libre producen un cambio compensatorio exponencial en los valores de TSH. Ante una TSH elevada se debe determinar la T4 libre, y en ocasiones anticuerpos antitiroideos (ATPO) para determinar la etiología autoinmune del hipotiroidismo. Es importante no realizar estudio de cribado tiroideo en pacientes ingresados, ya que las hormonas tiroideas pueden estar alteradas debido a su situación clínica.

- **Hipotiroidismo primario**

La Tiroiditis de Hashimoto es la causa más frecuente en zonas yodosuficientes, y se debe a la destrucción de los folículos tiroideos por el sistema inmune. El dato bioquímico característico es la presencia de anti-TPO. En la ecografía destaca una tiroides aumentada de tamaño con disminución de la ecogenicidad tiroidea.

La tiroiditis silente y la tiroiditis posparto son variantes de la tiroiditis crónica, pero de una presentación subaguda. Presentan una fase inicial de hipertiroidismo y una fase posterior de hipotiroidismo. Suelen presentar episodios recurrentes y tienen riesgo de progresión a hipotiroidismo definitivo.

Otras causas de hipotiroidismo primario son la cirugía, el tratamiento con yodo-131, la radioterapia, y tanto el déficit como el exceso de yodo, que se puede dar por la alimentación. Destaca especialmente el consumo de algunas algas ricas en yodo (algunas con una cantidad diaria recomendada de 20.000% de yodo por el consumo de 5g).

También el hipotiroidismo puede ser causado por algunos fármacos, como el litio, que interfiere la liberación de hormonas tiroideas (20% de los pacientes) o la amiodarona, que produce un bloqueo tiroideo por su alto contenido de yodo (20-30% de los pacientes).

Una condición especial del hipotiroidismo es el hipotiroidismo subclínico, que es un estado bioquímico en el que encontramos TSH elevada con hormonas tiroideas normales, pero que puede presentar clínica. La progresión a hipotiroidismo clínico aumenta con una TSH >10 UI/ml y Anti-TPO +.

- **Hipotiroidismo central**

Se debe a una insuficiente estimulación de la glándula tiroidea por insuficiente concentración de TSH. Se denomina hipotiroidismo secundario si se produce a nivel hipofisario, con déficit de TSH, e hipotiroidismo terciario si ocurre a nivel hipotalámico, con déficit de TRH. Ambos se expresan con TSH disminuidas o normales junto a T4 libre disminuida. Son menos del 1% de los hipotiroidismos, y son ocasionados por adenomas hipofisarios y tratamiento quirúrgico o radioterápico sobre la zona hipotálamo-hipofisaria.

Una entidad que conviene reconocer es el Síndrome del eutiroideo enfermo. Este ocurre en situaciones clínicas graves (intervenciones, traumatismos, neoplasias, UCI, sepsis), donde encontramos hormonas tiroideas alteradas con valores circulantes de T3 libre e incluso de T4 libre bajos en pacientes eutiroideos.

Hipertiroidismo

El hipertiroidismo se define como el aumento de T4 libre y T3 libre circulantes debida al aumento de síntesis de hormonas tiroideas o al aumento de su secreción. Este exceso de hormona tiroidea produce una hiperestimulación adrenérgica como consecuencia de la cual existe un aumento generalizado del metabolismo. Algunos síntomas y signos comunes son las palpitaciones, pérdida ponderal con hiperfagia, fatiga y debilidad, nerviosismo, síntomas oculares y piel húmeda y caliente.

El hipertiroidismo se puede clasificar en dos grandes grupos: Debidos a sobreproducción de hormona tiroidea por el cuerpo, que se dividen en Hipertiroidismo Primario y Central; y debido a un exceso transitorio por liberación de hormonas (tirotoxicosis).

- **Hipertiroidismo Primario**

La patología más común es la Enfermedad de Graves, que se trata de una enfermedad autoinmune que se caracteriza por la presencia de hipertiroidismo sobre un bocio difuso. En ocasiones aparecen manifestaciones extratiroideas, como la dermopatía tiroidea (o mixedema pretibial), la oftalmopatía de Graves y la acropaquia tiroidea. Es habitual encontrar una TSH suprimida (menor de 0,01 mU/l), y aumento de T4 libre y/o T3 libre.

Se caracteriza por la presencia de Anticuerpos Anti-receptor TSH (TSI) en suero, que son específicos de la enfermedad. Este anticuerpo se une al receptor de TSH induciendo el crecimiento del tiroides y ocasionando un aumento de la producción y secreción de hormona tiroidea. Los niveles de TSI disminuyen con el tratamiento e indican la actividad de la enfermedad.

Es necesaria la realización de una gammagrafía con yodo radiactivo para confirmar el diagnóstico. Nos encontramos una captación difusa y aumentada.

Otras dos entidades que cursan con hipertiroidismo primario son el Adenoma Tóxico y el Bocio Multinodular. En ambos nos encontramos un nódulo o varios palpables que han adquirido autonomía funcional independiente de la regulación por TSH, junto a sintomatología cardiovascular y una TSH suprimida con aumento de hormonas libres.

Una entidad peculiar es el Hipertiroidismo inducido por la gonadotropina coriónica humana (hCG). Esta hormona posee una subunidad alfa idéntica a la TSH, LH y FSH, y una subunidad beta parecida a la misma subunidad de la TSH. La hCG se une al TSHR con una potencia muy inferior a la TSH, pero en altas concentraciones puede producir un cuadro de hipertiroidismo con bocio difuso. Aparece en algunos embarazos, mola hidatiforme y coriocarcinoma.

- **Hipertiroidismo Central**

Nos encontramos una TSH alta o normal junto a T4L y T3L elevadas. Esto puede ser debido a un Adenoma hipofisario (tirotropinoma), que es un tumor secretor de TSH.

Existe otra entidad con la misma expresión clínica y analítica, que es la Resistencia a la hormona tiroidea, en la que encontramos una mutación del receptor de hormonas tiroideas que dificulta la acción de las hormonas tiroideas en los tejidos. Los niveles circulantes de la subunidad alfa de TSH nos ayudarán en el diagnóstico diferencial, siguiendo esta fórmula:

$$\text{Cociente } \frac{\text{subunidad-alfa (ug/l)}}{\text{TSH (mU/l)}} \text{ x } 10$$

Si el resultado fuera mayor de 5.7, la orientación diagnóstica se pondría a favor del adenoma.

- **Tirotoxicosis**

Tenemos dos entidades principalmente, la tiroiditis, ya expuesta, y la Tirotoxicosis facticia, que corresponde a la administración exógena de hormonas tiroideas en dosis suprafisiológicas. Puede ser una ingesta voluntaria, con el objetivo de una pérdida de peso, o por sobretratamiento, habitual en el cáncer de tiroides, ya que el objetivo terapéutico es alcanzar la supresión de la TSH.

Estos pacientes no presentan bocio, tienen niveles de TSH suprimida y hormonas tiroideas elevadas según el paciente esté tomando T4 o T3. La presencia de un valor sérico de tiroglobulina bajo nos orientará al diagnóstico.

Patología Tiroidea en el Embarazo

Una situación fisiológica en la que los trastornos tiroideos cobran mucha relevancia es el embarazo. En nuestro hospital tenemos un protocolo propio consensuado con los Servicios de Ginecología y Endocrinología. El protocolo se puede visualizar en la Figura 2.

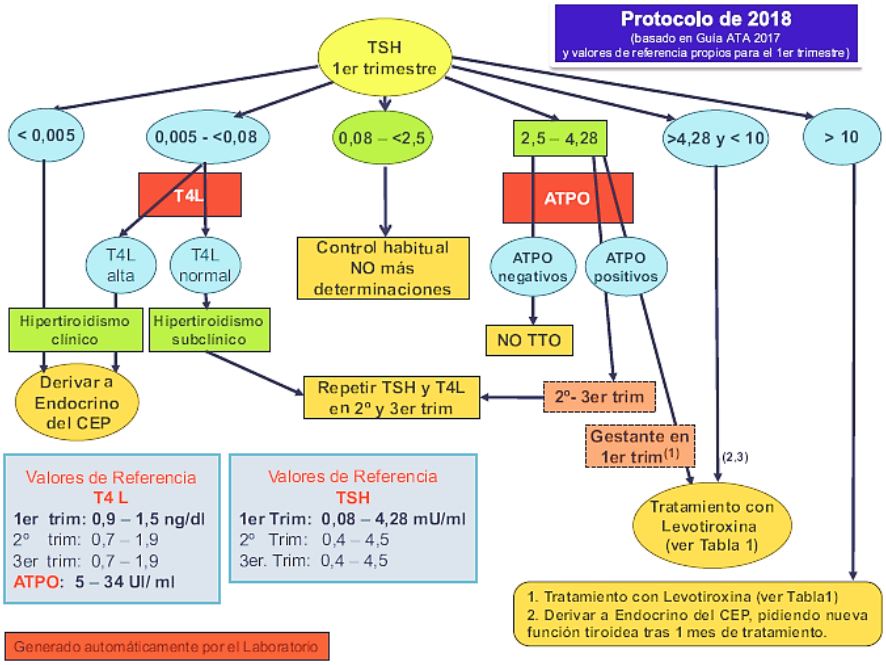


Figura 2. Protocolo de 2018 de Trastornos tiroideos en el embarazo. Hospital 12 de Octubre.

Patología Tiroidea Urgente

En cuanto a la patología tiroidea urgente, destacan dos situaciones (3).

- **Crisis Tirotóxica**

Es una situación metabólica aguda con afectación multisistémica y alta mortalidad, en horas o días. Se presenta con una clínica típica del hipertiroidismo, pero acentuada: Hiperpirexia que puede superar los 40ºC, Taquicardia con frecuencia superior a 140 lpm, arritmias auriculares, disfunciones ventriculares, fallo cardiaco congestivo, agitación severa, delirio y clínica digestiva. Para valorarla es de utilidad la Escala de Burch y Wartofsky.

Es una complicación poco frecuente pero muy grave de la Enfermedad de Graves. Se debe a un aumento de la fracción libre de hormonas tiroideas secundario a una enfermedad aguda precipitante, como infecciones, traumatismos o cirugía.

Los pacientes deben tratarse en una UCI, ya que es precisa una monitorización continua. El tratamiento no debe demorarse en espera de confirmación analítica. La confirmación bioquímica vendrá dada por una TSH suprimida con niveles elevados de T4 libre y T3 libre.

- **Coma mixedematoso**

Estadío final del hipotiroidismo de larga duración no tratado y puede ser mortal. En la clínica destaca la alteración del estado mental, la termorregulación defectuosa y la presencia de una causa desencadenante. El diagnóstico se basa en la sospecha clínica y no requiere confirmación diagnóstica para su tratamiento, dado el alto grado de mortalidad (40%). La confirmación bioquímica vendrá dada por niveles bajos de T4 libre con TSH muy elevada.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. González Hernández A. Principios de bioquímica clínica y patología molecular. 2ª ed. Barcelona: Elsevier España; 2014.
2. Enfermedades endocrinológicas y metabólicas: Patología del tiroides. Medicine. 2012;11(14):805-858.

3. Basterra Gortari FJ, Lafita Tejedor FJ. Endocrinológicas: Patología Tiroidea Urgente. En. Pinillos MA, coordinador. Libro electrónico de temas de urgencia. Pamplona: Servicio Navarro de Salud; 2008.

IMPORTANCIA DEL LABORATORIO EN LA FISIOPATOLOGÍA CARDIOVASCULAR

Autores: Jon Sánchez Munárriz, Ana Elena López Jiménez

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Fisiopatología cardiovascular, biomarcadores cardiacos, síndrome coronario agudo, troponina T ultrasensible, insuficiencia cardiaca, NT-proBNP

Introducción

El presente capítulo no tiene por objeto llevar a cabo un repaso pormenorizado de toda la fisiopatología cardiovascular sino proporcionar al facultativo especialista de laboratorio de una revisión actualizada con todo aquello que debe conocer antes de enfrentarse a una analítica perteneciente a un paciente afecto de patología cardiaca.

Comenzaremos el capítulo con una breve revisión de la fisiología cardiovascular, que servirá de punto de partida para dedicar unas líneas al proceso de aterogénesis, principal proceso responsable de la enfermedad cardiaca. En lo concerniente a la cardiopatía isquémica, se explicarán en detalle las dos patologías a las que más habitualmente se enfrenta el laboratorio de urgencias: el síndrome coronario agudo, cuya expresión más grave sería el infarto agudo de miocardio, y en donde la determinación de troponina cardiaca "ultrasensible" ha supuesto un antes y un después; y la insuficiencia cardiaca, cuya evaluación es posible gracias a la determinación de los niveles de péptidos natriuréticos tales como el NT-proBNP.

A lo largo del texto se hará especial hincapié en dar respuesta a cuestiones en las que los profesionales del laboratorio reflexionan con frecuencia. El enfoque de este capítulo es principalmente diagnóstico, si bien es conveniente aclarar que la importancia del laboratorio en el manejo de la enfermedad cardiaca abarca no sólo el proceso diagnóstico de la enfermedad, sino que también es clave a la hora de establecer un pronóstico o estudiar la respuesta del paciente a un tratamiento.

El sistema cardiovascular

La principal función del corazón es impulsar la sangre a través de los vasos sanguíneos para así llevar a cabo, en todos los tejidos del organismo: el aporte de oxígeno y de nutrientes, la retirada de dióxido de carbono y de otros productos de desecho, la termorregulación, etc.

El corazón "derecho" se encarga de bombear sangre a la circulación menor o pulmonar, mientras que el corazón izquierdo es responsable de la circulación mayor o sistémica, condición por la cual se encuentra fisiológicamente hipertrofiado. En cuanto a la pared cardiaca, es irrigada por sus propios vasos sanguíneos, que constituyen la circulación coronaria.

Las arterias coronarias derecha e izquierda son ramas directas de la arteria aorta y su flujo está regulado casi en su totalidad por el metabolismo local en respuesta a las necesidades de nutrición y de oxigenación del miocardio. Dichas arterias cobran especial importancia en el síndrome coronario agudo. En condiciones de reposo, el miocardio utiliza normalmente ácidos grasos en lugar de glúcidos como fuente de energía. Sin embargo, en situaciones de isquemia realizará, al igual que la mayoría de los tejidos, glucólisis anaerobia.

A nivel histológico podemos distinguir tres capas en el corazón:

a) El endocardio, la capa más interna, formada por un endotelio, tejido conjuntivo subendotelial y algunas células musculares lisas. Cabe destacar que el sistema conductor de impulsos del corazón se localiza en esta capa subendocárdica.

b) El miocardio, la capa intermedia y músculo cardiaco propiamente dicho, donde se localizan las células mioendocrinas secretoras de péptidos natriuréticos.

c) El pericardio, la capa externa protectora donde se localiza el líquido pericárdico.

Esta estructura histológica no difiere apenas de la que nos encontramos en los vasos sanguíneos, igualmente constituidos por tres capas o "túnicas":

a) Túnica íntima: una única capa de células endoteliales rodeada por una capa de tejido conjuntivo subendotelial.

b) Túnica media: disposición concéntrica de tejido conectivo y de células musculares lisas.

c) Túnica adventicia: revestimiento externo de tejido conectivo. La proporción de cada una de estas capas varía en función del tipo de vaso sanguíneo (arteria, vena, capilar, etc.). A lo largo del texto se hará referencia tanto a la túnica íntima, implicada en procesos de aterogénesis, como al miocardio, capa del corazón que sufre necrosis en el infarto de corazón.

Cardiopatía isquémica

La cardiopatía isquémica, primera causa de mortalidad en el mundo, es un conjunto de entidades que acontecen como consecuencia de un desequilibrio entre el aporte de oxígeno a través de las arterias coronarias y la demanda de oxígeno del miocardio.

Comprende cuatro tipos de patologías con gran importancia sanitaria: arritmias ventriculares y muerte súbita, síndromes cardiacos crónicos, insuficiencia cardiaca, y los síndromes coronarios agudos. Dentro de este último grupo debemos diferenciar la angina de pecho, que no presenta necrosis, del infarto agudo de miocardio, que supone la pérdida irreversible de tejido como consecuencia de la necrosis tisular por isquemia prolongada.

Asimismo, distinguimos cinco tipos de infarto de miocardio:

1) Tipo I: Causado por trombo intraluminal (situación más frecuente).

2) Tipo II: Debido a un desequilibrio entre el suministro y la demanda de oxígeno por el miocardio, sin inestabilidad de placa coronaria.

3) Tipo III: Con desenlace mortal cuando no se dispone de biomarcadores.

4) Tipo IV: Relacionado con una intervención coronaria percutánea.

5) Tipo V: Asociado a cirugía de revascularización coronaria. Ahora bien, la presencia de placas de ateroma en la túnica íntima de las arterias coronarias supone la causa más prevalente de síndrome coronario agudo, motivo por el cual se explica en detalle a continuación.

Proceso de aterogénesis

La formación de placas de ateroma requiere que en el organismo coexistan dos fenómenos independientes, que más adelante confluirán: el depósito de lípidos y un estado proinflamatorio.

Por un lado, elevadas concentraciones de lipoproteínas LDL circulantes, cargadas de colesterol, se depositan en el endotelio y lo atraviesan hasta llegar a la capa íntima arterial.

Por otro lado, factores que inducen la inflamación favorecen que los monocitos sanguíneos sean atraídos por quimiocinas y atraviesen el endotelio mediante diapédesis.

Una vez dentro, tanto las LDL como las células, sufren modificaciones. Las lipoproteínas son fagocitadas por los monocitos y se produce su oxidación, dando lugar a la aparición de LDL oxidadas, partículas pequeñas y densas que tienden a agregarse y poseen propiedades proinflamatorias. Las LDL oxidadas favorecen la diferenciación de monocitos hacia macrófagos, los cuales son células secretoras de citoquinas que van a aumentan aún más la inflamación, originando así una retroalimentación positiva. Los macrófagos, que expresan receptores para apoproteína B *("scavenger receptors")*, facilitan la eliminación de las LDL y del colesterol en circulación mediante fagocitosis.

En condiciones normales, las células dejan de expresar dichos receptores cuando están excesivamente cargadas de lipoproteínas. Sin embargo, la naturaleza de las LDL oxidadas impide dicha regulación, de manera que los macrófagos continúan fagocitando hasta dar lugar a células espumosas e incluso llegar a su lisis. Por último, las células espumosas liberan factores de crecimiento, que inducen la proliferación celular de células musculares lisas, así como enzimas metaloproteasas, que degradan la matriz de la pared arterial. Esta herida favorece la trombogénesis local, que finalmente da lugar a una placa de ateroma.

Como ya se ha comentado, la causa más frecuente de cardiopatía isquémica es la ruptura de una de estas placas de ateroma. La liberación de material trombogénico a la circulación ocasiona la oclusión parcial o total de una arteria con embolización distal del árbol coronario subyacente, de modo que no llega oxígeno a los cardiomiocitos. Ahora bien, la placa de ateroma también puede dar lugar a situaciones de isquemia

incluso en circunstancias en las que no se produce trombosis, simplemente por disminución del flujo sanguíneo.

Factores de riesgo

La enfermedad cardiovascular se relaciona estrechamente con los estilos de vida y factores de riesgo, en su mayoría modificables, como son la hipertensión arterial, la hipertrigliceridemia, la hipercolesterolemia (sobre todo por colesterol-LDL), la diabetes mellitus, el tabaquismo, el alcoholismo, la obesidad abdominal y el sedentarismo.

No obstante, también existen factores de riesgo no modificables, tales como la edad avanzada, el sexo (varón), las dislipemias hereditarias, las cardiopatías hereditarias, la hiperhomocisteinemia, la microalbuminuria y las infecciones (por ejemplo, por *Chlamydophila pneumoniae*).

El estudio del riesgo cardiovascular es, por tanto, multifactorial. En este sentido, existen tablas de riesgo coronario y scores basados en la ecuación de Framingham, que deben ser calibrados en función de la población a la que vayan dirigidos.

Infarto agudo de miocardio

El diagnóstico de los pacientes con infarto agudo de miocardio es de crucial importancia para instaurar una prevención secundaria con vistas a evitar las posibles recidivas. La presentación clínica es variada, con un espectro que abarca desde la ausencia de síntomas hasta la muerte súbita. Como norma general, el síntoma principal que pone en marcha el proceso diagnóstico y terapéutico de los pacientes es el dolor torácico.

El dolor torácico de origen cardiaco se describe como una sensación retroesternal opresiva ("angina"), con irradiación a brazo izquierdo y cuello, acompañado de cortejo vegetativo, que incluye sudoración fría, náuseas y vómitos. La exacerbación de los síntomas por el esfuerzo físico y su alivio en reposo aumentan la probabilidad de isquemia miocárdica.

Junto con la exploración física, el electrocardiograma de doce derivaciones en reposo supone la principal herramienta diagnóstica para la evaluación de pacientes con sospecha de síndrome coronario agudo. Son características alteraciones como el desarrollo de ondas Q patológicas o la elevación en el segmento ST. La presencia o ausencia de elevación en el segmento ST permite distinguir entre IAMCEST (infarto agudo de miocardio con elevación de segmento ST) e IAMSEST (infarto agudo de miocardio sin elevación de segmento ST), lo cual es relevante ya que en aquellos pacientes con IAMCEST nunca va a ser necesario el diagnóstico bioquímico mediante biomarcadores cardiacos.

Ahora bien, el laboratorio siempre debe participar en aquellas situaciones en las que se requiera descartar un infarto de miocardio o nos encontremos ante un paciente con IAMSEST, es decir, en el diagnóstico diferencial de aquellos casos en los que el dolor torácico y el electrocardiograma resultan poco concluyentes (por ejemplo, ante un enmascaramiento por bloqueo de rama o un síndrome de Wolf-Parkinson-White, o ante un infarto intraluminal, posterior o lateral).

El diagnóstico diferencial del infarto agudo de miocardio se sirve, además, de otras aproximaciones diagnósticas, como la radiografía de tórax, el ecocardiograma transtorácico o pruebas de detección de isquemia y enfermedad coronaria que incluyen: la ergometría (prueba de esfuerzo), la gammagrafía de perfusión miocárdica (SPECT), el ecocardiograma de estrés, la angio-TC de arterias coronarias ("coronografía no invasiva"), la cardiorresonancia magnética de estrés o la coronografía. Asimismo, el laboratorio representa un papel fundamental en este tipo de patologías, ya que la determinación de un biomarcador cardiaco, preferiblemente troponinas cardiacas de alta sensibilidad, es indispensable en todos los pacientes con sospecha de IAMSEST.

Marcadores de necrosis miocárdica

Los biomarcadores cardiacos son un complemento a la valoración clínica inicial y al electrocardiograma, orientando en el diagnóstico del IAMSEST, y permitiendo la estratificación del riesgo, el seguimiento y tratamiento de los pacientes con cualquier tipo de infarto de miocardio (IAMCEST e IAMSEST).

Históricamente, ha habido numerosos biomarcadores de necrosis miocárdica que, en conjunto, permitían diferenciar un infarto agudo de miocardio de una angina inestable. En 1954 se contaba por primera vez con

un marcador asociado a isquemia miocárdica, la enzima aspartato aminotransferasa (AST). Dicha enzima correlacionaba bastante bien con la extensión del infarto de miocardio, pero no era lo suficientemente organoespecífica.

Más tarde, aparecían otros marcadores, como la mioglobina (Mb), proteína cuya función es almacenar oxígeno en las células musculares, que se estudiaba mediante radioinmunoensayo, y que era el marcador de liberación y aclaramiento más precoz debido a su bajo peso molecular. No obstante, su concentración en sangre estaba condicionada por la función renal y sobre todo por el elevado recambio que acontece en el músculo esquelético.

La enzima lactato deshidrogenasa (LDH) representaba el caso opuesto, con concentraciones elevadas incluso cuando el resto de biomarcadores ya habían disminuido, pero con incluso más problemas de inespecificidad que los hasta ahora señalados. Dichos problemas fueron superados en parte gracias al estudio de la isoenzima creatina quinasa CK-MB, cardioespecífica, medida mediante métodos de inmunoquímica y relacionada con la extensión del infarto agudo de miocardio. No obstante, hoy en día, y al igual que todos los biomarcadores nombrados, su utilización en el diagnóstico de patología de índole cardiaca ha quedado obsoleta. Esto es debido a la gran mejora, tanto de sensibilidad como de especificidad, que ha supuesto la determinación de troponinas cardiacas mediante métodos de "alta sensibilidad" en el laboratorio.

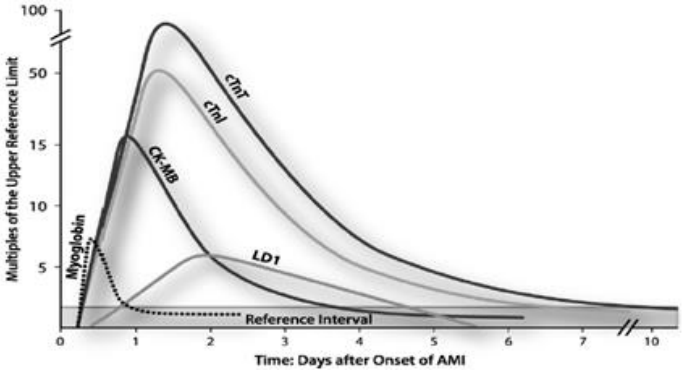


Figura 1. Liberación en el tiempo de biomarcadores cardiacos.

Ninguna guía internacional actual recomienda la utilización de un biomarcador distinto de la troponina en el diagnóstico de infarto agudo de miocardio. La determinación de isoenzima CK-MB, que mencionaremos brevemente más adelante, sólo estará indicada en circunstancias muy concretas en las que se ha comprobado que puede complementar la información proporcionada por la troponina cardiaca ultrasensible.

Troponinas de alta sensibilidad

Las troponinas cardiacas constituyen la prueba de laboratorio *"gold standard"* en el diagnóstico de infarto agudo de miocardio. La utilización de las troponinas cardiacas T o I en la práctica clínica radica en que son los biomarcadores más sensibles y específicos de daño miocárdico.

Una presentación clínica compatible con isquemia miocárdica junto a una elevación dinámica de troponinas cardiacas permite catalogar el episodio como infarto agudo de miocardio, incluso en situaciones en la que no se observa elevación del segmento ST en el electrocardiograma (IAMSEST). Asimismo, la concentración de troponinas en sangre correlaciona con el pronóstico y la mortalidad a corto y a largo plazo de forma independiente.

Los títulos de troponinas cardiacas son mínimos en el paciente sano (recambio mínimo) y aumentan rápidamente tras la aparición de los síntomas (normalmente durante la primera hora, si se emplean determinaciones de alta sensibilidad) permitiendo un rápido diagnóstico y tratamiento. Del mismo modo, permanecen elevados durante varios días e incluso hasta dos semanas, lo cual ayuda a detectar infartos que puedan haber pasado desapercibidos.

Como es de suponer, la magnitud y extensión del infarto de miocardio correlaciona directamente con los niveles de troponina cardiaca en sangre, de manera que un IAMSEST presentará elevación mínima de troponinas durante uno o dos días, mientras que un IAMCEST presentará niveles mucho más elevados de troponina y podrá ser detectado incluso hasta dos semanas después. En definitiva, el estudio de la cinética

de las troponinas aporta, mediante una metodología rápida, fácil, fiable y económica, una gran cantidad de información que es de ayuda en el tratamiento del paciente cardiópata.

A nivel molecular, la troponina es una proteína miofibrilar del músculo esquelético encargada de regular la interacción calcio dependiente entre la actina y la miosina y, por lo tanto, los movimientos de contracción y dilatación. Esta proteína está compuesta por tres péptidos: La troponina C, cuya función es unir calcio; la troponina T, cuya misión es unirse a la tropomiosina; y la troponina I, que inhibe la unión actina-miosina si los niveles citosólicos de calcio son bajos.

En el caso concreto de la contracción del músculo cardiaco, el potencial de acción generado en el nódulo sinusal da lugar a una elevación de los niveles de calcio del citosol en los cardiomiocitos. Este calcio, tras unirse a la troponina C, dará lugar a un cambio conformacional en la troponina I, impidiendo su acción inhibitoria, y permitiendo en última instancia la unión entre los filamentos de actina F y miosina, responsables de la contracción cardiaca.

Existen diferentes isoformas de troponina (T_1, T_2, T_3, C_1, C_2, I_1, I_2 e I_3), todas ellas específicas de músculo esquelético, a excepción de las isoformas T_2 e I_3, que son cardioespecíficas. Este es el motivo por el cual actualmente no existen inmunoensayos dirigidos contra la isoforma C (propia de músculo esquelético). La tasa de recambio del músculo esquelético es mucho mayor que la del músculo cardiaco por lo cual en condiciones normales un individuo presentará concentraciones más elevadas de troponina C. De este modo, mediante el estudio de las troponinas T o I podemos afirmar que, como su concentración basal es casi indetectable, un daño mínimo se puede detectar muy precozmente.

Para mejorar el diagnóstico de exclusión o afirmación del infarto agudo de miocardio surgieron, hace pocos años, los llamados métodos de “alta sensibilidad (high sensitivity, hs)”, basados en ensayos inmunoquímicos de tipo “sándwich”. Esta técnica utiliza dos anticuerpos monoclonales distintos que unen a la troponina T (o I) reconociendo dos epítopos diferentes de la molécula. Uno de los anticuerpos está marcado con biotina, mientras que el otro está marcado con quelato de rutenio.

Mediante el empleo de micropartículas recubiertas de estreptavidina (extremadamente afín a la biotina), que se retienen con magnetismo, conseguimos separar las moléculas de troponina del resto de la muestra al pasarla a través de un electrodo. Por otro lado, gracias al marcaje con rutenio, podemos cuantificar la concentración de troponina presente en la muestra a través de una reacción de quimioluminiscencia que ocurrirá al aplicar una corriente eléctrica.

Estas técnicas de “alta sensibilidad o ultrasensibles” permiten medir el p99 de la población referencia, que suele ser del orden de 14 pg/mL, con una imprecisión analítica interserie (obtenida a partir del control interno) menor o igual al 10% (expresada como coeficiente de variación). Asimismo, los métodos ultrasensibles presentan un menor límite de detección (5 pg/mL). A diferencia de los métodos convencionales, que son capaces de detectar concentraciones de troponinas cardiacas en un 20-50% de individuos sanos, los métodos ultrasensibles permiten la detección de estas en un 50-90% de individuos sanos. Esto supone una mayor precisión diagnóstica de infarto agudo de miocardio.

Ahora bien, ¿por qué la mayoría de laboratorios mide la troponina cardiaca T en lugar de la troponina cardiaca I? Para entender esto es necesario explicar que, ante un infarto agudo de miocardio con la consiguiente liberación de troponinas, vamos a encontrar diferentes formas circulantes. Podemos encontrar en circulación troponinas T e I intactas, pero también fragmentos de estas. Del mismo modo, la troponina I puede unir troponina C en circulación dando lugar al complejo binario I-C y es también frecuente la liberación del complejo ternario T-I-C, que a su vez se separa en circulación dando lugar a otras formas. Por si no esto fuese suficiente, tanto la troponina T como I pueden estar sometidas a modificaciones postraduccionales tales como es la fosforilación, la oxidación o la proteólisis.

Si bien se ha comprobado que la isoforma T presenta cierta menor cardioespecificidad que la isoforma I, existen principalmente tres motivos por los que la mayoría de laboratorios prefieren determinar la isoforma TnThs (troponina T ultrasensible):

1) A diferencia de la troponina I, la troponina T se encuentra en circulación principalmente en forma libre y no formando complejos.
2) Actualmente sólo existe un método de inmunoensayo para llevar a cabo la determinación de troponina T ultrasensible. Esto supone una ventaja, dado que, si existen diferentes inmunoensayos, como ocurre en el caso de la troponina I, distintos anticuerpos van a reconocer diferentes epítopos. Teniendo en cuenta la gran variedad de formas circulantes y modificaciones estructurales que presenta la troponina I, resulta fácil entender por qué cada casa comercial

obtiene resultados de concentración diferentes cuando se analiza la misma muestra. En este sentido es clave la estandarización y normalización a nivel internacional.

3) La vida media de la troponina T en circulación es mayor (14 días) que la de la troponina I (7 días). Esto, en principio, supone una ventaja a la hora de detectar infartos que hayan podido pasar desapercibidos (si bien será un inconveniente a la hora de detectar reinfartos).

Como señalábamos anteriormente, la utilidad más evidente de la troponina cardiaca ultrasensible consiste en observar si un paciente en cuestión presenta niveles de troponina en sangre por encima del p99 de la población (punto de corte: 14 pg/mL), lo cual se define como patológico y es altamente sugestivo de infarto agudo de miocardio.

Niveles que no superen el punto de corte pueden deberse a una ausencia de infarto de miocardio o a un infarto de miocardio muy incipiente. Es por esto por lo que, con gran frecuencia, se hace seguimiento de estos pacientes para observar si los niveles de troponina aumentan por encima del p99.

Si bien esta aproximación al seguimiento es válida, hoy en día lo más correcto es hacer una monitorización de estos pacientes mediante el uso de algoritmos diagnósticos basados en “delta check absoluto”, es decir, determinar a partir de qué valor el cálculo de la diferencia (delta) entre un valor actual y uno previo se considera patológico en términos absolutos. El uso de un “delta check relativo” (en porcentaje de cambio) también es aplicable, si bien carece de utilidad en casos donde el valor de partida es cercano a cero, como puede suceder en el caso de la troponina.

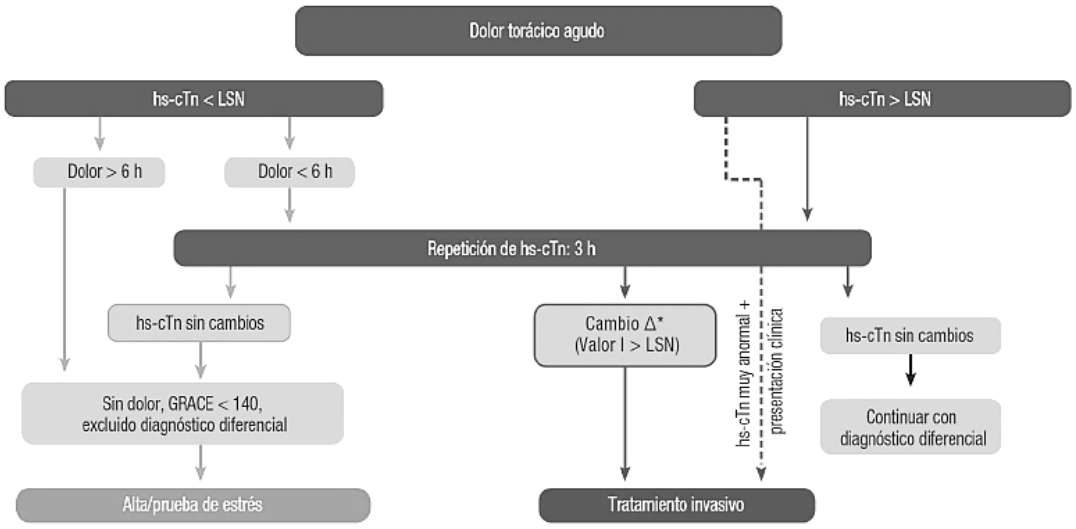


Figura 2. Algoritmo diagnóstico de IAMSEST 0/3h.

En la Figura 2[14] se representa el algoritmo diagnóstico para IAMSEST basado en la determinación de troponina cardiaca T ultrasensible a las 0 horas y a las 3 horas.

En el caso de que la primera medición sea superior al límite superior de referencia (p99) se confirma la patología cardiaca, sobre todo si la presentación clínica es muy característica. Podemos repetir la determinación de troponina T a las 3 horas en caso de que necesitemos llevar a cabo un diagnóstico diferencial con otras patologías distintas al infarto agudo de miocardio que también cursan con elevación de troponina T.

En la situación opuesta, en la que el paciente presente niveles de troponina inferiores al límite superior de referencia (p99) en su primera determinación, este algoritmo nos indica que, en función del grado de dolor torácico llevemos a cabo una prueba de estrés o realicemos una segunda determinación de troponina a las 3 horas.

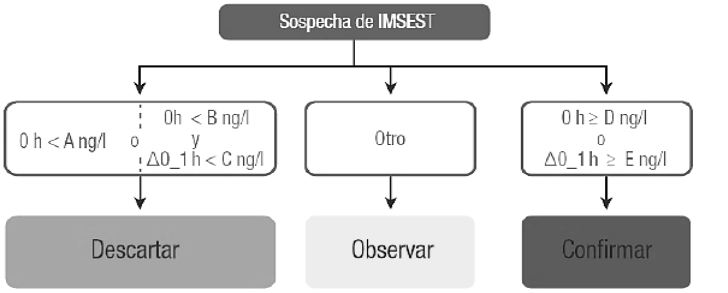
En la Figura 3[14] se representa el algoritmo diagnóstico para IAMSEST basado en la determinación de troponinas cardiacas ultrasensibles T o I a las 0 horas y a las 1 horas. Se distinguen tres situaciones posibles:

a) Descartar IAMSEST: Si la primera determinación de troponina ultrasensible es inferior al valor A (por ejemplo, 5 pg/mL para tecnología *Elecsys*), se descarta directamente el IAMSEST. Ahora bien, si el punto de partida es mayor que A y menor que B deberemos realizar una segunda

determinación una hora después. Sólo si el valor del delta check absoluto es menor que C podremos descartar entonces el IAMSEST.

b) Confirmar IAMSEST: Si la primera determinación de troponina ultrasensible es superior al valor D (por ejemplo, 52 pg/mL para tecnología Elecsys), se confirma directamente el IAMSEST. Ahora bien, si el punto de partida es menor que D y mayor que A deberemos realizar una segunda determinación una hora después. Sólo si el valor del delta check absoluto es mayor que E podremos confirmar entonces el IAMSEST.

c) En caso de no cumplir ninguno de los requisitos de confirmación o descarte de IAMSEST, el algoritmo nos indica que se debe observar la evolución del paciente.



	A	B	C	D	E
hs-cTnT (Elecsys)	5	12	3	52	5
hs-cTnI (Architect)	2	5	2	52	6
hs-cTnI (Dimension Vista)	0,5	5	2	107	19

Figura 3. Algoritmo diagnóstico de IAMSEST 0/1h.

Las ventajas del delta check expresado en términos absolutos son numerosas. En primer lugar, permite llevar a cabo el diseño de algoritmos de actuación como los que acabamos de comentar, simplificando así el trabajo del personal de urgencias. Asimismo, dado que el delta check evalúa únicamente variaciones intraindividuales, permite eliminar los errores derivados de la variación interindividual, como pueden ser los asociados a la edad o al sexo.

Es ampliamente conocido que la concentración sanguínea de troponina es más elevada en pacientes con patología renal[7]. Esto podría suponer un problema si únicamente estudiamos el p99 (en estos casos aumentaría el número de falsos positivos), hecho que no sucede si evaluamos el delta check.

Por último, y atendiendo a los requerimientos establecidos en la cuarta definición universal de infarto de miocardio, publicada en 2018, cabe destacar que no todo el dolor torácico es debido a patología cardiaca, así como no todo dolor de origen cardiaco es debido a un infarto agudo de miocardio. La utilización del delta check es extremadamente útil en este tipo de situaciones, ya que permite diferenciar patologías agudas, como el daño miocárdico no isquémico o el infarto agudo de miocardio, en las que el delta check será elevado; de patologías crónicas, como la enfermedad coronaria estable, la insuficiencia cardiaca crónica, la diabetes o la hipertensión pulmonar, en las que podemos partir de un nivel inicial superior al p99, pero con un delta check próximo a cero, es decir, sin cambios evolutivos.

CK-MB y otros biomarcadores

Como se ha sugerido anteriormente en el texto, tanto la troponina I, como especialmente la troponina T, permiten llevar a cabo el diagnóstico de daño miocárdico que haya pasado desapercibido incluso dos semanas después de ocurrido. Esto es debido a la liberación bifásica de las troponinas, ya que la fracción libre de troponina libera de forma rápida y la fracción unida a tropomiosina lo hace de forma lenta y sostenida en el tiempo (troponina I: 7 días, troponina T: 14 días). No obstante, esta concentración elevada mantenida en el tiempo limita la utilidad de las troponinas en el diagnóstico de reinfartos. En estos casos todavía resulta interesante llevar a cabo la determinación de la isoenzima creatina quinasa CK-MB.

La creatina quinasa CK es una enzima dimérica encargada de generar ATP, útil para el músculo estriado, a partir de creatina-fosfato. Los monómeros constituyentes de la enzima pueden ser de tipo M o B,

existiendo así tres tipos de isoenzimas: MM (presente principalmente en músculo esquelético), BB (presente sobre todo en cerebro), y MB (cardioespecífica).

Ante un infarto de miocardio, esta proteína se libera a circulación a las 4-8 horas y se mantiene elevada durante 48 horas, lo cual le confiere gran utilidad en caso de sospecha de reinfartos, ya que, a los dos días del primer infarto, un paciente todavía puede presentar niveles elevados de troponina, pero los títulos de CK-MB ya deben haber disminuido. Actualmente la determinación de los niveles de CK-MB está justificada en tres situaciones:

a) Diagnóstico de reinfartos de miocardio.

b) Diagnóstico de infartos periprocedimiento.

c) Establecimiento temporal del momento exacto en que ocurrió un infarto, en conjunto con los niveles de troponina ultrasensible.

Existen muchos otros biomarcadores que se han relacionado con el síndrome coronario agudo, pero que, aunque podrían mejorar el diagnóstico de la enfermedad, todavía se encuentran en fase de investigación. Entre ellos, cabe destacar la copeptina, un péptido derivado de la hormona antidiurética en proporción 1:1; el CA125, relacionado con cáncer de ovario, entre otros; la galectina-3, una lectina implicada en procesos de remodelado y fibrosis; y el sST2, que permite identificar aquellos pacientes con mayor riesgo de muerte súbita.

Insuficiencia cardiaca

La insuficiencia cardiaca se define como un síndrome clínico debido a fallos estructurales o funcionales del corazón o de los grandes vasos que impide el funcionamiento en la fase de llenado (insuficiencia cardiaca diastólica) o de vaciamiento (insuficiencia cardiaca sistólica).

Se estima que en torno al 1-2% de la población sufre esta patología, cuya semiología es muy inespecífica (disnea, astenia, edema), y cuya etiología es muy variada: disfunción de las arterias coronarias, hipertensión arterial, enfermedad tiroidea, miocarditis, miocardiopatía hipertrófica, miocardiopatía infiltrativa, etc.

La dilatación de las cámaras y la hipertrofia del ventrículo izquierdo originan un aumento del estrés hemodinámico, activando así sistemas neurohormonales endógenos (adrenérgicos, sistema renina-angiotensina-aldosterona, endotelina, vasopresina, citoquinas) que juegan un papel en el remodelado cardiaco y en la progresión de la insuficiencia cardiaca mediante la retención de sodio, la vasoconstricción periférica y la inducción de fibrosis cardiaca, efectos hemodinámicos que intentarán ser antagonizados por los péptidos natriuréticos. Este síndrome constituye un riesgo vital, por lo que es importante un diagnóstico precoz y la instauración de un tratamiento específico urgente.

El proceso diagnóstico de la insuficiencia cardiaca se establece en base a la historia clínica (antecedentes de enfermedad coronaria, hipertensión arterial, ortopnea, exposición a cardiotóxicos, etc.), a la exploración física (edemas, crepitantes, ingurgitación yugular, soplo), al electrocardiograma, y a un análisis básico y rutinario de sangre y de orina (hemograma, glucosa, perfil renal, hepático y lipídico, hemoglobina glucosilada, tirotropina, ferritina y saturación de transferrina).

Si todo parece indicar que el paciente padece insuficiencia cardiaca se realizará une ecocardiografía para confirmar el diagnóstico; si, por el contrario, ninguno de los datos o resultados obtenidos sugiere insuficiencia cardiaca, debemos descartar esta opción y considerar otras patologías. La determinación de niveles de péptidos natriuréticos sólo se realizará en casos en que el electrocardiograma y la exploración física no concuerden. En principio, nunca estará indicada si ya se ha realizado un ecocardiograma.

Péptidos natriuréticos

Los péptidos natriuréticos son un conjunto de moléculas secretadas por las células mioendocrinas, localizadas en el miocardio, en respuesta a la distensión auricular y ventricular.

Su función consiste en antagonizar al sistema simpático y al sistema renina-angiotensina-aldosterona mediante la natriuresis, la diuresis y la disminución de la resistencia vascular periférica, en definitiva, disminuir la presión arterial.

Los péptidos natriuréticos son unos péptidos de pequeño tamaño que presentan en su estructura un anillo, que posee la actividad biológica. Existen varios tipos: el ANP, péptido natriurético auricular, secretado en la aurícula; el BNP, secretado en la aurícula y sobre todo en el ventrículo; y el CNP, producido sobre todo por

células endoteliales y el sistema nervioso central. A diferencia del ANP y del BNP, el CNP no posee efectos sistémicos, sino autocrinos y paracrinos.

El gen del BNP se localiza en el cromosoma 1 y codifica para una proteína de 134 aminoácidos, el pre-proBNP. Esta molécula, tras ser escindida intracelularmente, da lugar a proBNP, que bien procesado intracelularmente o en circulación origina, en cantidades equimolares, NT-proBNP, que carece de actividad biológica, y BNP, antagonista del sistema renina-angiotensina-aldosterona. A lo largo de este texto nos centraremos en el BNP y en el NT-proBNP debido a que existen estudios que demuestran su superioridad diagnóstica frente al resto de péptidos natriuréticos.

Las guías clínicas de 2016 establecen nuevos valores de corte de NT-proBNP > 125 pg/mL y de BNP > 35 pg/mL como dos de las medidas objetivas para el diagnóstico de insuficiencia cardiaca. No obstante, es importante tener en cuenta una serie de consideraciones a la hora de interpretar las concentraciones de péptidos natriuréticos, y que explican por qué la mayoría de los laboratorios prefiere utilizar el NT-proBNP en lugar del BNP como marcador de insuficiencia cardiaca.

Los péptidos natriuréticos están sometidos a:

1) Variabilidad preanalítica: Ambos péptidos natriuréticos se ven afectados por los ritmos circadianos y requieren que la extracción de sangre se realice en posición erguida, con mínima aplicación de torniquete. Ahora bien, el NT-proBNP presenta una serie de ventajas como son su mayor estabilidad de conservación a diferentes temperaturas y su mayor vida media en plasma, muestra utilizada preferentemente en urgencias. Asimismo, a diferencia del BNP, el NT-proBNP no se eleva tras la realización de ejercicio físico ni requiere de la utilización de anticoagulante EDTA.

2) Variabilidad analítica: Al igual que sucede con las troponinas cardiacas ultrasensibles, los intervalos de referencia varían según la población de referencia y según el método analítico empleado.

   Existen diferentes inmunoensayos que utilizan anticuerpos con afinidad por distintos epítopos. Esto es importante debido a que tanto el BNP como el NT-proBNP sufren modificaciones postraduccionales como la O-glucosilación o la proteólisis.

3) Variabilidad postanalítica: Es necesario llevar a cabo una estratificación de los intervalos de referencia por rangos de edad, ya que se ha comprobado que los niveles de los péptidos natriuréticos aumentan con la edad como consecuencia del deterioro renal. De igual manera, sería necesario realizar una estratificación por sexo e incluso por índice de masa corporal, ya que se ha relacionado el incremento de masa corporal con una mayor supervivencia en pacientes con insuficiencia cardiaca ("paradoja de la obesidad").

Al igual que sucede con los marcadores de síndrome coronario, se dispone de estrategias multimarcador todavía en proceso de investigación. Cabe destacar las neurohormonas (catecolaminas, endotelina-1, vasopresina), los biomarcadores de inflamación (citoquinas, proteína C reactiva ultrasensible), los marcadores de estrés oxidativo (ácido úrico, incluido en el índice de riesgo Seattle), y los biomarcadores de remodelado (galectina-3).

En los últimos años ha cobrado especial interés el estudio de otro biomarcador de estrés mecánico, el MR-proANP, un precursor del péptido natriurético auricular (ANP). Se trata de un fragmento intermedio, muy estable en circulación, que se correlaciona fuertemente con la actividad fisiológica del ANP. Dado su elevado potencial diagnóstico, podría reemplazar al NT-proBNP en el futuro como biomarcador de elección en el diagnóstico de la insuficiencia cardiaca.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

1. Kanderian AS, Francis GS. Cardiac troponins and chronic kidney disease. Kidney Int. 2006;(7):1112-4.

2. Roffi M, Patrono C, Collet JP, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J. 2016;37(3):267-315.

3. Bayes-Genís A, Januzzi JL. NT-proBNP: biomarcador en las enfermedades cardiovasculares. Barcelona: Thomson Reuters; 2008.

4. Castaño López, MA, Díaz Portillo J, Paredes Salido F. Bioquímica clínica: de la patología al laboratorio. Madrid: Ergon; 2008.
5. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6th ed. London: Elsevier Health Sciences; 2008.
6. González Hernández A. Principios de bioquímica clínica y patología molecular. 3ª ed. Barcelona: Elsevier España; 2019.
7. Adamson PD, Mills NL. High-sensitivity troponin and the selection of patients for cardiac imaging in the outpatient clinic. Clin Chem. 2018;64(11):1555-7.
8. Mueller C. Biomarkers and acute coronary syndromes: an update. Eur Heart J. 2014;35(9):552-6.
9. Thygesen K, Mair J, Giannitsis E, Mueller C, Lindahl B, Blankenberg S, et al. How to use high-sensitivity cardiac troponins in acute cardiac care. Eur Heart J. 2012;33(18):2252-7.
10. Vero Cenarruzabeitia N. Troponinas de alta sensibilidad: Aplicaciones clínicas, consideraciones preanalíticas y analíticas. Asociación Española del Laboratorio Clínico; 2018.
11. Bayés A, Ordoñez J, Santaló B. El laboratorio en la patología cardiovascular. Síndrome coronario agudo e insuficiencia cardiaca. Barcelona: Roche Diagnostics; 2014.
12. Algoritmos: guías clínicas de ayuda a la petición de exploraciones de laboratorio clínico para 124 enfermedades comunes, con los algoritmos de sospecha y seguimiento de la enfermedad. 2ª ed. Sant Cugat del Vallés, Barcelona: Roche Diagnostics; 2011.
13. Levene DL, Bilings RF, Davies GM, Edmeads J, Saibil FG. Dolor torácico. Diagnóstico diferencial. Barcelona: Doyma; 1981.
14. Hall JE, Guyton AC. Tratado de fisiología médica. 12ª ed. Barcelona: Elsevier; 2011.
15. Suárez Pita D, Vargas Romero JC, Salas Jarque J, Losada Galván I, De Miguel Campo B, Catalán Martín PM, et al. Manual de Diagnóstico y Terapéutica Médica. 8ª ed. Madrid: Hospital Universitario 12 de Octubre; 2016.
16. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, et al. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction. J Am Coll Cardiol. 2018;72(18):2231-64.

NUEVOS BIOMARCADORES DE ENFERMEDAD MITOCONDRIAL

Autores: David Cuevas Gómez, Aitor Delmiro Magdalena

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Biomarcador, enfermedad mitocondrial.

1. Introducción:

- 1.1. Estructura y funciones de la mitocondria:

La mitocondria es un orgánulo rodeado por una doble membrana cuya principal función es producir la mayor parte del ATP de la célula. Este ATP será utilizado por la célula para una gran cantidad de acciones: mantenimiento de los gradientes iónicos, transporte de moléculas, procesos anabólicos.

Pueden distribuirse por todo el citoplasma de la célula o concentrarse en aquellas zonas que presentan una mayor demanda energética como a lo largo de las miofibrillas responsables de la contracción de las células musculares. El número de mitocondrias es muy variable de unas células a otras. Estos orgánulos se originan por división a partir de otra mitocondria preexistente y tras su deterioro funcional son destruidas en los autofagosomas.

Las mitocondrias poseen dos membranas que delimitan dos compartimentos: la membrana mitocondrial interna, que rodea un espacio denominado matriz mitocondrial y que presenta invaginaciones hacia el interior y, por otro lado, la membrana mitocondrial externa que está en contacto con el citoplasma. El espacio que hay entre las dos membranas se denomina espacio intermembrana. Entre las proteínas de la membrana mitocondrial externa se encuentran proteínas integrales de membrana denominadas porinas que forman en la membrana grandes a canales acuosos que permiten el paso de pequeñas moléculas e iones, enzimas implicadas en el metabolismo de los lípidos, proteínas de la familia Bcl que son clave en la regulación de la apoptosis.

Por su parte, la membrana mitocondrial interna presenta un gran porcentaje de proteínas (en torno a un 75%), carece de colesterol y es rica en difosfatidilglicerol o cardiolipina lo que la vuelve impermeable a la mayoría de los iones y moléculas de pequeño tamaño. Entre las proteínas de la membrana interna mitocondrial se encuentran todos los componentes de la cadena de transporte electrónico, la ATP-sintasa, transportadores que regulan el paso de metabolitos hacia la matriz.

En la matriz mitocondrial tiene lugar la oxidación del piruvato, el ciclo de Krebs, la β-oxidación de los ácidos grasos, parte del ciclo de la urea, el catabolismo de la cadena de carbono de los aminoácidos.

La principal función de la mitocondria es producir ATP mediante fosforilación oxidativa empleando para ello el NADH y $FADH_2$ generados en las diferentes reacciones del catabolismo. Sin embargo, la mitocondria también interviene en otros procesos como la síntesis de hormonas esteroideas, concretamente, en el interior de la mitocondria se produce la rotura de la cadena lateral del colesterol para producir pregnenolona, precursor de múltiples hormonas como el cortisol, testosterona o estradiol. En la mitocondria también tienen lugar otras reacciones anabólicas como: síntesis del grupo hemo, la elongación de los ácidos grasos y su desaturación, la síntesis de algunos fosfolípidos. Por último, este orgánulo también interviene en la regulación del calcio intracelular y en los fenómenos relacionados con la apoptosis.

- 1.2. Enfermedades mitocondriales y nuevos biomarcadores:

Las enfermedades mitocondriales son enfermedades metabólicas causadas por defectos genéticos que originan una disminución de la actividad de la cadena respiratoria.

Dado el carácter multisistémico de muchas de estas enfermedades, las manifestaciones clínicas suelen ser graves y se asocian a una alta morbilidad y a muerte prematura. Actualmente, estas enfermedades no tienen cura dado que no se ha encontrado ningún fármaco que permita restaurar la actividad de la cadena respiratoria. Por tanto, los tratamientos disponibles van encaminados a mitigar la sintomatología asociada. La identificación de nuevos fármacos que permitan curar o mejorar la calidad de vida de los pacientes es todo un reto sobre todo teniendo en cuenta que las enfermedades mitocondriales se encuentran dentro del

grupo de enfermedades raras. Esto implica una gran dispersión de los pacientes en distintas zonas geográficas y una escasa inversión por parte de la industria farmacéutica.

Un biomarcador es aquella sustancia utilizada como indicador de un estado biológico. Debe poder medirse objetivamente y ser evaluado como un indicador de un proceso biológico normal, estado patogénico o de respuesta a un tratamiento farmacológico. Recientemente, se ha comenzado a clasificar los biomarcadores en dos grupos: "Biomarcadores relacionados con fármacos" que son aquellos que permiten evaluar la respuesta ante un tratamiento y, por otro lado, "Biomarcadores relacionados con la enfermedad" que son aquellos que permiten detectar la presencia de la patología y/o establecer un pronóstico.

Hasta ahora los biomarcadores de enfermedad mitocondrial se han utilizado como herramientas para complementar el diagnóstico o para seleccionar a aquellos pacientes candidatos a someterse a una prueba más invasiva. La principal dificultad para identificar nuevos biomarcadores de enfermedad mitocondrial se debe a la gran heterogeneidad que presenta este grupo de enfermedades incluso aunque se consideren pacientes con el mismo defecto genético.

2. Biomarcadores basados en metabolitos:

La principal característica de las enfermedades mitocondriales es la deficiencia de la fosforilación oxidativa la caída de los niveles de ATP, lo que supone a su vez una alteración del metabolismo fisiológico. Alteraciones en los niveles de lactato, piruvato, CK (creatín quinasa), aminoácidos y carnitinas (Figura 1) se han utilizado ampliamente en la clínica como biomarcadores de enfermedad mitocondrial. El principal inconveniente de estos biomarcadores es su baja especificidad ya que en muchas enfermedades surge una disfunción mitocondrial secundaria y el emplear estos marcadores se obtendrían un elevado número de falsos positivos.

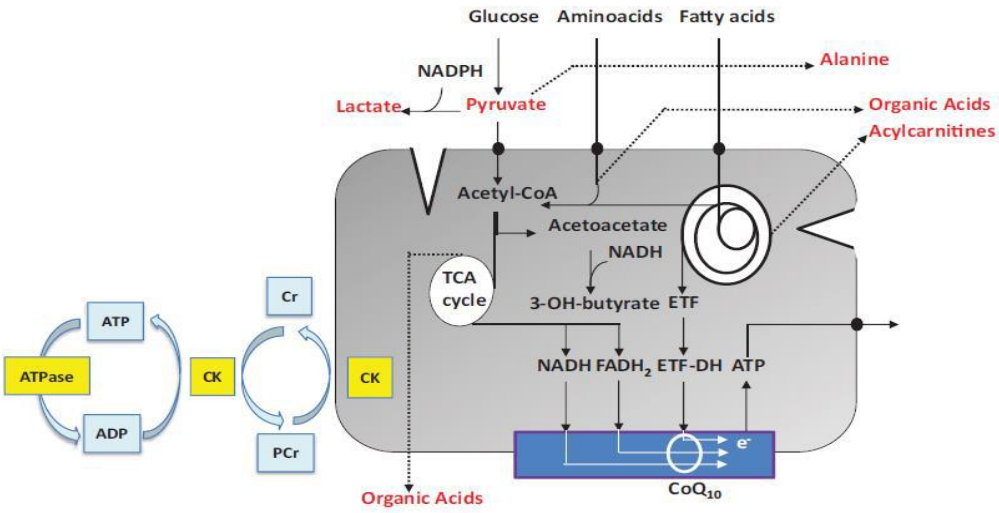


Figura 1. Biomarcadores basados en metabolitos: Esquema básico de las principales rutas metabólicas de la mitocondria. En rojo aparecen los metabolitos utilizados como biomarcadores de enfermedad mitocondrial. Imagen obtenida de (Steele *et al*., 2017).

❖ 2.1. El lactato como biomarcador de enfermedad mitocondrial:

El lactato es un ácido hidroxicarboxílico utilizado comúnmente como marcador de isquemia. En humanos el lactato se forma tras la reducción del piruvato por la enzima lactato deshidrogenasa. El piruvato se puede obtener a partir de la glicolisis o de la alanina gracias a una reacción de transaminación. En situaciones aeróbicas, el piruvato se adentra en la mitocondria a través de los transportadores MPC1 y MPC2 y es atacado por la enzima piruvato deshidrogenasa para formar NADH y acetil-CoA, este último se oxidará completamente en el ciclo de Krebs produciendo NADH y $FADH_2$. Éstos cederán los electrones a la cadena de transporte electrónico contribuyendo así a la formación del gradiente electroquímico de H^+ que se utilizará en la fosforilación oxidativa para producir ATP.

Cuando este metabolismo aeróbico no está disponible, bien por falta de oxígeno o por una alteración en la función mitocondrial, el piruvato obtenido en la glicolisis se reduce a lactato por la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) regenerando así el NAD^+ necesario para que la glicolisis siga produciéndose. De este modo se obtiene ATP, aunque el rendimiento es mucho menor que el del metabolismo aeróbico.

La mayoría de las enfermedades mitocondriales cursan con un incremento de la relación lactato/piruvato en sangre periférica y/o líquido cefalorraquídeo (LCR) como consecuencia de la alteración del estado redox de la célula. Sin embargo, el lactato también se puede ver alterado por las condiciones preanalíticas: un incremento del tiempo desde la extracción de la muestra hasta su procesamiento implica un incremento del lactato, sobre todo si la muestra se encuentra a temperatura ambiente y sin centrifugar. Además, la medición del lactato debe tener en cuenta el estado de reposo o actividad del paciente antes de la extracción, ya que un ejercicio anaeróbico incrementa los niveles de lactato en sangre de forma fisiológica.

Por otro lado, también existen otras patologías que cursan con niveles elevados de lactato sérico como es el caso de las hepatopatías. Esto es debido al papel que desempeña el hígado en el ciclo de Cori, pues en situaciones normales, el hígado es capaz de captar el lactato sanguíneo producido en otros tejidos (pero fundamentalmente en el músculo) para convertirlo en piruvato el cual será transformado a glucosa en el proceso denominado gluconeogénesis. Además, no todas las patologías mitocondriales muestran este marcador alterado y cuando se detectan marcadas elevaciones de los niveles de lactato, la enfermedad suele estar ya en estadios avanzados.

Con respecto al LCR, un incremento de los niveles de lactato aparte de enfermedad mitocondrial también puede indicar: infección, traumatismo, ictus... Por lo que todas estas situaciones deben descartarse antes de establecer la sospecha de enfermedad mitocondrial.

Por tanto, aunque el lactato se ha utilizado tradicionalmente como marcador de disfunción mitocondrial, no presenta una gran sensibilidad en el diagnóstico de estas patologías (sobre todo en estadios iniciales). La especificidad del lactato como biomarcador de enfermedad mitocondrial también es baja dado que sus concentraciones se pueden alterar ante diferentes patologías.

- 2.2. El glutatión como biomarcador de enfermedad mitocondrial:

El glutatión ha sido propuesto como un nuevo biomarcador para el diagnóstico de las enfermedades mitocondriales. El glutatión (L-γ-glutamil-L-cisteinglicina) es el tiol más abundante en el interior de las células. En su forma reducida desempeña un papel clave en la defensa contra las especies reactivas de oxígeno. La síntesis del glutatión tiene lugar en el citosol y el 85-90% del total de glutatión permanece en esta localización. Sin embargo, el 10-15% restante se distribuye a otros orgánulos como a la mitocondria. El glutatión va a reaccionar con especies reactivas de oxígeno como el agua oxigenada cediéndole los electrones de su grupo tiol de modo que el glutatión se oxida y el agua oxigenada se reduce a agua. Sin embargo, para que el glutatión vuelva a ser funcional, necesita volverse a reducir y este proceso lo lleva a cabo la glutatión reductasa y necesita para ello NADPH.

El estado redox de la célula se refleja en la relación glutatión oxidado/glutatión reducido. La alteración de la cadena de transporte electrónico que se produce durante las enfermedades mitocondriales origina un descenso de los niveles de glutatión reducido. Sin embargo, la relación glutatión oxidado/glutatión reducido también se incrementa en otras patologías como acidemias orgánicas, la ataxia de Friederich, la enfermedad de Alzheimer, Parkinson, ELA...

Un estudio realizado sobre 11 pacientes con síndrome de oftalmoplejía externa progresiva crónica (CPEO), puso de manifiesto un descenso de los niveles de glutatión reducido en plasma y en los eritrocitos cuando se comparaba con controles sanos ajustados por edad. Por otro lado, en otro estudio se analizaron los niveles de glutatión reducido en 24 biopsias de músculo esquelético de pacientes con algún defecto en la cadena de transporte electrónico y se observó que en el músculo de estos pacientes también se observaron niveles más reducidos de glutatión que en los controles ajustados por edad. Además, este déficit de glutatión era más marcado en aquellos pacientes que tenían afectados más de un complejo de la cadena de transporte electrónico. Por último, en otro trabajo se evaluaron los niveles de glutatión reducido en leucocitos de sangre periférica de pacientes con alguna enfermedad mitocondrial. Se detectaron bajos niveles de glutatión reducido en linfocitos, monocitos y neutrófilos con respecto a los controles.

El glutatión reducido se puede determinar mediante HPLC y parece ser un marcador más sensible que el lactato para el diagnóstico de enfermedades mitocondriales ya que sus niveles comienzan a alterarse de forma más temprana que el lactato, cuando la cadena de transporte electrónico mantiene cierta actividad

que permite sustentar el metabolismo aeróbico, pero con ciertas alteraciones que se traducen en una mayor producción de especies reactivas de oxígeno las cuales van a ser neutralizadas por el glutatión reducido. Sin embargo, al igual que ocurría con el lactato, presenta poca especificidad y se ve alterado en múltiples patologías como aquellas que cursan con una disfunción mitocondrial secundaria, con una sobreproducción de especies reactivas de oxígeno, con un descenso de compuestos antioxidantes o con cualquier patología que impida la correcta síntesis de NADPH necesario para la regeneración del glutatión como por ejemplo el déficit de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa. Por último, el procesamiento de las muestras es más complejo que en el caso del lactato ya que si no se desea procesar las muestras cuando son recibidas, se debe proceder a la desproteinización y derivatización de las mismas para evitar la oxidación del glutatión.

Al comparar el lactato y el glutatión se observa que este último no aporta grandes ventajas. El glutatión es algo más sensible y se ve menos afectado por la actividad física del paciente previa a la extracción, pero su análisis resulta más complejo tanto por el pretratamiento al que se someten las muestras como por la técnica en sí, sobre todo si lo comparamos con la determinación del lactato que es una técnica ya estandarizada y muy común en todos los laboratorios.

Aunque existe una fuerte investigación en este campo y se están utilizando nuevos enfoques para identificar nuevos biomarcadores de enfermedad mitocondrial basados, por ejemplo, en perfiles de los lípidos mitocondriales, hoy por hoy no existe ningún metabolito con la suficiente sensibilidad y especificidad para ser considerado un buen biomarcador de enfermedad mitocondrial.

3. Biomarcadores basados en citoquinas:

En los últimos 5 años el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-21) y el factor de crecimiento y diferenciación 15 (GDF-15) han sido propuestos como dos prometedores biomarcadores de enfermedad mitocondrial. Estos biomarcadores son más sensibles y específicos que los que se han usado tradicionalmente, pero todavía no se usan en la práctica clínica diaria.

❖ 3.1 FGF-21:

El FGF-21 es una citoquina involucrada en el metabolismo de los glúcidos y los lípidos. En modelos animales, la producción hepática de FGF-21 se induce por la activación de PPAR-alfa en situaciones de ayuno, sin embargo, en humanos esto no está tan claro y algunos autores afirman que el FGF-21 se induce como un mecanismo de protección ante estrés metabólico para inducir la expresión de proteínas implicadas en las vías antioxidantes (como la glutatión reductasa). FGF-21 se sintetiza fundamentalmente en el hígado, pero también se expresa en menor proporción en los adipocitos, miocitos y en el páncreas.

Los niveles séricos de FGF-21 se elevan de forma sensible y específica en las miopatías mitocondriales. Además, cuanto menor es la actividad de la cadena de transporte electrónico más altos son los niveles de FGF-21. Sin embargo, también se han descrito niveles elevados de FGF-21 en otras patologías como el cáncer, la obesidad, la enfermedad renal, la diabetes y alteraciones hepáticas. No obstante, recientemente se ha demostrado que los niveles séricos de FGF-21 se elevan de forma más significativa en aquellos trastornos que afectan a la correcta traducción de los ARN sintetizados por la mitocondria encontrándose niveles ligeramente elevados o normales cuando la alteración de la cadena de transporte se debe a mutaciones en alguna de las proteínas que constituyen los complejos de la cadena de transporte o electrónico o que originan un ensamblaje defectuoso de dichos complejos. También se han descrito elevaciones de los niveles de FGF-21 en aquellos pacientes con depleción mitocondrial por mutaciones en los genes nucleares implicados en el mantenimiento del genoma mitocondrial.

❖ 3.2. GDF-15:

El factor de crecimiento y diferenciación 15, GDF-15 es una citoquina de la superfamilia del TGF-β y se expresa fundamentalmente en la placenta, el riñón, el hígado, el pulmón, el páncreas y la próstata.

Parece estar involucrado en la supresión de la inflamación durante las etapas iniciales del embarazo. Además, también se expresa en el plexo coroideo donde actúa como un potente factor neurotrófico para las neuronas sensitivas y motoras. En humanos parece que se expresa gracias a la activación del factor de transcripción 4 (ATF4) el cual es un gen de respuesta al estrés.

Los niveles séricos de GDF-15 constituyen un marcador sensible y específico para el diagnóstico de las enfermedades mitocondriales. Su determinación junto con la del FGF-21 mejora la capacidad diagnóstica

de cada marcador por separado. FGF-21 es un mejor marcador de enfermedad mitocondrial cuando los pacientes cursan con miopatía mientras que GDF-15 se puede utilizar como marcador independientemente del fenotipo de los pacientes aunque se detectan niveles algo más altos cuando existen manifestaciones sistémicas.

Al igual que ocurre con FGF-21, los niveles de GDF-15 se elevan de forma más significativa en pacientes de enfermedad mitocondrial causada por alteraciones en la traducción del ARNm mitocondrial o por depleción del ADN mitocondrial. Sin embargo, se detectan valores elevados de GDF-15 en otras patologías, especialmente en la insuficiencia cardiaca y enfermedades hepáticas.

Sin embargo, tanto para FGF-21 como para GDF-15, son necesarios más estudios que permitan evaluar su relación con la severidad de la enfermedad y con los fármacos utilizados actualmente como tratamiento de estas patologías.

4. Biomarcadores obtenidos empleando técnicas de imagen:

Las técnicas de imagen cada vez se utilizan más para estudiar la progresión de las enfermedades neuromusculares. La mayoría de los estudios que utilizan estas técnicas de imagen se han centrado en pacientes con distrofias musculares o miopatía mitocondriales, sin embargo, estas patologías comparten características comunes con las enfermedades mitocondriales, y surge por tanto la posibilidad de utilizar estas técnicas para el diagnóstico y el seguimiento de estas patologías. Para estudiar estas enfermedades se puede recurrir a técnicas que aportan información estructural como el TAC o la RMN o a otras técnicas capaces de proporcionar información funcional como el PET. Estas técnicas constituyen unas herramientas diagnósticas no invasivas que además proporcionan datos cuantitativos obtenidos de una gran cantidad de tejidos, por lo que se han convertido en herramientas muy atractivas para el diagnóstico y el seguimiento de distintas patologías.

La resonancia magnética cerebral es una técnica de imagen que proporciona una información muy útil en las enfermedades mitocondriales con afectación encefálica. Esta técnica permite detectar atrofia cerebral o cerebelosa, leucoencefalopatías y episodios cerebrovasculares o similares. Sin embargo, estos hallazgos son muy variables y poco específicos de modo que, aunque aportan una información relevante desde el punto de vista clínico, no son buenos marcadores de enfermedad mitocondrial. Por otro lado, la información obtenida en RMN del músculo extraocular en individuos con oftalmoplejia externa progresiva crónica correlaciona bastante bien con la restricción del movimiento ocular y proporciona una medida cuantitativa de la gravedad de la enfermedad. Gracias a estas técnicas se han podido identificar incluso anomalías cardiacas estructurales en pacientes con la mutación m.3243A>G.

❖ 4.1. Espectroscopia de resonancia magnética:

La espectroscopia de resonancia magnética es una técnica de imagen funcional que permite cuantificar las concentraciones de ciertos metabolitos como el lactato, la colina, el N-acetil aspartato o incluso la proporción de metabolitos fosforados. Una forma eficaz de evaluar la síntesis de ATP en el músculo consiste en determinar mediante esta técnica el tiempo que tarda el músculo en recuperar los niveles de fosfocreatina tras realizar un determinado ejercicio.

La aplicación de esta técnica sobre el cerebro de pacientes de enfermedad mitocondrial ha permitido detectar niveles elevados de lactato, pero apenas se ha estudiado la variación de estos niveles con la progresión de la enfermedad o con el uso de ciertos fármacos. Estudios recientes han permitido identificar diferentes patrones entre controles, pacientes con MELAS e individuos presintomáticos que finalmente acabaron desarrollando MELAS. Incluso, algunos autores mantienen que los niveles de lactato y colina de determinadas áreas del cerebro podrían usarse como biomarcadores para predecir el riesgo de desarrollar un fenotipo compatible con MELAS en pacientes portadores.

❖ 4.2. Tomografía de emisión de positrones:

A diferencia de la espectroscopia de resonancia magnética que determina los niveles tisulares de ciertos metabolitos, la tomografía de emisión de positrones mide el flujo metabólico permitiendo así el estudio del metabolismo tisular. Para el estudio de las enfermedades mitocondriales uno de los metabolitos marcados más utilizados es la fluorodesoxiglucosa.

Los datos obtenidos a partir del PET han identificado una gran variedad de anomalías metabólicas en pacientes con enfermedad mitocondrial. Los pacientes con MELAS han sido los más estudiados y en el cerebro de estos pacientes se observa un consumo de glucosa reducido en el área occipital y parietal. Estos hallazgos se han identificado también en pacientes de otras enfermedades mitocondriales a pesar de que no presentaban síntomas neurológicos.

Sin embargo, todavía son necesarios más estudios antes de utilizar esta técnica como marcador de enfermedad mitocondrial. Además, hay que tener presente que el uso de isotopos radiactivos es una limitación de la técnica que impide que se use de forma indiscriminada en todos los pacientes.

- 4.3. Otros biomarcadores obtenidos empleando técnicas de imagen:

Aunque la RMN es una técnica de imagen que ofrece fundamentalmente información estructural, recientemente ha surgido una variante que permite estudiar los procesos hemodinámicos cerebrales, concretamente mide el OEF o factor de extracción de oxígeno que cuantifica la relación existente entre el suministro y el consumo de oxígeno. El OEF se presenta como un marcador con una gran uniformidad en las distintas áreas cerebrales y con poca variedad interindividual.

Dado que en los pacientes con MELAS ya se han descrito menores tasas de consumo de glucosa, se ha propuesto estudiar el OEF y los últimos estudios confirman un menor consumo de oxígeno en las mismas zonas del cerebro en las que se detecta un menor consumo de glucosa lo que permite confirmar una menor tasa metabólica en estas zonas.

Esta nueva metodología también permite determinar el OEF en músculo y aunque de momento solo se han realizado estudios sobre individuos sanos, sería muy interesante aplicar esta tecnología a pacientes de enfermedad mitocondrial ya que es esperable que estos pacientes presenten un OEF menor que los controles sanos.

Otra variante de la RMN es la que incorpora la tecnología de polarización nuclear dinámica. A diferencia del PET y de la espectroscopía de resonancia magnética esta nueva metodología es más sensible y permite detectar metabolitos que se encuentran a bajas concentraciones en los tejidos como las especies reactivas de oxígeno. Sin embargo, los pocos estudios existentes en la actualidad se han centrado en la vía glicolítica de forma general y en el piruvato en particular y todos se han realizado sobre individuos sanos.

Por último, también se están investigando nuevos compuestos marcados que mediante PET permitan determinar in vivo la actividad de los complejos de la cadena respiratoria.

5. Otros biomarcadores en estudio:

Recientemente, se han descrito pequeñas moléculas señalizadoras que son capaces de cuantificar la función mitocondrial a través de la medición de ciertos metabolitos y especies reactivas de oxígeno. Esta tecnología se basa en administrar por vía sanguínea dichas moléculas que se acumulan en las mitocondrias, reaccionan con el compuesto de interés y se convierten en marcadores directamente relacionados con la cantidad de sustrato inicial. Sin embargo, esta tecnología se encuentra en fase de experimentación animal y por ahora es necesario sacrificar al animal para cuantificar de forma correcta el marcador, aunque se están estudiando sondas que al reaccionar produzcan marcadores capaces de eliminarse en orina.

La respirometría cutánea es una técnica capaz de medir de forma objetiva el funcionamiento de la cadena de transporte electrónico in vivo, de forma no invasiva y sin utilizar técnicas de imagen. Esta técnica utiliza un dispositivo que se coloca sobre la piel que cubre el esternón y que es capaz de medir el consumo de oxígeno mitocondrial. Esto lo hace aprovechando las distintas propiedades ópticas de la protoporfirina IX, un precursor del grupo hemo sintetizado en el interior de la mitocondria, cuando se encuentra libre o unida al oxígeno. Sin embargo, por el momento, esta tecnología solo se ha probado en individuos sanos.

6. Conclusiones:

- Todas las enfermedades mitocondriales cursan con un déficit de ATP, sin embargo, este grupo de patologías es muy heterogéneo lo que complica la identificación de nuevos biomarcadores.

- Aunque en los últimos años han surgido biomarcadores séricos y otros basados en técnicas de imagen que permiten detectar un descenso en la actividad de la cadena de transporte electrónico, la sensibilidad y especificidad de estos biomarcadores no es muy alta.
- Actualmente, el FGF-21 y GDF-15 son los dos biomarcadores de enfermedad mitocondrial más prometedores tanto por la facilidad de su medición, como por su sensibilidad y especificidad, aunque todavía son necesarios más estudios que permitan correlacionar estos marcadores con la progresión de la enfermedad.
- Probablemente no exista ningún biomarcador ideal de enfermedad mitocondrial sino que tal vez sea necesaria una combinación de varios para lograr una sensibilidad y especificidad adecuada en el diagnóstico de las enfermedades mitocondriales.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

1. Coleman WB, Tsongalis GJ, editors. Molecular Pathology: The Molecular Basis of Human Diseases. Amsterdam: Elsevier; 2009.
2. Steele HE, Horvath R, Lyon JJ, Chinnery PF. Monitoring clinical progression with mitochondrial disease biomarker. Brain. 2017;140(10):2530-40.
3. Enns GM, Cowan TM.. Glutathione as a redox biomarker in mitochondrial disease - Implications for therapy. J Clin Med. 2017 May 3;6(5).
4. Lehtonen JM, Forsström S, Bottani E, Viscomi C, Baris OR, Isoniemi H, et al. FGF21 is a biomarker for mitochondrial translation and mtDNA maintenance disorders. Neurology. 2016;87(22):2290-9.
5. Boenzi N, Diodato D. Biomarkers for mitochondrial energy metabolism diseases. Essays Biochem. 2018;62(3):443-54.

BLOQUE II

SESIONES BIBLIOGRÁFICAS

MIELOMA MÚLTIPLE: REVISIÓN

Autor: Irene Hidalgo Mayoral

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Mieloma Múltiple, Proteínas, Gammapatías, Oncología

INTRODUCCIÓN

El mieloma múltiple (MM) se define como un desorden neoplásico que cursa con una proliferación clonal de células plasmáticas malignas en el interior de la médula ósea que producen una elevada concentración de una inmunoglobulina monoclonal, conocida como componente monoclonal (CM) o paraproteína. Esta inmunoglobulina puede ser IgG, IgA, IgM, IgD o IgE en función de su cadena pesada, y kappa o lambda en función de la cadena ligera.

El mieloma Múltiple supone el 1-2% de todos los cánceres y alrededor del 10% de las enfermedades hematológicas malignas, siendo la segunda causa más común después del Linfoma no Hodking.

Es una enfermedad de debut tardío, con una edad media de aparición en torno a la sexta década de vida, y sólo un 15 % y un 2% se diagnostica antes de los 50 y de los 40 años, respectivamente. Su incidencia es ligeramente superior en hombres y en población de raza negra, y el riesgo de desarrollo de la enfermedad aumenta en personas con un familiar afecto en primer grado.

Es una enfermedad incurable pero sí tratable, por lo que el diagnóstico precoz es clave: el diagnóstico en estadios tempranos permite mejorar la supervivencia de los pacientes y disminuir la aparición de complicaciones secundarias.

ETIOLOGIA Y PATOGENESIS

A día de hoy se desconocen las causas que originan la aparición del mieloma múltiple, aunque sí se han descrito factores de riesgo de aparición relacionados con la edad avanzada, predisposición genética y presencia de gammapatía monoclonal previa.

En muchos casos viene precedido de un estado premaligno asintomático denominado Gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI), presente en el 3-4% de la población por encima de los 50 años, y que se debe a un primer cúmulo de alteraciones genéticas, que requiere de procesos oncogénicos adicionales para progresar a Mieloma Múltiple. La evolución de GMSI es variable: puede permanecer estable durante años y no progresar, o bien puede progresar a Mieloma Múltiple. El riesgo de progresión de GMSI a mieloma múltiple es de 0.5-1% anual, pero varía en función de la concentración de paraproteína, el tipo, el ratio de cadenas ligeras libres, el porcentaje de células plasmáticas en médula ósea (MO) y la proporción de células de fenotipo maligno, y la presencia o no de inmunoparesia.

Existe otro estadio intermedio entre MGSI y MM denominado Mieloma Múltiple Quiescente (MMQ) en el que el riesgo de progresión a malignidad en 5 años tras el diagnóstico es mucho mayor, alrededor de 10% anual.

Desarrollo secuencial de alteraciones oncogénicas en el desarrollo de la enfermedad

Las primeras alteraciones oncogénicas se presentan en la gammapatía monoclonal de significado incierto y afectan a dos vías patogénicas:

- Vía hiperploide: Se asocia con múltiples trisomías de los cromosomas impares y menor incidencia de monosomía 13/13q-.
- Vía no hiperdiploide: Se asocia con translocaciones primarias en la cadena pesada de las inmunoglobulinas (IGH) y translocaciones de la cadena ligera, con una alta incidencia de monosomía 13/13q-.

Otras anomalías, translocaciones secundarias de IgH y cambios epigenéticos pueden aparecer en cualquier estadío. Las alteraciones oncogénicas tardías se producen cuando el clon tumoral se vuelve más agresivo, y entre ellas figuran el aumento de la expresión de c-MYC o deleciones de P53.

FISIOPATOLOGÍA

La fisiopatología del mieloma es compleja. La mayoría de los pacientes con mieloma múltiple presentan sintomatología derivada de la proliferación de células plasmáticas, su infiltración e interacción con el microambiente celular, y del exceso de paraproteína secretada.

La sintomatología clásica se conoce por las siglas CRAB (*calcium, renal, anemia, bone*):

- Anemia: Anemia normocítica y normocrómica, relacionada con el desplazamiento en médula ósea o el daño renal.
- Dolor óseo: Aparece principalmente en espalda y pecho, y menos frecuentemente en las extremidades. Normalmente es inducido por el movimiento y no ocurre durante la noche excepto con los cambios de posición. El dolor se debe a la presencia de lesiones óseas de carácter lítico, causadas un desequilibrio en la función de los osteoblastos y los osteoclastos.
- Daño renal: La concentración sérica de creatinina está aumentada casi en la mitad de los pacientes. Las dos causas principales de insuficiencia renal en el mieloma múltiple son la nefropatía por depósito de cadenas ligeras (también llamado mieloma de riñón) y la hipercalcemia. Otras gammapatías cursan también con daño renal, como la amiloidosis de cadenas ligeras o la enfermedad por depósito de cadenas ligeras.
- Hipercalcemia: La osteolisis provoca la movilización de calcio óseo y la consiguiente hipercalcemia aguda o crónica.

Otros síntomas que pueden aparecen incluyen: Desórdenes neurológicos consecuencia de la compresión medular o de raíces nerviosas, infecciones bacterianas de repetición (sobre todo por *Streptococcus pneumoniae* y organismos Gram- negativos), alteraciones hemorrágicas mucocutáneas resultado de presencia de trombocitopenia y síndrome de hiperviscosidad.

FORMAS CLÍNICAS ESPECIALES

En algunos casos el mieloma no se presenta en la forma habitual, y la estrategia de seguimiento y tratamiento es diferente. Se diferencian las siguientes formas:

Mieloma no secretor: Carece de componente monoclonal detectable. Puede ser no productor (células plasmáticas negativas para inmunoglobulina citoplasmática) o no secretor (células plasmáticas positivas para inmunoglobulina citoplasmática).

Plasmocitoma óseo solitario: Proliferación de células plasmáticas localizada en una región ósea, sin infiltración de MO. La supervivencia suele ser larga, pero un porcentaje de los casos evoluciona a MM.

Plasmocitoma extramedular: Proliferación de células plasmáticas fuera del sistema óseo, generalmente en el aparato gastroduodenal o respiratorio.

Leucemia de células plasmáticas: Tiene una incidencia del 2% de los MM. Puede aparecer como parte del cuadro inicial del MM o en la fase terminal. En el 90% de los casos aparece asociado a una monosomía del cromosoma 13, y presenta mal pronóstico, con un curso clínico muy agresivo.

Mieloma osteosclerótico (POEMS): Se caracteriza por Polineuropatía, Organomegalia, Endocrinopatía, pico Monoclonal y cambios cutáneos o skin. Rara vez evoluciona a MM.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

- Pruebas de laboratorio
  - Hemograma, examen de frotis de sangre periférica y bioquímica sérica (creatinina, urea, calcio, fósforo, proteínas totales, albúmina, β2 microglobulina sérica, LDH y PCR): permiten evaluar el estado general del paciente y determinar el estadio de la enfermedad.
  - Estudio de proteínas:

La presencia de Componente monoclonal en suero u orina es uno de los principales criterios para el diagnóstico de Mieloma Múltiple. El 97% de los pacientes presentan un CM que puede ser detectado, pero hay un pequeño porcentaje de pacientes en los que no se detecta en suero ni en orina en el momento del

diagnóstico (MM no secretor). En algunos casos el CM es detectable aunque mínimo, y estamos ante un Mieloma Múltiple oligosecretor.

En los MM secretores, casi el 80% secretan inmunoglobulina completa (isotipo IgG en la mayoría de los casos), mientras que un 15% de los MM se caracterizan por secretar únicamente cadenas ligeras libres en orina (MM de Bence Jones o de cadenas ligeras).

- **En suero:**
  - Detección y cuantificación del componente monoclonal (CM) mediante electroforesis (EF), que permite separar las proteínas en función de su migración diferencial al ser sometidas a un campo eléctrico. Tras la separación se visualizan las diferentes fracciones proteicas (albúmina, α1-globulina, α2-globulina, β-globulinas y γ-globulinas; la fracción de las β-globulinas puede visualizarse como dos fracciones, β1-globulina y β2-globulina en función del método empleado). La cuantificación del CM se calcula en base al porcentaje de cada fracción del perfil electroforético respecto a la concentración de proteínas totales medida por un método espectrofotométrico.
  - Identificación del componente monoclonal y tipificación, preferentemente mediante Inmunofijación (IF). Pueden aparecer bandas monoclonales debidas a la polimerización de la paraproteína o al tratamiento con anticuerpos monoclonales, que deben tenerse en cuenta en la interpretación de los resultados. Hay que destacar también la posible aparición de un componente biclonal o del cambio de isotipo de la paraproteína tras el tratamiento farmacológico o trasplante de células hematopoyéticas.
  - Cuantificación de Cadenas Ligeras Libres (FLC): determinación de la concentración de FLC-Kappa, FLC-Lambda y ratio FLCk/FLCl. La cuantificación debe realizarse siempre, y resulta especialmente útil en aquellas situaciones en las que la proteína monoclonal sintetizada tiene una concentración muy baja, ej.: en casos de MM no secretor y oligosecretor, y en MM de cadenas ligeras o Bence Jones.
- **En orina de 24 h:**
  - Cuantificación del componente monoclonal (CM) mediante electroforesis, previa medida de proteínas urinarias. Si la filtración de cadenas ligeras es muy elevada, la capacidad de reabsorción y catabolismo de los túbulos renales se supera, y las cadenas aparecen en orina.
  - Confirmación de la monoclonalidad del componente y tipificación, mediante Inmunofijación (IF), utilizando anticuerpos frente a kappa y frente a lambda.

En el documento de consenso “Recomendaciones para el estudio de las gammapatías monoclonales” (2009), se establece una propuesta de seguimiento analítico:

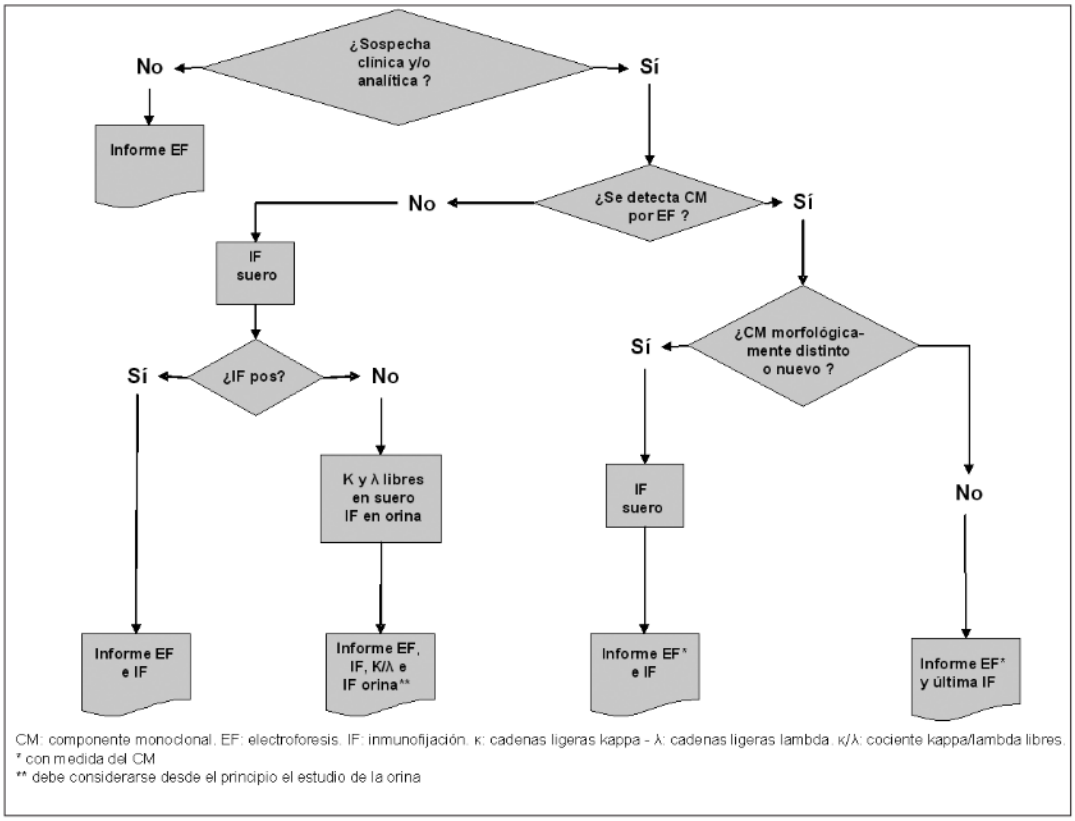


Figura 1. Propuesta de seguimiento analítico de los componentes monoclonales.
La periodicidad del seguimiento es variable: GMSI de alto riesgo 6 meses, GMSI de bajo riesgo 12 meses, MMQ de alto riesgo 3 meses, MMQ de bajo riesgo 6 meses y MM en tratamiento 1 mes.
Tomado de Martínez-Brú C, 2009.

- Pruebas de imagen

Permiten la evaluación de las lesiones líticas. Los métodos de imagen incluyen la tomografía computarizada (TAC), PET-TAC y Resonancia magnética (RMN), que presentan mayor sensibilidad que la radiología convencional (RX).

Las lesiones óseas son en general multifocales y ocurren con mayor frecuencia en el esqueleto axial. El rasgo característico de las lesiones es un aspecto lítico en "sacabocado", aunque pueden presentarse como destrucciones parciales o insuflaciones.

- Estudio de médula ósea (MO)
  - Contaje de células plasmáticas en MO y determinación del inmunofenotipo: la citometría de flujo y los estudios de reordenamiento son los más utilizados para establecer la clonalidad fenotípica.
  - Estudio citogenético: permite evaluar el pronóstico del mieloma y el tratamiento a utilizar. Se utilizan técnicas de cariotipado convencional y FISH para la detección de hiperploidias y marcadores de alto riesgo citogenético. Las anomalías más frecuentes son las translocaciones del cromosoma 14 (t(4;14), t(14;16)), la deleción o ganancia del cromosoma 1 (del 1p/ganancia 1q) y la deleción de p53 (del(17p)).

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS

En 2003 el International Myeloma Working Group definió los criterios diagnósticos que permitían clasificar los tres estadios del Mieloma. Se definía el Mieloma Múltiple por la presencia de daño orgánico, atribuido al proceso de proliferación clonal (CRAB). En 2014 se revisaron los criterios diagnósticos, y se añadieron

tres criterios diagnósticos que podían ser usados para el diagnóstico de Mieloma Múltiple en pacientes sin sintomatología clínica (mieloma precoz).

Gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) Se requieren 3 de los siguientes supuestos	
• Componente monoclonal (CM) en suero <3g/dl • Células plasmáticas (CP) medulares <10% • No evidencia de daño orgánico relacionado con el mieloma	Mayor Riesgo Progresión si • [CM] >1.5 g/dl • Isotipo no IgG • Ratio FLC anormal
Mieloma múltiple asintomático o quiescente Se deben cumplir estos 2 criterios	
• CM (s) (IgG o IgA)≥ 3g/dl y/o CM (o) ≥500 mg en 24 h y/o CP en MO entre 10-60% • Ausencia de signos CRAB o de amiloidosis	
Mieloma Múltiple	
• CP clonales en MO>=10% o biopsia confirmatoria de plasmocitoma óseo o extramedular y uno o varios de los siguientes eventos: A) Evidencia de daño orgánico atribuible al desorden de proliferación de células plasmáticas B) Cualquiera de los siguientes biomarcadores de malignidad: • Clonal CP en MO >=60% • Ratio de cadenas ligeras implicadas/no implicadas>=100 • Presencia de más de 1 lesión focal en resonancia magnética	

Tabla 1. Criterios diagnósticos de Mieloma Múltiple. *International Myeloma Working Group* (2014)

ESTADIAJE

Permite establecer el pronóstico de los pacientes, identificar grupos de riesgo y optimizar los tratamientos. Está basado en la carga de masa tumoral y en factores del paciente.

El primer sistema de estadiaje que se adoptó fue el Sistema de Estadiaje de Durie y Salmon (DS, 1975), basado en la localización y extensión del mieloma, y que predecía la carga tumoral de los pacientes en base a: la concentración y tipo de proteína monoclonal, concentración de hemoglobina, concentración de calcio y el número de lesiones óseas. Se utilizaba además el valor de creatinina para distinguir grupos de riesgo dentro de cada estadio. Este sistema utilizaba únicamente la carga tumoral como factor pronóstico, sin tener en cuenta la variabilidad biológica de la enfermedad, y no era objetivo al depender del observador que determinase las lesiones líticas.

Con posterioridad, se propusieron otros parámetros como factores pronósticos, y en 2005 apareció el Sistema Internacional de Estadiaje (ISS), que proponía la utilización de la beta2-microglobulina y la albúmina para clasificar a los pacientes según tasas de supervivencia.

En 2015 se publicó una revisión del Sistema Internacional de Estadiaje (ISS-R) en el que se incorporaban datos de citogenética y niveles de LDH.

Los criterios de estadiaje de los tres sistemas quedan recogidos en la tabla siguiente:

ISS		ISS-R	
Estadio I	β2-microglobulina < 3.5mg/l Albúmina sérica ≥ 3.5 g/dl	Estadio I	Criterios ISS-I Riesgo citogenético estándar LDH en rango de normalidad
Estadio II	No cumple criterios ISS-I ni ISS-III	Estadio II	No cumple criterios ISS-R-I ni ISS-R-III
Estadio III	β2-microglobulin ≥ 5.5mg/l	Estadio III	ISS-III Riesgo citogenético alto o LDH elevada Alto riesgo citogenético del (17p) y/o t(4;14) y/o t(14;16)

DS				
Estadio I (Cumple todos los criterios)	Hb (g/dl)	Ca (mg/dl)	Rx	CM
	> 10	N o < 10.5	Normal o Plasmocitoma solitario	Bajo CM IgG < 5g/dl IgA < 3 g/dl BJ < 4g/24h
Estadio II	No cumple criterios Estadio-I ni Estadio-III			
Estadio III (Cumple 1 o más criterios)	Hb (g/dl)	Ca (mg/dl)	Rx	CM
	< 8.5	> 12	Lesiones líticas avanzadas (en más de 3 regiones o fractura patológica no vertebral)	Alto CM IgG > 7 g/dl IgA > 5 g/dl BJ > 12 g/24 h

Tabla 2. Criterios de estadiaje de los tres sistemas.

TRATAMIENTO

Las guías clínicas recomiendan que los únicos pacientes que deben recibir tratamiento son aquellos con Mieloma Múltiple sintomático, puesto que los pacientes con GMSI o MM quiescente pueden permanecer estables durante años sin requerir tratamiento. Los pacientes con MM quiescente con criterios de alto riesgo de progresión pueden ser candidatos a tratamiento, pero únicamente en el contexto de un ensayo clínico.

Actualmente se dispone de los siguientes grupos terapéuticos para el tratamiento del MM, además del trasplante autólogo o alogénico: corticosteroides, quimioterapia con agentes alquilantes o antraciclinas, inmunomoduladores, anticuerpos monoclonales, inhibidores del proteosoma e inhibidores de la histona deacetilasa.

El tratamiento de primera línea para el Mieloma Múltiple tiene dos abordajes:

1. Candidatos a trasplante autólogo con sangre periférica (TASPE): pacientes < 65-70 años sin comorbilidades.

- Inducción: quimioterapia a altas dosis para reducir la carga tumoral. Se recomienda una terapia triple que combine un inhibidor de proteasoma, un inmunomodulador y dexametasona (Por ejemplo, un esquema VTD o VRD).
- Trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TASPE) con acondicionamiento con melfalán.
- Mantenimiento: esquema de quimioterapia a dosis bajas, de tiempo variable.

2. No candidatos a trasplante autólogo: pacientes > 65-70 años o con situaciones de comorbilidad que impiden la realización de un trasplante.
   - Inducción: Esquema más utilizado es el VMP o VISTA. Se puede incorporar un anticuerpo monoclonal en combinación como el daratumumab.
   - Mantenimiento.

Además del tratamiento de la enfermedad, es necesario un tratamiento de soporte dirigido a controlar el dolor, reducir las complicaciones y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

RESPUESTA AL TRATAMIENTO

El Mieloma Múltiple es una enfermedad tratable, pero no incurable, debido a que la mayoría de los pacientes presentan episodios de recaída o progresión de la enfermedad a lo largo de su evolución. Sólo una fracción de pacientes obtiene respuestas muy duraderas, con una supervivencia libre de progresión prolongada.

Tras el tratamiento inicial, se consigue reducir la presencia del componente monoclonal y se alcanza un periodo de remisión de la enfermedad con mejoría clínica conocido como fase de meseta. El tiempo que se tarda en alcanzar es variable, y oscila desde 3 a 6 meses (respuesta rápida) hasta 12 a 18 meses (respuesta lenta).

Para clasificar la respuesta al tratamiento se recomiendan los criterios de respuesta del IMWG (*International Myeloma Working Group*), que define las siguientes categorías de respuesta: respuesta completa estricta, respuesta completa, muy buena respuesta parcial, respuesta parcial, respuesta mínima y enfermedad estable.

La duración de la fase de meseta es también variable, y depende de la existencia o no de células tumorales no detectadas con la metodología convencional (enfermedad mínima residual). Si estas células comienzan a proliferar, y en función de lo buena que fuese la respuesta al tratamiento anterior, se habla de enfermedad en progresión o enfermedad en recaída. Tras cada recaída el paciente se vuelve menos sensible al tratamiento de rescate, y la enfermedad se hace refractaria.

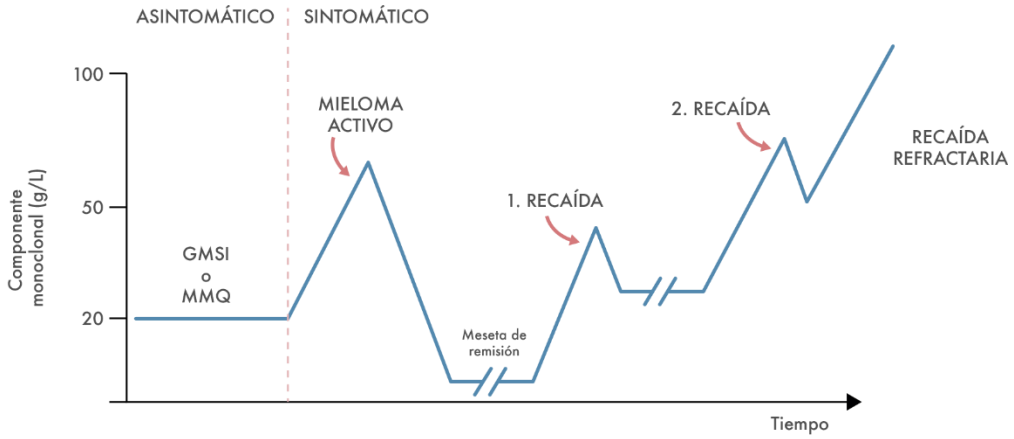


Figura 2. Fases de la enfermedad. Adaptado de B.G.M. Durie, 2017.

El pronóstico de las recaídas depende de varios factores, entre ellos el perfil citogenético al diagnóstico y en la recaída, el tiempo a la progresión desde la respuesta inicial o desde la respuesta anterior en caso de múltiples episodios, y la historia terapéutica previa. Se utilizan diferentes líneas terapéuticas aprobadas en el tratamiento de las recaídas, y en última instancia, se plantea la inclusión de los pacientes en ensayos clínicos (destacar la inmunoterapia con células CART, con resultados muy prometedores).

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

1. Rajkumar SV, Kyle RA. Clinical features, laboratory manifestations, and diagnosis of multiple myeloma [monografía en Internet]. Walthman (MA): UpToDate; 2013. Disponible en: http://www.uptodate.com
2. Pérez Surribas D, Cárdenas Fernández MC, Zapico Muñiz E. Recomendaciones sobre la separación electroforética de las proteínas plasmáticas en el suero (2014). Sociedad Española de Medicina de Laboratorio; 2015. Documentos de la SEQC 2014. p. 91–104.
3. Martínez-Brú C, García Sanz R, Martínez-López J. Recomendaciones para el estudio de las gammapatías monoclonales. Sociedad Española de Medicina de Laboratorio; 2009. Documentos de la SEQC 2009. p. 30–40.
4. Molina Garrido MJ, Guillén Ponce C, Guirado-Risueño M, Martínez Sevila C, Carrato Mena A. Diagnóstico diferencial de las gammapatías y procesos asociados. An Med Interna [Internet]. 2006;23(11):546–51.
5. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. Lancet Oncol [Internet]. 2014;15(12):e538–48. Disponible en: https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(14)70442-5/fulltext
6. García-Sanz R, Mateos MV, Victoria M, San Miguel JF. Mieloma múltiple. Med Clin (Barc). 2007;129(3):104-15.
7. Durie BGM. Concise review of the disease and treatment options. North Hollywood, CA: International Myeloma Foundation; 2018.

NOCIONES BASICAS DE SALUD PÚBLICA

Autor: Daniel Párraga García

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Salud pública, socioeconómico, educación, salud, estrés, esperanza de vida, educación, trabajo.

INTRODUCCIÓN

> *Pensar que la salud es primariamente producto de la medicina en lugar de la consecuencia de hábitos de vida y entornos saludables es una creencia poco realista*
>
> *Dr John Abramson. Profesor Harvard medical School*

Antes de nada me gustaría agradecer a la escuela ICNS la gran formación que imparte, sin la cual jamás habría escrito este artículo acerca de salud pública, un tema que como sanitarios debería de ser obligatorio que conociésemos.

Comenzamos el tema intentando definir lo que es la salud pública.

Como sus propias palabras indican, es la disciplina que se encarga de proteger la salud del conjunto de la población a través de medidas multidisciplinares, integrando estudios de ciencias biológicas, socioeconómicas, psicológicas, educación, medicina, etc.

Y es que, aunque tendría que ser la asignatura troncal de cualquier profesional que curse estudios universitarios relacionados con la salud, son pocas las universidades que lo abordan, y si lo hacen es a través de asignaturas optativas o de libre configuración.

En el artículo de hoy vamos a formarnos acerca de los factores más importantes a la hora de mejorar de verdad la salud de las personas.

MODELO BIOPSICOSOCIAL VS BIOMÉDICO

La OMS define la salud como el completo bienestar físico, psicológico y social de las personas. Esto se conoce como modelo biopsicosocial de la salud (1).

Por otro lado, tenemos la definición de salud como ausencia de enfermedad (modelo biomédico y quimiobiológico).

Aunque la definición de la OMS lleva ya medio siglo vigente, la realidad es que en los sistemas de salud de los diferentes países

La salud está fuertemente influenciada por el entorno de las personas, de forma que no son solo el resultado de decisiones individuales (agencia) sino que están determinadas por el tipo de sociedad, cultura o economía (estructura).

Aunque no es fácil cuantificarlo, se estima que el 80% de la esperanza de vida alcanzada en el siglo XX se debe a mejoras ambientales y socioeconómicas, especialmente en el suministro y depuración del agua, la mejor construcción de las viviendas, el mantenimiento de ciudades limpias, mejora en la economía, el trabajo, etc.

Imagen 1. Obtenida de https://pixabay.com.

La medicina ha contribuido mucho, aportando entre un 10-20%. El problema es que la mayoría de nosotros atribuimos casi el 100% de la mejora en esta esperanza de vida a la misma (2) (3)(4).

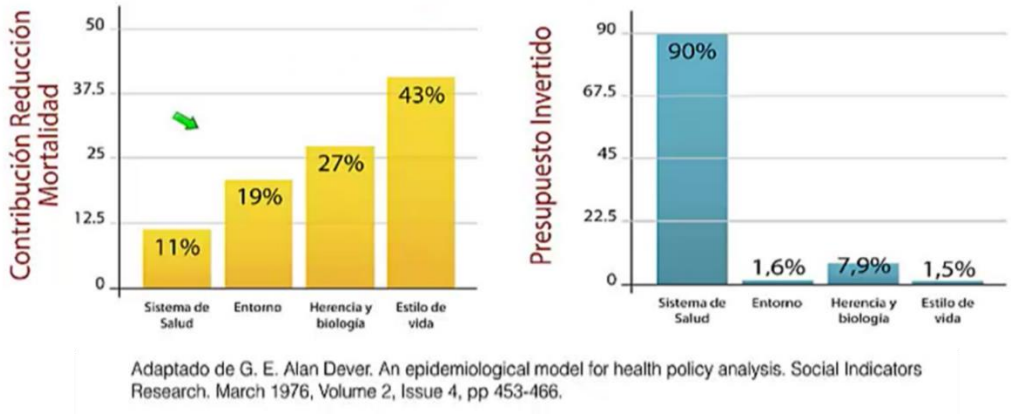


Imagen 2. Obtenida de "Master Coaching Nutricional y Sanitario" Escuela ICNS. Universidad Católica de Murcia. Tema 6: Salud Pública.

Analizando datos del país con mayor gasto *per cápita* en el sistema de salud médico, Estados Unidos, vemos que mayor gasto no correlaciona con mayor esperanza de vida. Podría pensarse que esto es debido a las desigualdades sociales y seguros privados que existen en Estados Unidos que beneficiarían a las clases altas y perjudicarían a las clases pobres, pero igualmente salen perdiendo tras la comparación con sus equivalentes europeos (5).

Imagen 3. Obtenida de "Master Coaching Nutricional y Sanitario" Escuela ICNS. Universidad Católica de Murcia. Tema 6: Salud Pública.

Otra revisión de la *Chorane* (6) muestra que a mayor oferta de servicios médicos no registran mejores estadísticas de salud, si no similares, o incluso peores (7). Posiblemente la explicación sea el coste de oportunidad. En el caso de EE.UU., se invierte muy poco en servicios sociales respecto a la inversión realizada en sanidad.

La salud de la sociedad está principalmente determinada por factores asociados a los estilos de vida y el entorno (sedentarismos, alimentación, tabaquismo, alcohol, polución, capacidad económica, nivel educativo, etc) (8) .

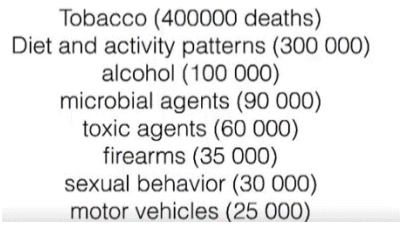


Imagen 4. Muertes anuales en EE.UU. por diferentes causas. Adaptado de Mokdad AH, Marks JS, Stroup DF, Gerberding JL. *Actual Causes of Death in the United States*, 2000.

Muchos de ellos dependen de nosotros el evitarlo o no. Veamos algunos ejemplos:

- Diabetes tipo II: asociada a factores modificables hasta en un 91%, tanto en hombres como en mujeres (9).
- Cáncer de colon a factores modificables en un 71% (10).
- Sedentarismo: Mata a 5 millones de personas al año (11).

La atención médica evita un 10-15% de las muertes (12), lo cual es una barbaridad, pero tenemos que ser conscientes del otro 85% compuesto por una gran cantidad de pequeños factores a los que quizás no le prestamos mucha atención.

Lo mejor de esto es que la mayoría de esos factores dependen de nosotros. Vamos a ver algunos de ellos:

VARIABLES SOCIOESTRUCTURALES

1. EDUCACIÓN

La OMS, en su informe de Estadísticas Sanitarias Mundiales 2007, concluye que existe una evidencia abrumadora al respecto. Con cada año extra de educación, la probabilidad de morir y enfermar decrece (13).

Imagen 5. Obtenida de https://pixabay.com.

2. FACTORES SOCIOECONÓMICOS

Nacer en un hogar pobre es la principal fuente de desigualdades a lo largo de la vida de una persona. La renta es un determinante de salud sólidamente establecido, de forma que las pérdidas de renta empeoran la salud de forma más determinante en los niveles bajos y pensionistas (14) (15).

3. FACTORES LABORALES

Los efectos del desempleo han sido asociados con un aumento de la mortalidad, peor salud mental, ansiedad, estrés, mayor incidencia de enfermedades y una mayor exposición a factores de riesgo ambientales (16).

Tras perder el trabajo, las probabilidades de sufrir un infarto o un ictus son el doble con respecto a la gente empleada (17).

Aquellos que perdieron el empleo en una crisis económica duplicaron su mortalidad (18).

Imagen 6. Obtenida de https://pixabay.com.

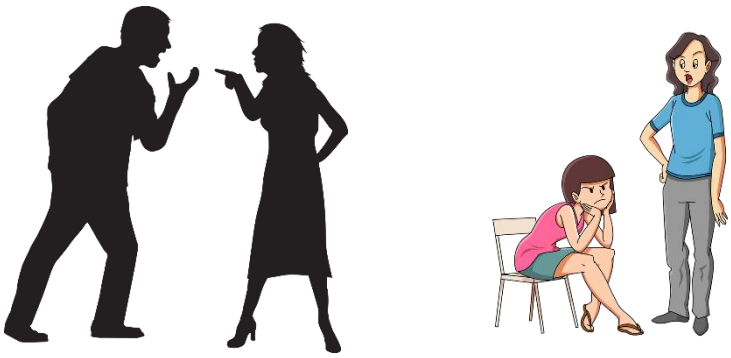
Perder el trabajo no supone solo una pérdida de recursos económicos, sino que también una pérdida de autonomía, estatus, seguridad, autoimagen y autoestima.

4. APOYO SOCIAL

El ser humano ha evolucionado siendo una especie social, ya que de ello dependía nuestra supervivencia. Hoy día convivimos con grupos de personas muchísimo más grandes que en toda la historia, pero nuestras relaciones sociales sufren más que nunca (19).

Las relaciones sociales con otras personas influyen mucho en nuestra salud, de forma que relaciones estresantes y conflictivas correlacionan con un aumento del riesgo de mortalidad.

Discusiones frecuentes con la familia, tanto hijos como parejas aumentan el riesgo de mortalidad, así como en el entorno laboral (20).



Imágenes 7 y 8. Obtenidas de https://pixabay.com.

El aislamiento social y la soledad son factores de riesgo equiparables a fumar o ser obeso. Una falta de conexión social es equiparable a fumar 15 cigarrillos (21).

La soledad aumenta mucho el riesgo de presentar hipertensión, corregido por edad, raza, factores de riesgo cardiovasculares, medicaciones, etc. (22). También aumenta la depresión clínica (23) (24).

No solo aumentan las posibilidades de enfermar, si no que en una población de gente ya enferma, disminuyen las probabilidades de recuperarse (25).

También el grado de cohesión con un grupo podría ser mejor predictor de evolución de personas con depresión clínica que el hecho de tener relaciones interpersonales.

Imagen 9. Obtenida de https://www.elmundo.es/salud/2016/06/15/57604bca268e3e1a0a8b457b.html.

ENTORNO

1. **VECINDARIO**

La diferencia en esperanza de vida entre un vecino de Orcasur (71,3) y otro del barrio de Salamanca (78,9) es de más de siete años, según un estudio del Ayuntamiento de Madrid avalado por la Sociedad Española de Epidemiología.

Imagen 10. Obtenida de https://elpais.com/diario/2007/12/05/madrid/1196857455_850215.html.

De nuevo el motivo es multifactorial:

- La característica de los vecindarios: **seguridad percibida**, la facilidad para **pasear** y la **confianza entre vecinos** está asociada a la cantidad de **actividad física** realizada, al **bienestar psicológico** y al riesgo de **infarto** (26).
- Barrios de menor status , **corregidos niveles individuales**, presentan mayor número de **agresiones, peor salud al nacer**, mayor enfermedad **cardiovascular**, enfermedades **contagiosas, mentales** etc (27).
- Las personas que viven en barrios con **comunidad de vecinos bien integrada** y con un buen nivel de apoyo social tienen **menor incidencia de ictus e infartos**, **corregidos por factores de confusión** (28).

Otras variables que afectan a la salud con respecto a la comunidad son:

- Densidad de establecimientos *fast food*
- Niveles de violencia
- Ruido
- Polución
- Malas edificaciones
- Abuso de drogas

Ejemplo: **Calton de Glasgow** es el lugar de Europa con menor esperanza de vida (**54 años**), donde se juntan todos estos factores como concentración de gente sin hogar, alcoholismo, nutrición pobre, falta de servicios comunitarios, paro y una depresión social generalizada. Obviamente **Calton no tiene un problema médico,** que como vimos era el responsable del aumento de la esperanza de vida del 15%, si no un problema de todas las demás variables.

Imagen 4. Obtenida de https://pixabay.com.

2. FACTORES AMBIENTALES

Según la OMS, el **24% de las enfermedades** a nivel mundial están causadas por exposición ambiental evitable, elevándose a un 33% en niños.

13 millones de muertes anuales se deben a estos factores, encontrándose muchas de ellas en países en **vías de desarrollo**. Casi 2000 millones de personas beben agua contaminada. Y no disponen de servicios básicos de saneamiento.1000 niños mueren al día debido a estas causas

200.000 muertes anuales en EEUU debido a la emisión de combustible (29).

En el mundo desarrollado, y más concretamente en **Madrid**, según datos de la Agencia Europea de Medio Ambiente **2500 muertes al años** con causadas por contaminación (30).

Una posible solución sería plantar árboles:

- Los **árboles** pueden reducir el número de **partículas emitidas** por coches y el **dióxido de nitrógeno en más de la mitad** (31).
- La proximidad a la naturaleza proporciona una mayor oportunidad para **realizar actividades al aire libre** (32).
- Tener **10 árboles rodeando un bloque de pisos** aumenta la percepción de salud a niveles comparables a tener un sueldo anual de **10.000 dólares mayor o ser 7 años más joven** (32).
- Los efectos de **desigualdades sociales se pueden contrarrestar** con la exposición a **espacios verdes** (33).

VARIABLES PSICOLOGICAS

PENSAMIENTOS Y CREENCIAS

Los pensamientos, creencias conductas y emociones afectan directamente a la biología del organismo.

Las personas optimistas viven más que las pesimistas, y tienen mejor funcionalidad física y psicológica, especialmente a medida que envejecemos (34) (35).

Aquellas que tienen un buen concepto de envejecer viven 7,5 años más de media, una estadística muy superior a otros factores clásicamente relacionados con la esperanza de vida como son la tensión arterial o el colesterol (36). Si fuese un virus el responsable de esto se dedicarían millones de euros a la causa, pero al ser una faceta psicosocial parece que no se realiza este esfuerzo. La buena noticia es que está en nuestras manos aprovechar estos beneficios.

La espiritualidad es otra faceta que está presente para la salud mental, encontrándose un mayor trofismo en la corteza cerebral y en la materia gris en las personas espirituales (37). La causa puede explicarse de dos formas:

1. La relevancia y universalidad de la espiritualidad entre los seres humanos nos indica que tiene que tener importancia para la supervivencia de la especie
2. Por otro lado, como vimos con el futbol, las personas que comparten los mismos valores, ayuda y favorece la cohesión social y la implicación con la comunidad

ESTRÉS CRÓNICO

Cuando el sistema nervioso está activo, produce una **cascada** de reacciones **a través del sistema simpático y el eje HPA** (hipotálamo-hipofisiario-adrenal): aumento de la tensión arterial, aumento de la frecuencia cardiaca, aumento de la glucemia en sangre para tener más combustible disponible para los músculos, aumento de las plaquetas, etc.

Esto tiene sentido en una situación de estrés real, pero actualmente es una situación desadaptativa, ya que apenas nos enfrentamos a este tipo de situaciones

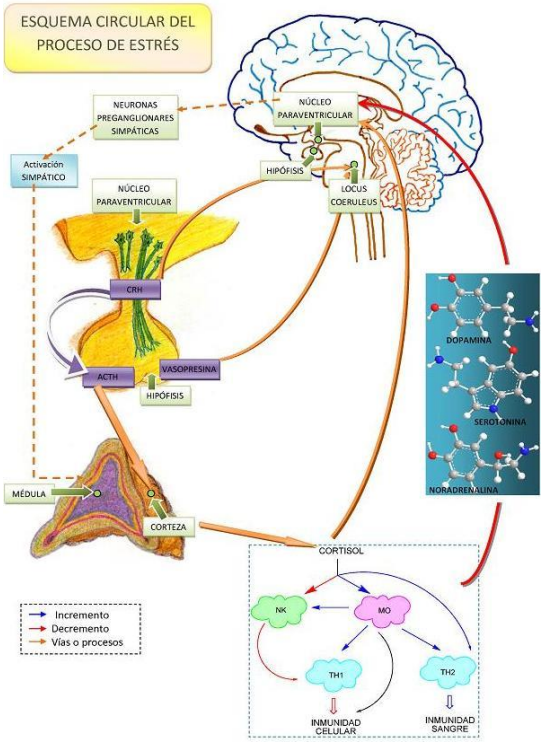


Imagen 5. Obtenida de https://www.researchgate.net/figure/Figura-2-Esquema-circular-del-estres_fig2_268744095.

Las situaciones laborales, económicas, etc. prolongadas causan que vivamos en un **estado permanente de estrés de bajo grado,** en lugar de relajados con picos intensos y puntuales de estrés.

Este efecto prorrogado en el tiempo afecta al sistema inmune, a la sensibilidad a la insulina, a la presión sanguínea, etc.

Conseguir reducir este estrés crónico es una tarea para los sistemas de salud pública

El uso de la **meditación reduce** el riesgo de infarto, ictus y **mortalidad** por cualquier otra causa a la mitad (38) , muy por encima de cualquier psicofármaco.

El **yoga es otra práctica** que se considera **cardioprotectora** (39), reducción de la tensión arterial, frecuencia cardiaca, reducción de peso corporal, colesterol y triglicéridos.

Imagen 6. Obtenida de https://pixabay.com.

Económicamente hablando, se obtuvieron datos de dos grupos de pacientes hospitalizados, unos con estrés y otros sin. El gasto medio de ambos grupos fue de 9504 dólares frente a 2146, un 400% más.

CONCLUSIONES:

Ciencia, medicina y salud no es lo mismo.

En lugar de preocuparnos por la salud, nos preocupamos por la medicina y por la ciencia. Lo que debería ser un medio (medicina) hacia un fin (la salud), se ha convertido en un fin en sí mismo.

Es por ello que para conseguir que tanto nosotros como la población en general siga mejorando su salud y calidad de vida debemos de tener en cuenta todos los factores que afectan a la misma y no focalizarnos en uno solo.

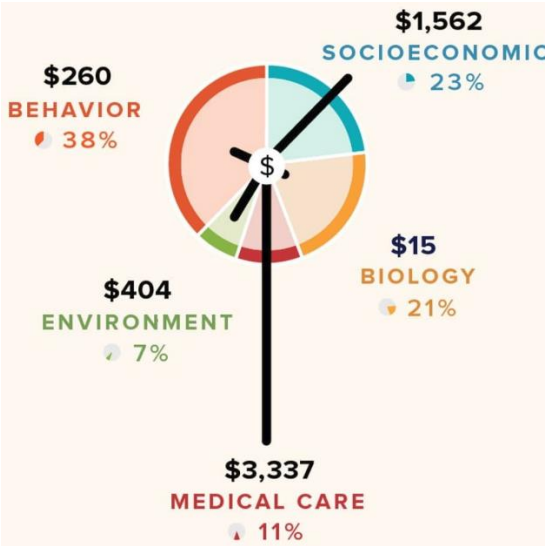


Imagen 7 Obtenida de https://www.goinvo.com/vision/determinants-of-health/

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Engel GL. The need for a new medical model: a challenge for biomedicine. Science [Internet]. 1977 Apr 8 [cited 2019 Sep 9];196(4286):129–36. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/847460
2. Dever GEA. An epidemiological model for health policy analysis. Soc Indic Res. 1976 Mar;2(4):453–66.
3. Lindsay GB, Merrill RM, Hedin RJ. The contribution of public health and improved social conditions to increased life expectancy: An analysis of public awareness. J Community Med Health Educ. 2014;4(5).
4. Bunker JP, Frazier HS, Mosteller F. Improving health: measuring effects of medical care. Milbank Q [Internet]. 1994 [cited 2019 Sep 9];72(2):225–58. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8007898
5. Avendano M, Glymour MM, Banks J, Mackenbach JP. Health disadvantage in US adults aged 50 to 74 years: A comparison of the health of rich and poor americans with that of europeans. Am J Public Health. 2009;99(3):540–8.
6. Cochrane AL, St Leger AS, Moore F. Health service "input" and mortality "output" in developed countries [hisatorial article]. J Epidemiol Community Health. 1997;51(4):344–8.
7. Grady D, Redberg RF. Less is more: How less health care can result in better health. Arch Intern Med. 2010 May 10;170(9):749–50.
8. Mokdad AH, Marks JS, Stroup DF, Gerberding JL. Actual causes of death in the United States, 2000. JAMA. 2015;291(10):1238-45.
9. Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, Solomon CG, et al. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. N Engl J Med. 2001 Sep 13;345(11):790–7.
10. Platz EA, Willett WC, Colditz GA, Rimm EB, Spiegelman D, Giovannucci E. Proportion of colon

cancer risk that might be preventable in a cohort of middle-aged US men. Cancer Causes Control. 2000;11(7):579-88.

11. Lee IM, Shiroma EJ, Lobelo F, Puska P, Blair SN, Katzmarzyk PT, et al. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: An analysis of burden of disease and life expectancy. Lancet. 2012;380(9838):219–29.
12. McGinnis JM, Williams-Russo P, Knickman JR. The case for more active policy attention to health promotion. Healtrh Aff (Millwood). 2002;21(2):78-93.
13. De Vito C, Migliara G, Salvatori LM, Marceca M, Paglione L. Spatial inequalities in life expectancy related to educational level in the urban context of Rome. Eur J Public Health. 2017 Nov 1;27(Suppl 3):405-6.
14. Salm M. The effect of pensions on longevity: Evidence from union Army Veterans. Econ J. 2011;121:595–619.
15. Jensen RT, Richter K. The health implications of social security failure : evidence from the Russian pension crisis. J Public Econ. 2003;88(1-2):209–36.
16. Möller H, Haigh F, Harwood C, Kinsella T, Pope D. Rising unemployment and increasing spatial health inequalities in England : further extension of the North–South divide. J Public Health (Oxf). 2013;35(2):313–21.
17. Gallo WT, Teng HM, Falba TA, Kasl SV, Krumholz HM, Bradley EH. The impact of late career job loss on myocardial infarction and stroke: a 10 year follow up using the health and retirement survey. Occup Environ Med. 2006;63(10):683–7.
18. Dorling D. Unemployment and health. BMJ. 2009 Mar 10;338:b829
19. Hawkley LC, Cacioppo JT. Loneliness matters : A theoretical and empirical review of consequences and mechanisms. Ann Behav Med. 2010;40(2):218–27.
20. Lund R, Christensen U, Nilsson CJ, Kriegbaum M, Hulvej Rod N. Stressful social relations and mortality: A prospective cohort study. J Epidemiol Community Health. 2014;68(8):720–7.
21. Holt-Lunstad J, Smith TB, Layton JB. Social relationships and mortality risk: A meta-analytic review. PLoS Med. 2010;7(7).
22. Hawkley LC, Thisted RA, Masi CM, Cacioppo JT. Loneliness predicts increased blood pressure: 5-Year cross-lagged analyses in middle-aged and older adults. Psychol Aging. 2010;25(1):132–41.
23. Cacioppo JT, Hughes ME, Waite LJ, Hawkley LC, Thisted RA. Loneliness as a specific risk factor for depressive symptoms : Cross-sectional and longitudinal analyses. Psycol Aging. 2006;21(1):140–51.
24. Green BH, Copeland JR, Dewey ME, Sharma V, Saunders PA, Davidson IA, et al. Risk factors for depression in elderly people : A prospective study. Acta Psychiatr Scand. 1992;86(3):213–7.
25. Marmot M, Bell R. Fair society, healthy lives. Public Health [Internet]. 2012;126(Suppl 1):S4–S10. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.puhe.2012.05.014
26. Greenfield EA. Healthy Aging and Age-Friendly Community Initiatives. Public Policy Aging Rep. 2015;25(2):43–6.
27. Krieger J, Higgins DL. Housing and health: Time again for public health action. Am J Public Health. 2002;92(5):758–68.
28. Kim ES, Hawes AM, Smith J. Perceived neighbourhood social cohesion and myocardial infarction. J Epidemiol Community Health. 2014;68(11):1020–6.
29. Caiazzo F, Ashok A, Waitz IA, Yim SHL, Barrett SRH. Air pollution and early deaths in the United States. Part I : Quantifying the impact of major sectors in 2005. Atmos Environ [Internet]. 2013;79:198–208. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.atmosenv.2013.05.081
30. La contaminación mata en España 15 veces más que las carreteras [Internet]. EDeconomíaDigital [cited 2019 Sep 9]. Disponible en: https://www.economiadigital.es/politica-y-sociedad/la-contaminacion-mata-en-espana-15-veces-mas-que-las-carreteras_184370_102.html
31. Pugh TA, MacKenzie AR, Whyatt JD, Hewitt CN. Effectiveness of green infrastructure for improvement of air quality in urban street canyons. Environ Sci Technol. 2012 Jul 17;46(14):7692–9.
32. Kardan O, Gozdyra P, Misic B, Moola F, Palmer LJ, Paus T, et al. Neighborhood greenspace and

health in a large urban center. Sci Rep [Internet]. 2015 Jul 9;5:11610 Disponible en: http://dx.doi.org/10.1038/srep11610

33. Mitchell R, Popham F. Effect of exposure to natural environment on health inequalities: an observational population study. Lancet. 2008;372(9650):1655–60.
34. Maruta T, Colligan RC, Malinchoc M, Offord KP. Optimism-pessimism assessed in the 1960s and self-reported health status 30 years later. Mayo Clin Proc. 2002;77(8):748–53.
35. Maruta T, Colligan RC, Malinchoc M, Offord KP. Optimists vs pessimists: Survival rate among medical patients over a 30-year period. Mayo Clin Proc [Internet]. 2000 [cited 2019 Sep 9];75(2):140–3. Disponible en: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025619611641840
36. Levy BR, Slade MD, Kunkel SR, Kasl S V. Longevity increased by positive self-perceptions of aging. J Pers Soc Psychol [Internet]. 2002 Aug [cited 2019 Sep 9];83(2):261–70. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12150226
37. Miller L, Bansal R, Wickramaratne P, Hao X, Tenke CE, Weissman MM, et al. Neuroanatomical correlates of religiosity and spirituality: A study in adults at high and low familial risk for depression. JAMA Psychiatry. 2014;71(2):128–35.
38. Schneider RH, Grim CE, Rainforth MV, Kotchen T, Nidich SI, Gaylord-King C, et al. Stress reduction in the secondary prevention of cardiovascular disease: Randomized, controlled trial of transcendental meditation and health education in blacks. Circ Cardiovasc Qual Outcomes. 2012 Nov;5(6):750–8.
39. Chu P, Gotink RA, Yeh GY, Goldie SJ, Hunink MG. The effectiveness of yoga in modifying risk factors for cardiovascular disease and metabolic syndrome : A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Eur J Prev Cardiol. 2016;23(3):291-307

ALTERACIONES GENÉTICO-MOLECULARES EN GENES NUCLEARES EN ENFERMEDADES MITOCONDRIALES

Autores: Adrián González Quintana, Alberto Blázquez Encinar, Miguel Ángel Martín Casanueva

Laboratorio Enfermedades Mitocondriales. Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras, CIBERER-U723

Palabras clave: enfermedades OXPHOS, genes mitocondriales nucleares, diagnóstico genético-molecular, secuenciación masiva paralela (MPS).

Introducción

La mitocondria es un orgánulo subcelular dinámico que participa en multitud de funciones celulares esenciales:

- Bioenergética: obtención de energía en forma de ATP mediante el sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS), que incluye el transporte de electrones en la cadena respiratoria mitocondrial (CRM) constituida por cuatro complejos multiproteicos (complejos I-IV) y la síntesis de ATP gracias a la ATP sintasa (complejo V).
- Rutas metabólicas como el ciclo de Krebs, la oxidación de ácidos grasos y aminoácidos, o el ciclo de la urea, entre otras.
- Procesos de señalización celular por calcio y especies reactivas del oxígeno (ROS).
- Muerte celular programada o apoptosis.

Las mitocondrias se caracterizan por poseer varias copias de su propio material genético: el **ADN mitocondrial (ADNmt)**, molécula circular bicatenario de 16,5kb, constituido por 37 genes: 2 ARNr, 22 ARNt y 13 subunidades de los complejos OXPHOS. Sin embargo, la mayoría de las proteínas mitocondriales están codificadas por el genoma nuclear (ADNn). Ambos genomas codifican más de 1500 proteínas involucradas en la estructura, ensamblaje y función mitocondrial, así como en la maquinaria de replicación y mantenimiento del ADNmt.

Las enfermedades mitocondriales, también conocidas como enfermedades OXPHOS, son un grupo heterogéneo de trastornos genéticos caracterizados por un defecto en la CRM o sistema OXPHOS. Se estima en conjunto una prevalencia de 1:5.000-10.000(1). Los trastornos mitocondriales pueden afectar un solo órgano (ej: Neuropatía óptica hereditaria de Leber - LHON), pero la mayoría involucran múltiples sistemas de órganos, particularmente aquellos que son altamente dependientes del metabolismo aeróbico (cerebro, músculo esquelético, corazón, riñón y sistema endocrino). El inicio de los síntomas ocurre a cualquier edad, aunque típicamente los fenotipos más graves se presentan en los primeros momentos de la vida o infancia, y los fenotipos menos graves ocurren más tarde en la vida.

Los modos de herencia presentes en este tipo de enfermedades pueden ser:

- Mutaciones del ADNmt pueden heredarse por **vía materna o surgir de forma esporádica**, se relacionan con fenotipos como síndrome de Leigh (LS) o síndrome de Pearson en edad neonatal/infantil; encefalomiopatía mitocondrial con acidosis láctica y episodios similares a accidentes cerebrovasculares (MELAS), epilepsia mioclónica con fibras rojas irregulares (MERRF) o síndrome de Kearns-Sayre (KSS) en edad Infantil/adolescencia; Neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON), debilidad neurogénica con ataxia y retinitis pigmentosa (NARP) u oftalmoplejía externa progresiva (PEO) en adultos.
- Mutaciones en ADNn siguen una **herencia mendeliana**: autosómica recesiva, principalmente en edad neonatal/infantil, con fenotipos severos; autosómica dominante, principalmente en adultos, con fenotipos moderados; o bien herencia ligada al X. Las mutaciones *de novo* son menos frecuentes que en el ADNmt.

Mutaciones en el genoma mitocondrial

Las anomalías de ADNmt incluyen mutaciones puntuales, grandes deleciones, depleción de ADNmt (pérdida cuantitativa de moléculas de ADNmt) y deleciones múltiples del ADNmt. Las mutaciones puntuales del ADNmt pueden afectar las regiones codificantes de proteínas y a genes de tRNA que alteran la síntesis intramitocondrial de proteínas. Las deleciones únicas se deben generalmente a eventos esporádicos y habitualmente parecen ser no heredadas. La depleción y las deleciones múltiples son efectos secundarios en el mantenimiento del ADNmt debidos a mutaciones en genes nucleares que codifican proteínas mitocondriales.

Cada célula contiene varias mitocondrias, y cada mitocondria contiene numerosas copias de ADNmt. En este contexto, surge la característica genética de **heteroplasmia**, como la coexistencia de proporciones variables de genomas mutados y normales (*wild-type*). La proporción de ADNmt mutante debe superar un nivel umbral crítico, generalmente superior al 60–90%, dependiendo de la mutación y el tipo de tejido, antes de que una célula y/o tejido muestre un fenotipo (el "efecto umbral"). El principal factor que afecta al nivel de heteroplasmia se produce durante la ovogénesis y se conoce como “cuello de botella” mitocondrial, por el cual la cantidad total de mitocondrias del organismo es replicado a partir de un pequeño “pool” de genomas. Las mujeres con mutaciones en ADNmt trasmiten éstas a su descendencia con un nivel de heteroplasmia que es impredecible, y aparentemente aleatorio (2).

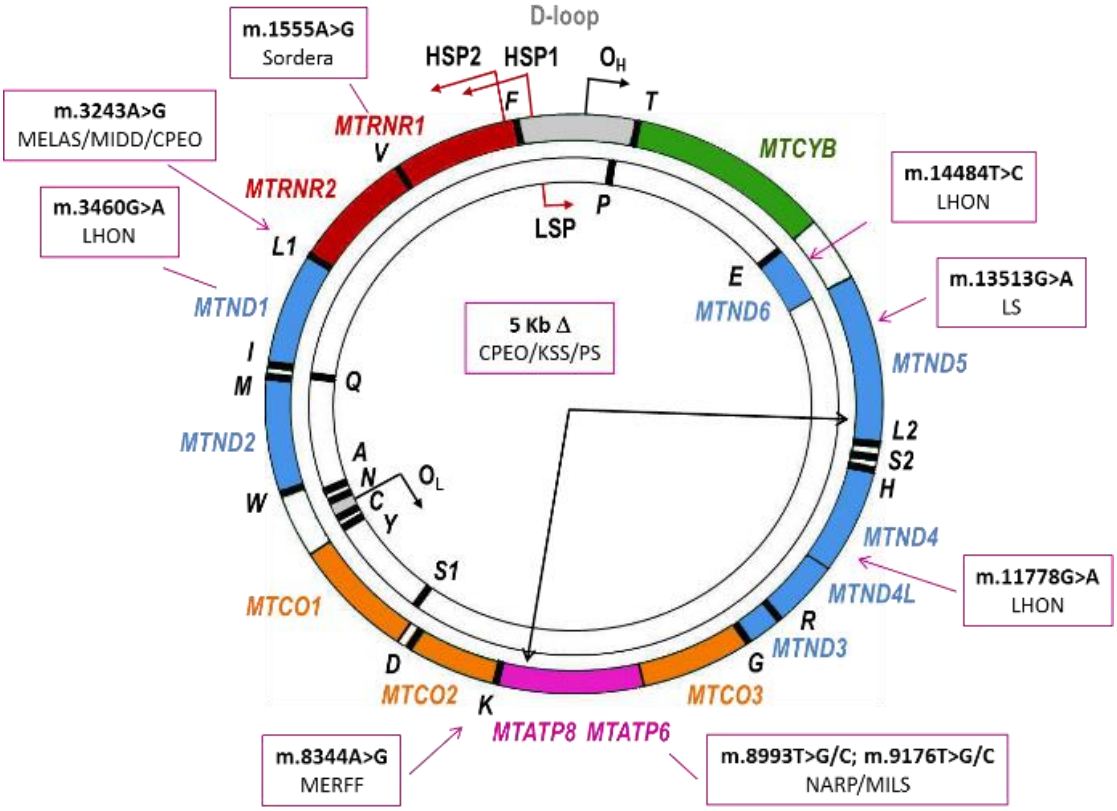


Figura 1. Molécula de ADNmt. Mutaciones más frecuentes y fenotipos asociados. Imagen modificada de Blazquez *et al*. (2016).

La secuencia completa del ADNmt humano se publicó por primera vez en 1981. En el año 1988 se describieron las primeras mutaciones en el ADNmt responsables de los síndromes de KSS y LHON. Hasta la fecha, se han descrito más de 300 mutaciones patogénicas diferentes (puntuales y deleciones) en los 37 genes codificados en el ADNmt (www.mitomap.org). En la figura se representan las mutaciones más frecuentes del ADNmt junto con sus fenotipos asociados.

Mutaciones en genes nucleares

Los trastornos causados por mutaciones en genes mitocondriales nucleares que codifican subunidades y factores de ensamblaje de los complejos del sistema OXPHOS, proteínas involucradas en su biogénesis y enzimas implicadas en replicación, reparación, transcripción y traducción del ADNmt siguen las reglas de la genética mendeliana. En el año 1995, se describe la primera mutación en un gen nuclear mitocondrial, *SDHA*, complejo II, en un paciente con LS. En el siglo XXI, con la implantación de la secuenciación masiva (NGS) se han identificado numerosas mutaciones tanto en genes estructurales/ensamblaje como en genes que codifican factores reguladores de la biogénesis mitocondrial. Gracias a aproximaciones proteómicas se han identificado más de 1000 genes humanos que codifican proteínas mitocondriales (*Human MitoCarta 2.0, Broad Institute*). Hasta la fecha se han identificado 300 genes causantes enfermedades mitocondriales del sistema OPXHOS.

Los trastornos OXPHOS se pueden clasificar en cinco categorías principales en función de la ruta/función afectada:

1. Subunidades estructurales OXPHOS
2. Factores de ensamblaje OXPHOS
3. Mantenimiento / estabilidad del ADNmt
4. Síntesis de proteínas OXPHOS
5. Biogénesis o regulación OXPHOS

1. Subunidades estructurales OXPHOS

Numerosas subunidades estructurales de varios complejos se han asociado con enfermedades OXPHOS.

El déficit del complejo I (CI) es la causa más común de enfermedad mitocondrial. El CI está constituido por 45 subunidades, 38 codificadas por el ADNn. Se han encontrado mutaciones asociadas con síndromes neurodegenerativos de inicio temprano, acidosis láctica congénita, encefalocardiomiopatía y LS en varios genes que codifican subunidades de CI: bien en "subunidades catalíticas centrales" como *NDUFV1, NDUFV2* y *NDUFS1*; *NDUFS2*; *NDUFS3*; *NDUFS4*; *NDUFS6*; *NDUFS7* y *NDUFS8*, o en "subunidades accesorias" como *NDUFA2*, NDUFA9 , *NDUFA10*, *NDUFA11, NDUFA12, NDUFA13*, *NDUFB3* y *NDUFB11*, incluido el gen *NDUFA1* ligado al X(3).

Se han descrito muy pocos casos con déficit aislado del complejo II y mutaciones en subunidades catalíticas de dicho complejo como *SDHA* y *SDHB*, relacionadas con varios fenotipos como LS, atrofia óptica, ataxia, epilepsia, miopatía, cardiomiopatía y leucoencefalopatía. Algunas mutaciones en subunidades del CII están involucradas en la tumorogénesis del paraganglioma o feocromocitoma hereditario.

El déficit del complejo III es relativamente raro. Las mutaciones en genes nucleares que codifican las subunidades del CIII pueden causar una amplia variedad de alteraciones tejido-específicas, como retraso psicomotor severo y signos extrapiramidales, distonía y ataxia (*UQCRQ*) y neuropatía óptica, hipoglucemia o hiperglucemia y acidosis láctica (*UQCRB*, *UQCRC2* y *CYC1*).

Muy pocas mutaciones se han publicado en genes nucleares de subunidades del complejo IV. Mutaciones en los genes *COX6B1* y *COX4I2* causan leucodistrofia, miopatía, retraso del crecimiento y cardiomiopatía, o bien insuficiencia pancreática exocrina y anemia. Mutaciones en COX8A se relacionan con déficit de CIV y cardiomiopatía familiar. El gen COX7B, ligado al X, se asocia a múltiples anomalías congénitas con alteraciones cutáneas (síndrome LSDMCA2).

Los trastornos de la ATP sintasa pertenecen a las enfermedades metabólicas más graves que se presentan como encefalocardiomiopatías mitocondriales de inicio temprano. Mutaciones en dos genes nucleares estructurales, *ATP5A1* y *ATP5E*, que codifican las subunidades α y ε del CV, se han asociado con deficiencia aislada de ATP sintasa.

2. Factores de ensamblaje OXPHOS

Las proteínas necesarias para el ensamblaje de los complejos OXPHOS, denominadas factores de ensamblaje, generalmente no son componentes de la estructura final pero sí son fundamentales para insertar de forma apropiada las diversas subunidades de los complejos OXPHOS y puedan así realizar su función.

Algunos de estos factores de ensamblaje del CI que se han asociado con enfermedad mitocondrial son: *NDUFAF1, NDUFAF2, NDUFAF3, NDUFAF4, NDUFA5, NDUFA6, FOXRED1, ACAD9, NUBPL, TMEM126B*. Los déficits del CI por mutaciones en genes nucleares suelen asociar fenotipos infantiles muy homogéneos caracterizados por tener una afectación multisistémica grave, generalmente acompañados de alteraciones neurológicas y del desarrollo. Los signos más específicos que sugieren una deficiencia de CI-nuclear son: afectación del tronco encefálico, atrofia óptica y las características del LS en la resonancia magnética nuclear (RMN).

De los dos genes nucleares que codifican factores de ensamblaje conocidos del CII (*SDHAF1* y *SDHAF2*), solo mutaciones en *SDHAF1* se han relacionado con déficit de CII y fenotipos infantiles tipo LS, cardiomiopatía y leucodistrofia.

Mutaciones descritas en dos genes, *BCS1L* y *TTC19*, que codifican factores de ensamblaje del CIII están asociadas con trastornos mitocondriales primarios debido al déficit del CIII. La causa más frecuente de este déficit se debe a mutaciones (>50 mutaciones patogénicas descritas) en el gen *BCS1L*. Las características clínicas son muy heterogéneas, varían desde acidosis láctica, hepatopatía, retraso del crecimiento, atrofia óptica, pérdida auditiva neurosensorial congénita leve, síndrome de Björnstad, tubulopatía aislada o combinada con colestasis y/o encefalopatía hasta síndrome GRACILE(4). Otros factores de ensamblaje del CIII donde se han identificado mutaciones en los últimos años son: *UQCC2*, *UQCC3* y *LYRM7*.

La mayor parte de los déficits aislados de CIV se deben a mutaciones en factores del ensamblaje del CIV codificados por genes como: *SURF1*, que representa del 50-75% de los LS asociados con la deficiencia de COX; *SCO1*, fallo hepático agudo neonatal; *SCO2*, cardioencefalopatía; *COX10*, tubulopatía y leucodistrofia; *COX15*, cardiomiopatía hipertrófica; *LRPPRC*, síndrome de Leigh; y otros genes *COX14*, *COX20* y *COA5* (5).

Hay dos genes que codifican para factores de ensamblaje del CV, *ATPAF2* (*ATP12*) y *TMEM70*, que presentan mutaciones causantes de deficiencia de la ATP sintasa. ATPF2 es una proteína que participa en el ensamblaje de las subunidades α y β del CV, mutaciones en esta proteína causan alteraciones neurológicas, características dismórficas y aciduria 3-metilglutacónica(3-MGA). *TMEM70* codifica para una proteína mitocondrial transmembrana que contribuye a la estabilización del CV. Las mutaciones en este gen pueden provocar cataratas de inicio infantil, encefalocardiomiopatía, dismorfias y 3-MGA(6).

3. Mantenimiento/ Estabilidad del ADNmt

Aunque el ADNmt reside en la matriz mitocondrial, su replicación, mantenimiento de su integridad y la regulación de los niveles de desoxinucleótidos trifosfato (dNTPs) mitocondriales están controlados por proteínas codificadas por genes nucleares, sintetizadas en el citoplasma e importadas a las mitocondrias. Una replicación y mantenimiento correctos del ADNmt es importante tanto para la calidad como para la cantidad de moléculas de ADNmt, y requiere la función normal tanto del replisoma mitocondrial como del adecuado mantenimiento del nivel de dNTPs.

Las principales proteínas o enzimas involucradas en la replicación del ADNmt incluyen la ADN polimerasa gamma (con sus subunidades catalíticas codificadas por el gen *POLG* y su subunidad accesoria codificada por el gen *POLG2*), la helicasa Twinkle codificada por el gen *TWNK* y las proteínas implicadas en la reparación y mantenimiento codificadas por los genes *DNA2* y *MGME1*. Las proteínas principales involucradas en el mantenimiento del pool de dNTPs están codificadas por genes que incluyen *TK2, DGUOK, RRM2B, SUCLG1*, *SUCLA2, TYMP* entre otros. También se pueden incluir proteínas que participan en procesos de dinámica mitocondrial: fisión, fusión, movilidad o recambio mitocondrial (*OPA1*, *MFN2* y *FBXL4*). Las mutaciones en genes implicados en la replicación del ADNmt o el mantenimiento del pool de dNTPs pueden causar deleciones múltiples y/o depleción del ADNmt.

Las mutaciones en *POLG* son las más comunes y representan aproximadamente el 25% de todos los pacientes con presentaciones de enfermedad mitocondrial. Se conoce que las mutaciones en *POLG, POLG2, ANT1, TWNK, RRM2B y OPA1* están asociadas con la oftalmoplejía externa autosómica dominante (adPEO) y deleciones múltiples del ADNmt. También, mutaciones en *POLG* y *RRM2B* se relacionan con oftalmoplejía externa autosómica recesiva (arPEO) con deleciones múltiples del ADNmt. Por otro lado, mutaciones en *POLG, TWNK, RRM2B, SUCLA2, SUCLG1, DGUOK, TK2, MPV17* y *TYMP* se han asociado con diferentes tipos de síndromes de depleción mitocondrial (MDDS). En los trastornos primarios del mantenimiento del ADNmt, las deleciones son detectables por métodos como el *Southern-blot* o técnicas basadas en PCR gracias a que se acumulan en tejidos postmitóticos como el músculo en sujetos jóvenes. El MDDS se caracteriza por principalmente por presentar debilidad muscular progresiva o fallo hepático,

pero también existen casos con afectación multisistémica y acidosis láctica (anomalías cardíacas y renales). La edad de inicio y las presentaciones clínicas son muy variables (7).

4. Síntesis de proteínas OXPHOS

Aunque los compontes de la maquinaria mitocondrial son diferentes a los citosólicos, las etapas de traducción son las mismas, incluyendo factores de traducción de iniciación, elongación y terminación, proteínas ribosomales mitocondriales y aminoacil-tRNA sintetasas, entre otros(8). Alteraciones en estas proteínas de traducción mitocondrial se relaciona con fenotipos neurológicos y déficits combinados del sistema OXPHOS.

Proteínas ribosomales: se han descrito mutaciones tanto en proteínas ribosomales de la subunidad grande (MRPL-39S), en los genes *MRPL3, MRPL12* y *MRPL44*, como en proteínas de la subunidad pequeña (MRPS-28S), en *MRPS7, MRPS16, MRPS22* y *MRPS23,* de las 80 proteínas que conforman el mitoribosoma. Un defecto en proteínas MRPS da como resultado una disminución marcada en el nivel de ARNr 12S, causado por el ensamblaje anormal de la subunidad pequeña, generando ARNr 12S inestable. Se ha relacionado con fenotipos clínicos tales como agenesia del cuerpo calloso, aspecto dismórfico, cardiomiopatía y acidosis láctica.

Factores de traducción: mutaciones en genes que codifican proteínas que intervienen en el propio proceso de traducción, como son los factores de elongación EFTu-mt (*TUFM*), EFG (*GFM1*) o ETs (*TSFM*), se han asociado a heterogeneidad clínica: atrofia óptica, cardiomiopatía, fallo renal o LS.

Proteínas modificadoras de ARNt: participan en el proceso postranscripcional garantizando un correcto ensamblaje, estabilidad y funcionalidad de los ARNt. Se han descrito variantes patogénicas en los genes *PUS1, TRMU, TRIT1, MTO1 y GTPBP3*. El gen *PUS1* codifica para una proteína encargada de convertir la uridina a pseudouridina en diferentes posiciones de los ARNt mitocondriales, mutaciones en *PUS1* se relacionan con miopatía mitocondrial, acidosis láctica y anemia sideroblástica (MLASA). Mutaciones en *TRMU* que codifica para una proteína esencial para la 2-tiolación de la posición de balanceo del anticodón del ARNt, conducen a una reducción de mt-ARNt-Gln, mt-ARNt-Glu y mt-ARNt-Lys causando fallo hepático infantil agudo.

Proteínas del procesamiento/estabilidad del ARNm: mutaciones en *ELAC2* provocan una acumulación de ARNm con ARNt unidos. Mutaciones en el gen *LRPPRC*, un regulador postranscripcional del ADNmt, disminuyen la estabilidad del ARNm mitocondrial. Las mutaciones en *MTPAP*, involucradas en la poliadenilación de los ARNm mitocondriales, producen ARNm oligoadenilados.

Aminoacil-ARNt sintetasas mitocondriales: enzimas encargadas de cargar cada ARNt con su aminoácido correspondiente. Diecisiete son específicas para las mitocondrias (llamadas **mtARS2**) y dos (GARS, KARS) se comparten entre el citosol y las mitocondrias. Las enfermedades asociadas a mutaciones en genes que codifican las mtARS2 están emergiendo como una causa especialmente importante de este tipo de patologías. Desde la identificación en 2007 de la primera mutación patogénica en la aspartil-ARNt sintetasa (*DARS2*) en un paciente que cursaba con leucodistrofia se han descrito mutaciones en las 19 ARS2 y, todas ellas, con la excepción de YARS2 y GARS, afectan fundamentalmente al sistema nervioso central, aunque en general causan fenotipos muy variables: cardiomiopatía, tubulopatía, miopatía, anemia o pérdida de audición. Además, recientemente se han caracterizado mutaciones patogénicas en el genes *QRSL1, GATB y GATC* que codifican la subunidades A , B y C respectivamente, de la glutamil-ARNt^{Gln} amidotransferasa (GATA) necesaria para la correcta formación del Gln-ARNt^{Gln}-mt.

5. Biogénesis/Regulación OXPHOS

La coenzima Q10 (CoQ10), o ubiquinona, es un transportador móvil de electrones de la membrana interna mitocondrial esencial para la transferencia de electrones desde el CI y CII hasta el CIII de la CRM. El CoQ10 se sintetiza en la membrana interna mitocondrial. Al menos 12 genes están involucrados en la biosíntesis de CoQ10(9). Mutaciones en genes implicados de la biosíntesis de CoQ10 como *PDSS1, PDSS2, COQ2, COQ4, COQ6, COQ9, ADCK3* y *ADCK4* se han relacionado con fenotipos varios que abarcan desde enfermedad multisistémica fatal, encefalomiopatías, ataxias, LS hasta síndrome nefrótico. Generalmente, la deficiencia de CoQ10 se caracteriza por presentar valores normales de la actividad de los complejos I, II y III, pero un déficit de actividad CI+III y CII+III. Esta deficiencia de CoQ10 puede ser tratada mediante suplementos con CoQ10 en la dieta.

Las mutaciones en los genes *AGK, TAZ* y *SERAC1* están involucradas en el metabolismo de los fosfolípidos mitocondriales. Las mutaciones en *AGK*, enzima acilglicerol quinasa que cataliza la formación de los ácidos fosfatídico y lisofosfatídico, se han asociado con depleción del ADNmt en el síndrome de Sengers (cataratas congénitas, cardiomiopatía hipertrófica, miopatía esquelética, intolerancia al ejercicio y acidosis láctica). *TAZ* juega un papel en la biosíntesis de fosfolípidos y causa el síndrome de Barth ligado al cromosoma X caracterizado por miopatía mitocondrial, neutropenia, afectación cardíaca y falta de crecimiento. *SERAC1* codifica una proteína que afecta la remodelación y transporte de fosfatidilglicerol y su alteración conduce a 3-MGA, sordera, encefalopatía y enfermedad parecida a LS (Síndrome de MEGDEL).

Los genes *SLC25A4* (ANT1) y *SLC25A3* (PHC), no participan en la estructura o ensamblaje del sistema OXPHOS, pero son muy importantes en muchas de las funciones OXPHOS. El gen *SLC25A4* codifica para el transportador de fosfato mitocondrial, PHC, que transporta fosfato inorgánico a la matriz mitocondrial, esencial para la síntesis aeróbica de ATP. Mutaciones en *SLC25A3* se relacionan con acidosis láctica, miocardiopatía hipertrófica e hipotonía muscular. ANT1 codificada por el gen *SLC25A4* determina el flujo de ADP / ATP entre la mitocondria y el citosol, siendo un regulador importante del metabolismo oxidativo. Se han publicado mutaciones en el gen *SLC25A4* en sujetos con adPEO con deleciones de ADNmt, y en pacientes con miocardiopatía hipertrófica familiar.

Se conocen proteínas mitocondriales involucradas en la importación, el procesamiento y el control de calidad mitocondrial, como SPG7, TIMM8A, AFGL32, GFER, DNAJC19 y HSPD1, que están asociadas con defectos OXPHOS. El gen *TIMM8A*, localizado en el cromosoma X, codifica para DDP1 un componente de la maquinaria de importación mitocondrial necesario para facilitar la entrada de precursores proteicos desde el citosol a la membrana mitocondrial interna (MMI). Mutaciones en *TIMM8A* causan el síndrome de sordera-distonía- neuropatía óptica conocido también como síndrome de Mhor-Tranebjaerg. El sistema de paso de disulfuro mitocondrial impulsa la importación de proteínas ricas en cisteína al espacio intermembrana a través de un mecanismo de plegamiento oxidativo. Mutaciones en GFER, proteína del sistema de paso de disulfuro mitocondrial, se asocian con miopatía mitocondrial con cataratas y déficit combinado de CRM. El gen *SPG7* codifica la paraplegina, un componente de la proteasa m-AAA de la MMI que degrada las proteínas mal plegadas y regula el ensamblaje de los ribosomas. Mutaciones en *SPG7* se relacionan con signos típicos de defectos OXPHOS y paraplejia espástica.

Los centros hierro-azufre (Fe – S) participan en reacciones redox como las que ocurren en las enzimas aconitasa y ácido lipoíco sintetasa y en los complejos I, II y III. Las mutaciones en los primeros pasos de la biosíntesis Fe-S involucran a los genes *FDX1L, FXN, ISCU, NFS1* o *LYRM4* que resultan en déficits de los complejos CI, CII, CIII y la enzima aconitasa. Las mutaciones en los genes *BOLA3, NFU1, IBA57* y *GLRX5* provocan defectos en la síntesis mitocondrial de los centros 4Fe-4S, déficits de los complejos CI y CII y deficiencia en la síntesis de ácido lipoíco (10).

Diagnóstico genético-molecular en enfermedades mitocondriales

La aproximación clásica al diagnóstico de las enfermedades mitocondriales del sistema OXPHOS se basaba en la integración de datos clínicos, histopatológicos y bioquímicos, y el estudio de unas pocas alteraciones genéticas abordables (mutaciones más frecuentes en el ADNmt) mediante técnicas moleculares existentes hasta el desarrollo de la secuenciación masiva paralela (MPS) o *next generation sequencing* (NGS). La biopsia muscular ha sido el tejido central por sus características bioenergéticas, accesibilidad y permitir realizar estudios histoquímicos y estudios enzimáticos de los distintos complejos de la CRM. Estos estudios de CRM poseen dificultades de variabilidad analítica y fisiopatológica conduciendo a resultados falsos negativos o positivos, por tanto, es un diagnóstico presuntivo o de apoyo. Los estudios genético-moleculares proporcionan un diagnóstico más certero de la causa subyacente en gran parte de los casos. Algunas de las patologías mitocondriales más características como MELAS, LHON, MERRF o MILS pueden abordarse buscando mutaciones en regiones "*hot spot*" del ADNmt con métodos de PCR o Minisecuenciación, y en ADN de tejidos como células sanguíneas o del sedimento urinario. Así mismo algunas alteraciones moleculares como las deleciones del ADNmt o depleción del ADNmt identificadas con métodos como *Southern Blot*, PCR larga o PCR a tiempo real, deben realizarse en ADN de tejido muscular o hepático, pues es donde se expresa la lesión. Por otra parte, se pueden secuenciar genes completos mediante secuenciación convencional Sanger en busca de la variante genética, pero esto no es coste-efectivo, y únicamente está justificado en el análisis de mutaciones de forma dirigida en familiares una vez conocida la mutación en el probando; o bien para la confirmación o valoración de la heteroplasmia.

Con el desarrollo de métodos basados en MPS/NGS la identificación de nuevos genes y mutaciones etiológicas en enfermedades mitocondriales ha aumentado exponencialmente en los últimos años, por lo

que el flujo diagnóstico y guías de consenso han cambiado drásticamente (11).En la actualidad, se conocen más de 300 genes nucleares que presentan mutaciones patogénicas asociadas a trastornos OXPHOS, no siendo de extrañar que las guías y expertos actuales indiquen que la primera línea de actuación debe ser el diagnóstico genético mediante métodos MPS/NGS que analicen estos y otros posibles genes relacionados con la patología mitocondrial, bien mediante el uso de paneles de genes específicos basados en genes implicados en una misma ruta o función, o mediante secuenciación del exoma completo (WES) centrándose en los genes de proteínas localizadas en la mitocondria (MitoCarta)(12).

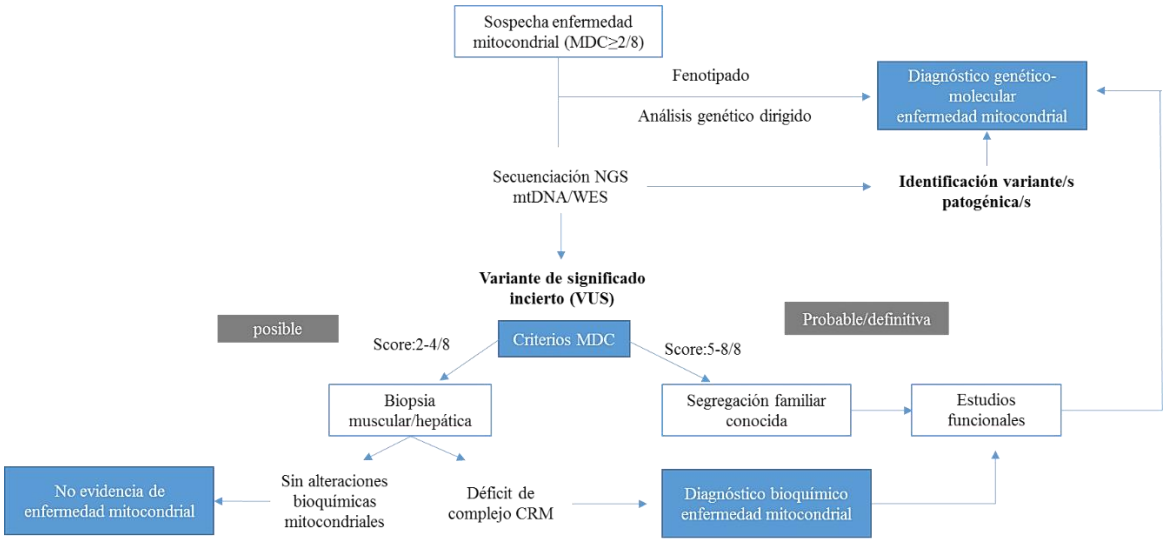


Figura 2. Diagrama de flujo diagnóstico para enfermedades mitocondriales propuesto por Witters *et al.* (2018). MDC: criterios de enfermedad mitocondrial

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. McFarland R, Taylor RW, Turnbull DM. A neurological perspective on mitochondrial disease. The Lancet Neurol. 2010;9(8):829-40.
2. Chinnery PF, Thorburn DR, Samuels DC, White SL, Dahl HM, Turnbull DM, et al. The inheritance of mitochondrial DNA heteroplasmy: Random drift, selection or both? Trends Genet. 2000;16(11):500-5.
3. Fernández-Moreira D, Ugalde C, Smeets R, Rodenburg RJ, López-Laso E, Ruiz-Falcó ML, et al. X-linked NDUFA1 gene mutations associated with mitochondrial encephalomyopathy. Ann Neurol [Internet]. 2007 Jan;61(1):73–83. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17262856
4. Morán M, Marín-Buera L, Gil-Borlado MC, Rivera H, Blázquez A, Séneca S, et al. Cellular pathophysiological consequences of BCS1L mutations in mitochondrial complex III enzyme deficiency. Hum Mutat. 2010;31(8):930-41
5. DiMauro S, Tanji K, Schon EA. The many clinical faces of cytochrome c oxidase deficiency. Adv Exp Med Biol. 2012;748:341-57.
6. Tort F, Del Toro M, Lissens W, Montoya J, Fernández-Burriel M, Font A, et al. Screening for nuclear genetic defects in the ATP synthase-associated genes TMEM70, ATP12 and ATP5E in patients with 3-methylglutaconic aciduria. Clinical Genetics. 2011;80(3):297-300.
7. El-Hattab AW, Craigen WJ, Scaglia F. Mitochondrial DNA maintenance defects. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 2017;1863(6):1539-55.
8. Christian BE, Spremulli LL. Mechanism of protein biosynthesis in mammalian mitochondria. Biochim Biophys Acta. 2012;1819(9-10):1035-54.
9. Awad AM, Bradley MC, Fernández-del-Río L, Nag A, Tsui HS, Clarke CF. Coenzyme Q 10 deficiencies: pathways in yeast and humans. Essays Biochem [Internet]. 2018;62(3):361–76. Disponible en: http://essays.biochemistry.org/lookup/doi/10.1042/EBC20170106

10. Blázquez A, Arenas J, Martín MA. Molecular Genetics of OXPHOS Disorders. eLS. 2016;1–10.
11. Rahman J, Rahman S. Mitochondrial medicine in the omics era. Lancet [Internet]. 2018 Jun 23;391(10139):2560–74. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1038/gim.2017.125
12. Witters P, Saada A, Honzik T, Tesarova M, Kleinle S, Horvath R, et al. Revisiting mitochondrial diagnostic criteria in the new era of genomics. Genet Med. 2018 Apr;20(4):444–51.

PRUEBAS BIOQUÍMICAS EN EL DIAGNÓSTICO DE FEOCROMOCITOMA/ PARAGANGLIOMA

Autor: Silvia Díaz Díaz

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Feocromocitoma, Paraganglioma.

INTRODUCCIÓN

El feocromocitoma (Feo) es un tumor productor de catecolaminas, procedente de las células cromafines del sistema nervioso simpático.

La mayoría de estos tumores se localizan en la médula adrenal (80-85%). El resto (15-20%) se desarrollan en los ganglios simpáticos o parasimpáticos y en los tejidos cromafines extraadrenales denominándose paragangliomas (PGL). Los paragangliomas pueden ser funcionantes (simpáticos) o generalmente no funcionantes (parasimpáticos), dependiendo del sitio de origen y de los eventos mutacionales subyacentes. Los paragangliomas simpáticos suelen localizarse en el tórax, el abdomen y pelvis y en general son secretores de noradrenalina. Los paragangliomas parasimpáticos se localizan en cabeza y cuello y suelen ser no funcionantes.

Son neoplasias poco frecuentes; ocurren en menos del 0,2 por ciento de los pacientes con hipertensión arterial (HTA). La incidencia anual de feocromocitoma es de aproximadamente 0,8 por cada 100.000 personas/año.

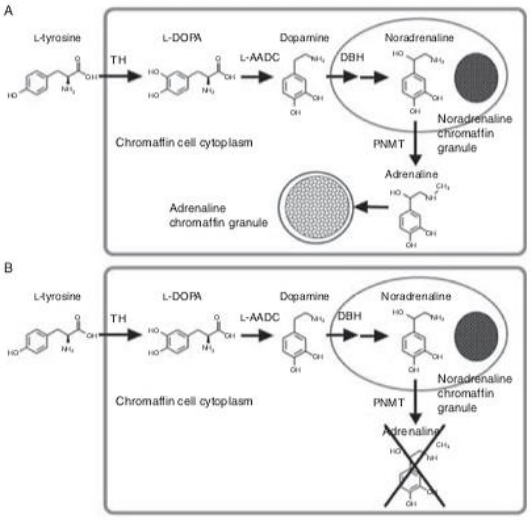
Aunque los feocromocitomas pueden ocurrir a cualquier edad, son más comunes en la cuarta o quinta década y son igualmente comunes en hombres y mujeres. Son tumores raros en niños, y cuando aparecen suelen ser múltiples y asociados a síndromes hereditarios.

La mayor parte de Feo/PGL son tumores benignos, pero aproximadamente un 10% son malignos. La mayoría de los tumores secretores de catecolaminas son esporádicos. Sin embargo, aproximadamente entre el 25-40% de los pacientes tienen la enfermedad como parte de un trastorno familiar; en estos pacientes, los tumores secretores de catecolaminas tienen más probabilidades de ser feocromocitomas o paragangliomas suprarrenales bilaterales.

Estos tumores hereditarios secretores de catecolaminas se presentan típicamente a una edad más temprana que las neoplasias esporádicas. El feocromocitoma esporádico generalmente se diagnostica sobre la base de los síntomas o de un descubrimiento incidental en imágenes computarizadas (denominado incidentaloma), mientras que el feocromocitoma hereditario con frecuencia se diagnostica más temprano debido a la vigilancia bioquímica o a las pruebas genéticas.

Existen varios trastornos familiares asociados con el feocromocitoma y paraganglioma, todos los cuales tienen herencia autosómica dominante: síndrome de Von Hippel-Lindau (VHL), neoplasia endocrina múltiple tipo 2 (MEN2) y, con menor frecuencia, neurofibromatosis tipo 1 (NF1) y paragangliomatosis familiar. La frecuencia aproximada de feocromocitoma en estos trastornos es de 10 a 20 por ciento en el síndrome de VHL, 50 por ciento en la NEM2 y de 0.1 a 5.7 por ciento con NF1.

METABOLISMO



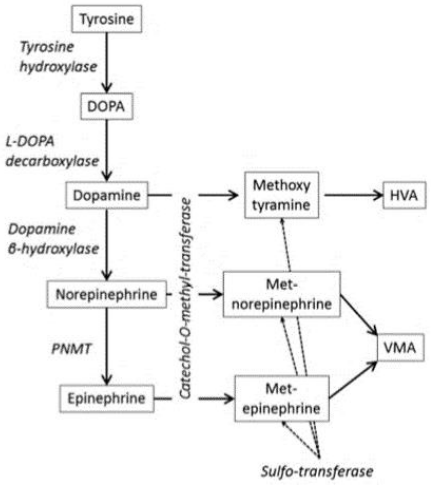


Figura 1. Biosíntesis de catecolaminas en las células cromafines de la médula adrenal (A) y nervios simpáticos (B) (7)

Figura 2. Urinary collection of amine biomarkers. J-B Corcuff et al. 2017 (2)

La biosíntesis de las catecolaminas comienza con la conversión del aminoácido tirosina en 3,4-dihidroxifenil-alanina (DOPA) por la enzima tirosina hidroxilasa. La DOPA se convierte en dopamina, que se transporta del citoplasma a vesículas de almacenamiento de catecolaminas que se encuentran dentro de células cromafines de la médula suprarrenal, nervios simpáticos y paraganglios. La presencia de la enzima dopamina β-hidroxilasa (DBH) en estas vesículas es responsable de la conversión de la dopamina en noradrenalina. En las células cromafines de la médula suprarrenal, la noradrenalina se convierte en adrenalina por la feniletanolamina N-metiltransferasa (PNMT). Esta enzima sólo está presente en estas células, por lo que la adrenalina se produce casi exclusivamente dentro de la médula suprarrenal.

El metabolismo de las catecolaminas ocurre a través de diferentes vías, dando lugar a numerosos metabolitos. En su mayor parte, la noradrenalina circulante deriva de las neuronas noradrenérgicas del sistema nervioso central y simpático. La deaminación de noradrenalina neuronal a 3,4-dihidroxifenilglicol (DHPG) ocurre por la monoaminooxidasa (MAO) después de la recaptación neuronal o después de la filtración del transmisor de las vesículas de almacenamiento al citosol neuronal. La noradrenalina también se metaboliza parcialmente en los tejidos extra neuronales y en las células cromafines suprarrenales, donde se convierte en normetanefrina mediante la catecol-O-metiltransferasa (COMT). La adrenalina se metaboliza principalmente dentro de las células cromafines suprarrenales por medio de la COMT, lo que da como resultado el metabolito O-metilado metanefrina. El metabolismo de la dopamina sigue otras vías, resultando en la producción del metabolito O-metilado metoxitiramina.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La presencia de feocromocitoma debe sospecharse cuando aparecen signos o síntomas derivados del efecto biológico del exceso de catecolaminas producidas por el tumor.

La hipertensión es la principal manifestación clínica, y puede presentarse de forma continua o intermitente. Otros síntomas pueden ser: dolor de cabeza, palpitaciones, sudoración, palidez, hipotensión ortoestática, temblor y ansiedad. Otros síntomas no específicos, pero que pueden aparecer son: visión borrosa, dolor abdominal, diarrea, pérdida de peso, hiperglucemia, poliuria, polidipsia…

Los múltiples efectos de las catecolaminas dan el resultado de una amplia variedad de presentaciones clínicas:

- Noradrenalina (NA): ejerce su acción predominantemente sobre la musculatura lisa vascular, por lo que se producirá una vasoconstricción mantenida y en consecuencia hipertensión mantenida.

- Adrenalina (A): ejerce su acción sobre los receptores β_2, producirá hipertensión paroxística, sudoración, ansiedad y palpitaciones.
- Dopamina: ejerce su acción sobre receptores dopaminérgicos. Normalmente los pacientes están asintomáticos, y los síntomas que tienen son por efecto masa del tumor. En estos casos puede haber hipotensión.

Los cambios en la presión arterial pueden deberse a la liberación episódica de las catecolaminas, a alteración de los reflejos simpáticos, depleción de volumen circulante, así como por otros desencadenantes como ejercicio intenso, traumatismo, anestésicos, fármacos o manipulación del tumor durante la cirugía.

CUANDO REALIZAR UN SCREENING BIOQUÍMICO

Como se ha comentado en el apartado anterior, las pruebas bioquímicas estarían indicados en todos los pacientes que presenten signos o síntomas que sugieran una secreción anormal de catecolaminas, independientemente de si el paciente tiene hipertensión o no.

Por el contrario, no estaría indicado en aquellos pacientes con hipertensión que no presenten ningún otro signo/síntoma.

Por lo tanto, las situaciones en las que estaría indicado solicitar un screening bioquímico son:

- En pacientes sintomáticos:
    - Tríada clásica: dolor de cabeza, sudoración y taquicardia
    - HTA Episódica
    - HTA resistente al tratamiento
    - HTA de inicio a edad temprana
    - Diabetes mellitus atípica asociada a HTA
    - Cambios en la presión arterial en respuesta a anestesia, cirugía o fármacos
    - Hipotensión ortoestática en pacientes con HTA
    - Miocardiopatía dilatada idiopática
- Pacientes asintomáticos
    - Incidentaloma adrenal
    - Síndrome familiar (MEN2, VHL, PGLF, NF1)
    - Antecedentes familiares
    - Triada de Carney (PGL no familiar, tumor GI, condroma pulmonar)

DIAGNÓSTICO

Tradicionalmente los test bioquímicos para el estudio de Feo/PGL se basaban en la determinación de los niveles de catecolaminas en orina, en conjunción con la medida de sus metabolitos como el ácido vanilmandélico (VMA). Los primeros ensayos para su determinación fueron colorimétricos, seguidos de los fluorimétricos. Posteriormente se desarrollaron los radioenzimáticos, hasta que en los años 80, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se convirtió en el método de referencia.

El cambio de rumbo en los métodos de medida fue acompañado del cambio en las pruebas bioquímicas. Inicialmente se prefería la determinación de catecolaminas en orina y plasma y actualmente se ha impuesto la medida de metanefrinas en plasma y orina, incluyendo normetanefrina y metanefrina, que son los metabolitos O-metilados de NA y A. Algunos métodos permiten además la medida de metoxitiramina que es el metabolito O-metilado de la dopamina.

Este cambio en el diagnóstico bioquímico se debe a los avances en la tecnología, que han ido también emparejados al mejor conocimiento del metabolismo de las catecolaminas.

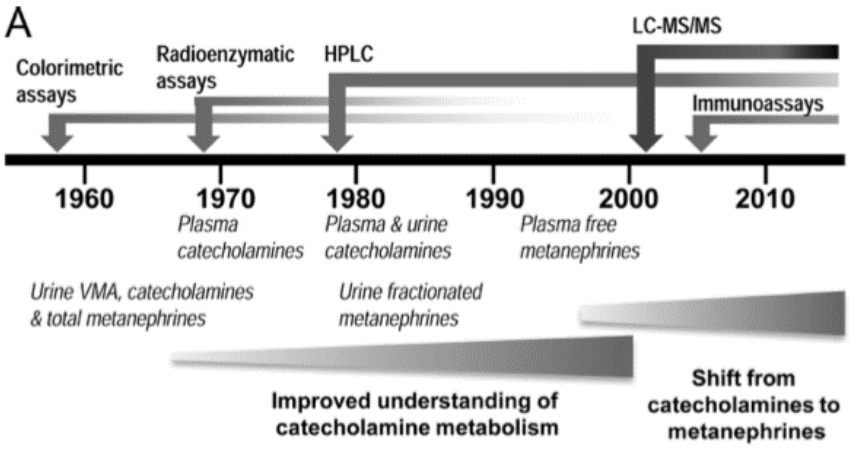


Figura 3. Laboratory Evaluation of Pheocromocytoma and Paraganglioma (6)

En la actualidad el test diagnóstico de elección es la determinación de metanefrinas plásmáticas y/o urinarias (metanefrina y normetanefrina). Tienen una sensibilidad cercana al 100%. Esta alta sensibilidad se debe al hecho de que existe un metabolismo intratumoral de catecolaminas (de noradrenalina a normetanefrina y de adrenalina a metanefrina), que es continuo e independiente de la liberación intermitente de catecolaminas.

La determinación de metanefrinas libres en plasma tiene una sensibilidad de 96-99% y una especificidad entre 80-100%, aunque con un porcentaje relativamente alto de falsos positivos. Debido a que la tecnología necesaria para la determinación de metanefrinas plasmáticas (espectrometría de masas) no está actualmente muy extendida, la mayoría de los laboratorios optan por la determinación de metanefrinas urinarias como primera prueba de screening.

CONDICIONES DE RECOGIDA Y ESTABILIDAD DE LA MUESTRA

El espécimen recomendado es la recogida de orina de 24 horas con HCl como conservante. Las catecolaminas son propensas a la auto oxidación en condiciones alcalinas de pH. En cambio, esta acidificación no es necesaria para la determinación de metanefrinas, que pueden permanecer estables durante 3 días a temperatura ambiente. En el caso de que se vayan a determinar tanto catecolaminas como metanefrinas, la recomendación es utilizar orina acidificada y refrigeración en cuanto la orina llegue al laboratorio.

Si el pH de la orina es demasiado ácido, las catecolaminas libres se degradan poco, pero puede ocurrir la desconjugación de las catecolaminas conjugadas, incrementando falsamente, la concentración de catecolaminas libres. Por ello, el pH óptimo para su conservación y almacenamiento es 4.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Existen muchos factores que hay que tener en cuenta a la hora de hacer una correcta interpretación de los resultados bioquímicos. Unos niveles elevados de catecolaminas o metanefrinas no siempre van a ser indicativos de la presencia de un tumor, pero sí van a reflejar un aumento de la actividad simpática.

Hay muchos factores preanalíticos y analíticos que pueden interferir con nuestros resultados (ejercicio, alimentación, estrés, hipoglucemia, fármacos…).

Aproximadamente el 50% de los tumores produce una mezcla de noradrenalina y adrenalina, el resto produce casi exclusivamente noradrenalina y raramente el tumor produce principalmente dopamina.

La enfermedad de VHL se caracteriza por la producción casi exclusiva de normetanefrina (reflejando la producción de noradrenalina). Los pacientes portadores de MEN 2 se caracterizan por el aumento de metanefrina plasmática, indicando por lo tanto una producción de adrenalina por parte del tumor.

FALSOS POSITIVOS

Alimentación

Muchos alimentos contienen cantidades sustanciales de aminas biógenas que pueden producir falsos positivos. Por ejemplo: frutas (sobre todo plátano, kiwi, piña), nueces, tomate, quesos, café…

Esta influencia es más importante en la determinación de catecolaminas. Las metanefrinas (normetanefrina y metanefrina) están mucho menos afectadas por la dieta (a excepción de la 3 metoxitiramina)

Fármacos

Los fármacos pueden causar interferencias de tipo analítico o por el efecto del fármaco sobre la síntesis, metabolización y excreción de las catecolaminas o sus metabolitos. Las interferencias analíticas suelen ser específicas del método y del analito. Los métodos de LC-MS/MS son los menos susceptibles a este tipo de interferencias, los métodos de HPLC (más frecuentemente usados) han ido evolucionando y haciéndose cada vez más específicos.

Numerosos fármacos incrementan la concentración de catecolaminas y sus metabolitos.

- Agentes simpaticomiméticos: adrenalina, anfetaminas, cocaína, cafeína, nicotina... (aumentan noradrenalina y adrenalina)
- Fármacos que inhiben la recaptación de serotonina-noradrenalina: Venlafaxina
- Fármacos inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina
- Antidepresivos tricíclicos
- Fármacos inhibidores de la monoamino oxidasa (IMAO): bloquean la conversión de noradrenalina y adrenalina en DHPG.
- Fármacos antihipertensivos incluyendo vasodilatadores: dihidropiridina (bloqueador de canales de calcio)
- Fármacos bloqueantes selectivos de los receptores α-1 adrenérgicos: Doxazosina
- Fármacos antagonistas no selectivos α adrenérgicos: Fenoxibenzamina
- L-DOPA: puede causar incremento de los niveles de dopamina y 3-Metoxitiramina.

La situación ideal es que el paciente interrumpiera la medicación susceptible de causar interferencia antes de la recogida de la muestra. En la práctica real no es posible que el paciente abandone su medicación, por lo que se recomienda la recogida de la orina con la medicación habitual (salvo fenoxibenzamina o antidepresivos tricíclicos que siempre deben retirarse), y si se obtiene un resultado alterado, repetir la prueba considerando retirar el fármaco que puede estar produciendo la interferencia.

Un aumento de 3-4 veces los valores de referencia se asocian con una probabilidad del 100% de que se trate de un tumor productor de catecolaminas.

Si el resultado del screening bioquímico son unos niveles elevados de metanefrinas, pero no lo suficientemente altos para que sean concluyentes (es decir <3-4 veces el límite alto de referencia), se recomienda intentar confirmar el diagnóstico bioquímico antes de realizar la prueba de imagen.

Para ello deberíamos tener en cuenta, como se ha explicado durante este apartado las siguientes situaciones:

- Causas preanalíticas
- Revisar el tratamiento farmacológico
- Realizar otra prueba bioquímica (metanefrinas en plasma, catecolaminas, cromogranina A)
- Considerar el seguimiento de pacientes con resultados discretamente elevados y con baja probabilidad de padecer la enfermedad.
- Raramente será un falso positivo si encontramos elevados simultáneamente normetanefrina y metanefrina

FALSOS NEGATIVOS

Unos niveles de catecolaminas o metanefrinas normales excluyen la presencia de un tumor productor de catecolaminas con una alta fiabilidad.

Algunas excepciones son:

- Tumores de pequeño tamaño (<1 cm) en pacientes asintomáticos
- Tumores productores de dopamina (muy raros, en su mayor parte malignos y predominantemente son paragangliomas extra-adrenales)
- Recidivas microscópicas
- Pacientes con mutaciones en SDHx pueden presentar tumores silentes.
- Paragangliomas de cabeza y cuello

DIAGNÓSTICO FINAL

Una vez realizadas las pruebas bioquímicas, si el resultado es positivo se debe proceder a la localización del tumor mediante pruebas de imagen:

- TAC: Tiene una sensibilidad de un 90-95% para la localización del tumor. Tumores adrenales de 1 cm o metástasis de 1 a 2 cm son fácilmente detectados. Permite distinguir por densitometría (Unidades de Hounsfiel, HU) si se trata de adenoma o de un tumor.
- RM: Tiene una sensibilidad similar al TAC. Se reserva para los casos en los que el TAC está contraindicado.
- Gammagrafía con MIBG: permite la exploración funcional y localización del tumor y, sobre todo la localización de la metástasis cuando el Feocromocitoma es maligno. Su indicación principal es cuando existe un diagnóstico clínico-bioquímico muy importante y el TAC/RM son negativas
- Octreoscan: Es útil ya que hasta un 75 % de los tumores expresan receptores de somatostatina. La MIBG es más sensible, pero el octreoscan es de ayuda en los casos en los que el Feocromocitoma o sus metástasis han perdido los transportadores de noradrenalina de la membrana.

TRATAMIENTO

Una vez establecido el diagnóstico bioquímico y el tumor ha sido localizado por imagen, el tratamiento definitivo es la exéresis por cirugía. Para realizar la cirugía el paciente requiere una preparación prequirúrgica con el objetivo de minimizar las complicaciones que pueden ocurrir ante la liberación aguda de catecolaminas, durante la inducción anestésica y la manipulación del tumor.

Esta preparación consiste en un bloqueo alfa adrenérgico, expansión del volumen circulante, y un bloqueo beta adrenérgico en el caso de arritmias o taquicardia.

EVOLUCIÓN POSTOPERATORIA

Los niveles de concentración de catecolaminas y metanefrinas caen rápidamente tras la cirugía, pero pueden tardar como mínimo 2 semanas en alcanzar valores dentro de la normalidad, por lo que su determinación precoz no es de utilidad.

Si la hipertensión arterial persiste con determinación de catecolaminas/metanefrinas normales, habrá que considerar que es una hipertensión arterial esencial o secundaria a lesión renal.

En los casos de Feocromocitoma maligno, existe la posibilidad de que el paciente desarrolle otro feocromocitoma o enfermedad metastásica, por lo que se recomienda que sean monitorizados con determinaciones bioquímicas al menos los 5 años después de la cirugía.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Oleaga A, Goñi F. Feocromocitoma: actualización diagnóstica y terapeútica. Endocrinol Nutr. 2008;55(5):202-16.
2. Corcuff JB, Chardon L, El Hajji Ridah I, Brossaud J. Urinary sampling for 5HIAA and metanephrines determination: revisiting the recommendations. Endocr Connect. 2017;6(6):R87-R98. doi: 10.1530/EC-17-0071.
3. Massó FJ, Rodríguez González JM. Feocromocitoma. Medicine 2008;10(15):997-1005.
4. Montanya Mias E, Mena Ribas E. Tumores de la médula suprarrenal. Feocromocitoma. Medicine 2004;9(15):937-945
5. Berlanga Escalera E, Álvarez García E. Diagnóstico bioquímico del feocromocitoma. SEQC Ed Cont Lab Clin. 2016;22:103-17.
6. Eisenhofer G, Peitzsch M. Laboratory evaluation of pheocromocytoma and paraganglioma. Clin Chem. 2014;60(12):1486-99.
7. Van Berckel A, Lenders JWM, Timmers HJLM. Biochemical diagnosis of phaeochromocytoma and paraganglioma. Eur J Endocrinol.2014;170:R109-R119. doi: 10-1530/EJE-13-0882
8. Eisenhofer G, Rosano TG, Whitley RJ. Chapter 26: Catecholamines and serotonin. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, editors. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 6th ed. London: Elsevier Health Sciences; 2008. p. 460 y ss.

DERRAME PLEURAL TUBERCULOSO: MARCADORES BIOQUÍMICOS EN EL ENFOQUE DIAGNÓSTICO

Autores: María Victoria Huertas García, José Miguel Comino Cáceres

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: biomarcadores, líquido, pleural, tuberculosis, infección, derrame.

En este capítulo hablaremos del diagnóstico del derrame pleural tuberculoso (DPTB), pero centrándonos sobre todo en la parte de los marcadores bioquímicos que se utilizan para ayudar a confirmar el diagnóstico microbiológico, del que también hablaremos, pero de manera más resumida.

La tuberculosis es una enfermedad causada por las micobacterias del grupo *Mycobacterium tuberculosis complex*, que incluye a *Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium bovis BCG* y *Mycobacterium africanum.*

Estructuralmente es un bacilo recto, que se caracteriza por presentar en su pared un alto contenido de ácidos grasos de cadena larga denominados ácidos micólicos, que le confieren la capacidad de ser ácido alcohol resistentes, lo que va a producir que no se tiñan con los colorantes básicos de alanina de uso habitual, como los usados en la tinción de gram. Esta propiedad ha sido utilizada como estrategia para tinciones específicas de esta familia, como son la tinción de Ziehl-Neelsen o la de auramina, tinción de fluorescencia que se usa habitualmente en los laboratorios y en las que, como observamos en la imagen siguiente, se ven bacilos fluorescentes generalmente en disposición de cadenas en el caso de que sea *M. Tuberculosis.*

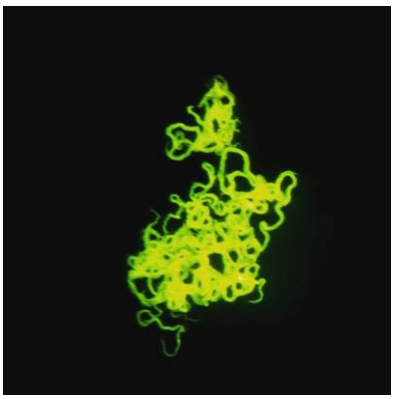


Figura 1. Tinción auramina positiva para *M.Tuberculosis*

Son aéreos, inmóviles, intracelulares facultativos y de crecimiento lento en los cultivos (hasta 40 días tarda alguna de las especies en crecer). Se caracterizan por tener la capacidad de estar en estado latente durante muchos años en el hospedador sin producir enfermedad y, cuando por fin la producen, son enfermedades de larga duración y con consecuencias graves para la salud del paciente.

La tuberculosis (TB) como tal, es una enfermedad de declaración obligatoria (EDO), mundialmente distribuida con unos 10,4 millones de nuevos casos en 2016 según la OMS y una incidencia media de 12 cada 100.000 habitantes en España ese mismo año.

Dentro de la TB, el DPTB es la segunda forma más común de tuberculosis extrapulmonar, tras la afectación ganglionar; y la cuarta causa más común de derrame pleural, tras las neoplasias, la insuficiencia cardiaca y la neumonía.

Este derrame tiene lugar en el espacio pleural, delimitado por la pleural parietal y la pleura visceral, con 10-20 µm de ancho y que en condiciones normales está ocupado por el líquido pleural.

Este líquido presenta un volumen de 0,1-0,2 mL/kg de paciente, color claro e inodoro, con una concentración de proteínas de 1-1,5 g/dL, una celularidad de 1500 células/µl de predominio monocítico y que se encuentra en equilibrio dinámico entre su formación y su eliminación, gracias al juego de presiones hidrostática y

coleidosmótica entre los capilares viscerales y los parietales, a la permeabilidad de la membrana y al drenaje linfático.

El derrame va a ocurrir tras la ruptura de un foco caseoso subpleural que libera los bacilos contenidos en su interior y origina una reacción de hipersensibilidad retardada que rompen las fuerzas que mantienen el equilibrio dinámico, principalmente un deterioro del drenaje linfático, por aumento del contenido en esta zona, y un aumento de la permeabilidad de la membrana pleural, permitiendo el paso de macromoléculas que nos servirán como biomarcadores.

Esta reacción de hipersensibilidad tiene lugar cuando los antígenos micobacterianos interaccionan primero con las células presentadoras de antígeno y, después, con los linfocitos T CD4+. En esta reacción se van a liberar ciertas citoquinas que favorecerán la activación de la actividad antimicobacteriana de los macrófagos, que actuarán fagocitando y opsonizando las micobacterias. Entre las sustancias liberadas en esta cascada inmunitaria, tenemos el interferón gamma y la enzima adenosina desaminasa, de las que más adelante hablaremos por su valor diagnóstico. Al principio observaremos un claro aumento de células polimorfonucleares, pero a las dos semanas tendremos un predominio linfocítico en la zona.

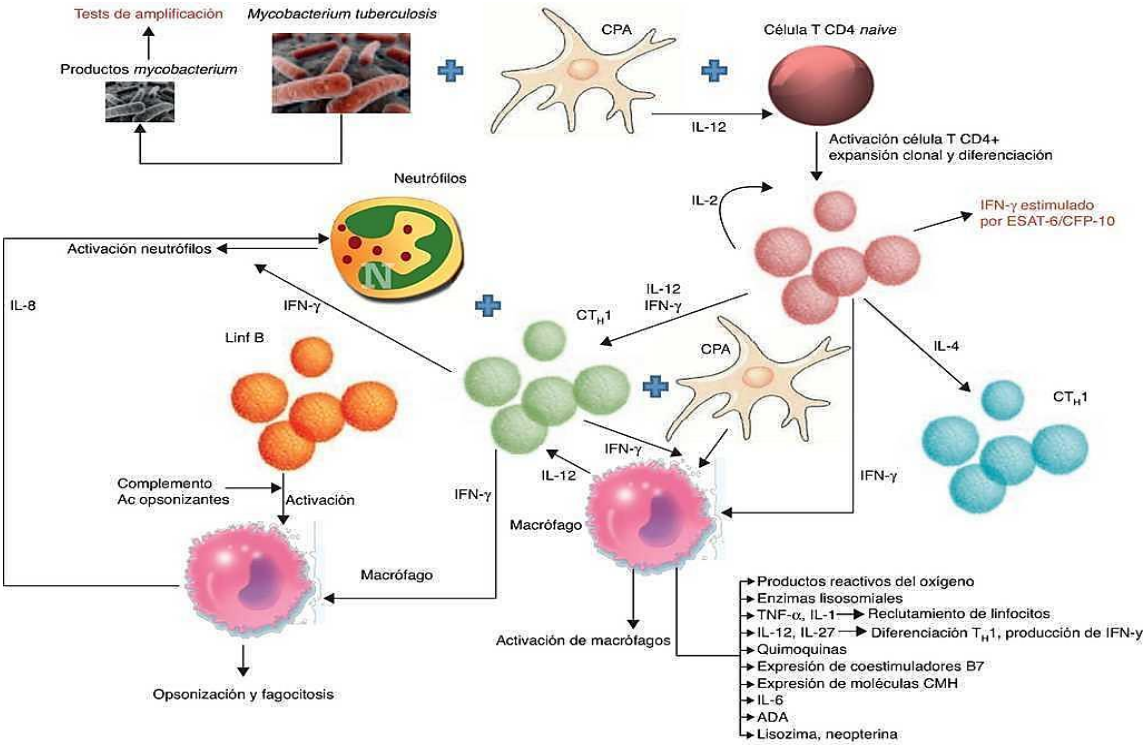


Figura 2. Esquema de la reacción de hipersensibilidad retardada.

El DPTB puede ser tanto manifestación de una infección primaria, como de una reactivación de la enfermedad, siendo esta última la que predomina en países desarrollados. Además, es particularmente relevante en la etapa actual de infección por VIH, siendo frecuente en la práctica clínica de esta enfermedad. Sería esperable, por toda la cascada de reacción inmune que hemos vistos antes, que esta manifestación fuese más frecuente en inmunocompetentes, pero generalmente no es así. Los inmunocompetentes controlan la infección y en los inmunodeprimidos permanece el bacilo durante mucho más tiempo, lo que provoca una alteración aún mayor de las fuerzas. Además, aun teniendo pocos linfocitos T CD4+, estos se activan y van al foco de la infección.

Dentro de las manifestaciones clínicas más relevantes tenemos fiebre, dolor torácico y tos. El derrame suele ser unilateral y de tamaño variable.

El diagnóstico confirmatorio, o *gold standard*, es el microbiológico que se caracteriza por la demostración de bacilos tuberculosos tras cultivo en esputo, líquido pleural o en las muestras de biopsia pleural, o bien la observación de granulomas en esta última.

Estos métodos confirmatorios para el diagnóstico tienen limitaciones. Al ser el DPTB paubacilar, los métodos microbiológicos utilizados son poco sensibles. Además, en muchas ocasiones, el estado

inmunológico del paciente interviene en la rentabilidad de las muestras (a mejor estado inmunológico, menor rentabilidad). A esto se suma el tiempo de espera prolongado para obtener resultados y necesidad de utilizar técnicas invasivas como la biopsia pleural.

La tinción del líquido pleural para el diagnóstico de DPTB en un paciente inmunocompetente presenta una rentabilidad <5%. De esta misma forma, la rentabilidad del cultivo suele oscilar entre 24-60%, con tiempos de espera prolongados.

Recientemente se han incorporado técnicas moleculares de amplificación de ácidos nucleicos, pero también presentan baja rentabilidad, con especificidades del 100% pero sensibilidades del 15-27%. Esto, unido a su elevado precio, hace que no se realicen de rutina en el diagnóstico de DPTB.

Para solventar este problema, se ha propuesto la combinación de biomarcadores derivados del análisis del líquido pleural que, junto con el cuadro clínico y las características del derrame, resultan útiles para establecer un diagnóstico precoz o probable de DPTB con el fin de comenzar lo más rápido posible el tratamiento antituberculoso y proceder al aislamiento del paciente.

Dentro de los biomarcadores usados tenemos los criterios de light, un análisis de la celularidad y de la bioquímica básica, y por último los valores obtenidos del análisis del interferón gamma y de la enzima adenosina desaminasa.

CRITERIOS DE LIGHT

Estos criterios descritos por Light en el año 1972 nos van a permitir determinar si el líquido es un exudado, característico del DPTB, o un trasudado. Para ello determinaremos valores como la LDH o las proteínas en el líquido, y los compararemos con los niveles de estos en suero.

	TRASUDADO	EXUDADO
Relación LDH pleural/suero	< 0,6	> 0,6
Relación Proteínas pleural/suero	< 0,5	> 0,5
LDH en líquido pleural	≤ a 2/3 del límite superior normal de LDH sérica	> De 2/3 del límite superior del valor normal sérico

Figura 3. Criterios de Light

CELULARIDAD Y BIOQUÍMICA BÁSICA

Respecto a la celularidad, observaremos un aumento sustancial de la misma. En función del estado de la enfermedad en la que nos encontremos, veremos predominio de un tipo de células u otro.

En las dos primeras semanas veremos un aumento de células polimorfonucleares, principalmente macrófagos que son los primeros en activarse. Esta situación no es muy frecuente en la práctica clínica ya que los síntomas suelen empezar más tarde.

En las semanas posteriores veremos un aumento linfocitario de hasta el 50%.

Dentro de la bioquímica veremos una concentración de proteínas superior a 30 g/L, derivada del aumento de la permeabilidad de la membrana pleural, así como una concentración de glucosa inferior a los niveles séricos derivada del consumo micobacteriano. El pH suele encontrarse alrededor de 7,3.

INTERFERÓN GAMMA

El interferón gamma es una citoquina proinflamatoria liberada por los linfocitos T CD4+ que favorece la actividad antimicobacteriana de los macrófagos.

En el laboratorio la podemos determinar de dos maneras:

1- Manera indirecta: determina el interferón gamma liberado por las células mononucleares del líquido pleural tras su estimulación con antígenos específicos de *M. tuberculosis*.

2- Manera directa: mediante un Elisa tipo sándwich (se prefiere esta técnica ya que la presencia del segundo anticuerpo aumenta la especificidad y la sensibilidad de la técnica por amplificación de la señal.

Para analizar su valor diagnóstico, uno de los últimos estudios y más amplios fue un metaanálisis realizado por Jiang J. et al. llamado *Diagnosis value of interferon-gamma in tuberculous pleurisy: A metaanalysis. Chest* que incluye 22 artículos con 2101 pacientes, de los cuales 718 tenían DPTB.

En este metaanálisis se concluyó que el interferón gamma tenía una sensibilidad del 89% y una especificidad del 97%, y que existe una rentabilidad superior, aunque no significativa, a la de la enzima adenosina desaminasa (ADA), puesto que en la práctica clínica también presenta algunas limitaciones.

La primera es que no existe un punto de corte universal, se habla de valores de 140-240 pg/mL según el estudio. La segunda es que existen varias técnicas y no están ni estandarizadas ni existe una intercambiabilidad completa entre ellas.

Además, se usan distintas unidades de medida, su determinación es muy cara y está aumentado también en derrames hematológicos y empiemas.

Con esto el estudio determinó que sí se puede usar como apoyo diagnóstico, pero no como criterio único.

ADENOSINA DESAMINASA

Es el biomarcador más utilizado. Es una enzima derivada del metabolismo de las purinas que cataliza la transformación de adenosina en inosina más amonio.

Durante los años 80, varios autores determinaron la relación entre el aumento del ADA en líquidos biológicos que presentan una respuesta inmune tipo celular, teniendo un papel relevante en la proliferación de linfocitos T. Existen dos isoenzimas, siendo la ADA2 la que se eleva principalmente en el DPTB, ya que solamente se encuentra en los monocitos y en los macrófagos y se suele elevar cuando tienen un microrganismo en su interior, característica que hace que también se eleve en los DPTB con bajo número de linfocitos T CD4+, por lo que su determinación también es útil en inmunodeprimidos.

Aunque la rentabilidad del ADA2 es ligeramente superior, su uso no parece adecuado en la práctica clínica ya que es un proceso con mucha complejidad y con un gran número de pasos, lo que aumenta la posibilidad de error y aumenta el coste del proceso.

En la práctica se mide el ADA por tres métodos, todos estandarizados e intercambiables. Estos métodos son el colorimétrico de Giusti, cinéticos manuales y cinéticos automatizados, siendo este último el más extendido en la práctica clínica.

Este método cinético automatizado se caracteriza por usar el producto de la reacción catalizada por la ADA, el NH_3. La concentración catalítica se determina empleando la reacción acoplada a la enzima glutamato deshidrogenasa (GIDH) a partir de la desaparición del NADH, todo esto medido a 340 nm.

Se suele utilizar un punto de corte de 35-40 U/L.

Tenemos que tener en cuenta que el ADA también se encuentra elevado en empiemas, linfomas y derrames paraneumónicos complicados. Todas estas elevaciónes se deben principalmente a la isoenzima ADA1. Las dos primeras son más fácilmente distinguibles del DPTB por la clínica del paciente, por lo que siempre se tiene que tener en cuenta.

Para examinar la eficacia de la ADA se han publicado bastantes artículos. Uno de los últimos es un metaanálisis de los estudios españoles publicados hasta la fecha por el grupo del Hospital Arnau de Villanova de Lleida que fue publicado en archivos de bronconeumología en 2019. El objetivo era determinar la eficacia de la ADA independientemente de la técnica utilizada y del punto de corte.

Se incluyeron 16 estudios con 4147 pacientes, de los que 1172 tenían DPTB. Como criterios de inclusión establecieron que se hubiese realizado un diagnóstico confirmatorio positivo y que proporcionaran suficientes datos para calcular la eficacia diagnóstica.

Tras el análisis estadístico de los datos, determinaron una sensibilidad del 93%, una especificidad del 92%, un *likehood ratio* positivo de 12 y uno negativo de 0,08. Este metaanálisis demuestra la alta rentabilidad de la ADA pleural para el diagnóstico de TB en población española. Unas concentraciones elevadas (generalmente ≥ 35-40 U/L) incrementan significativamente la probabilidad de DPTB (LR positiva = 12), mientras que unos valores bajos la reducen (LR negativa = 0,08).

Añadir que la ADA se determina de forma rutinaria en países donde la prevalencia de TB como causa de DP es alta/moderada. En estos países la rentabilidad del ADA es tan elevada, que se podría prescindir de la biopsia pleural para el diagnóstico. Según este estudio, al hablar del ADA en países con alta prevalencia, el valor predictivo positivo es tan alto que un valor alto de ADA indicaría la existencia de un DPTB activo.

Donde la prevalencia es baja, el valor predictivo positivo es bajo ya que hay otras muchas causas de derrame con aumento de ADA, por lo que la utilidad radicaría en poder descartar la enfermedad (elevado valor predictivo negativo).

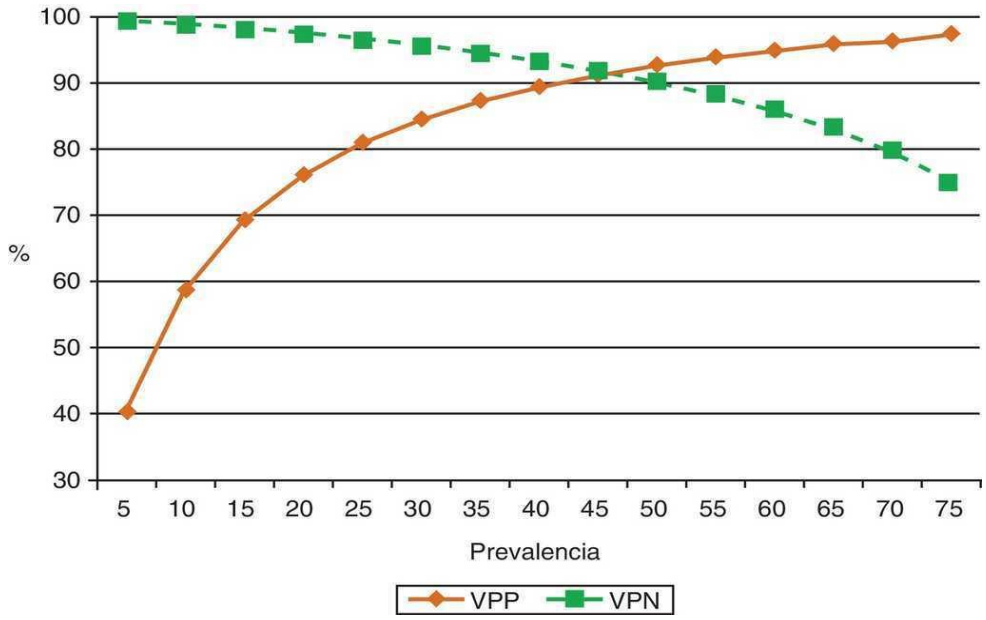


Figura 4. Eficacia de los valores predictivos en función de la prevalencia

Como conclusión, hemos de decir que la ADA no deja de ser un marcador inflamatorio, por lo que no sustituye al cultivo ni informa sobre la sensibilidad de los fármacos antituberculosos.

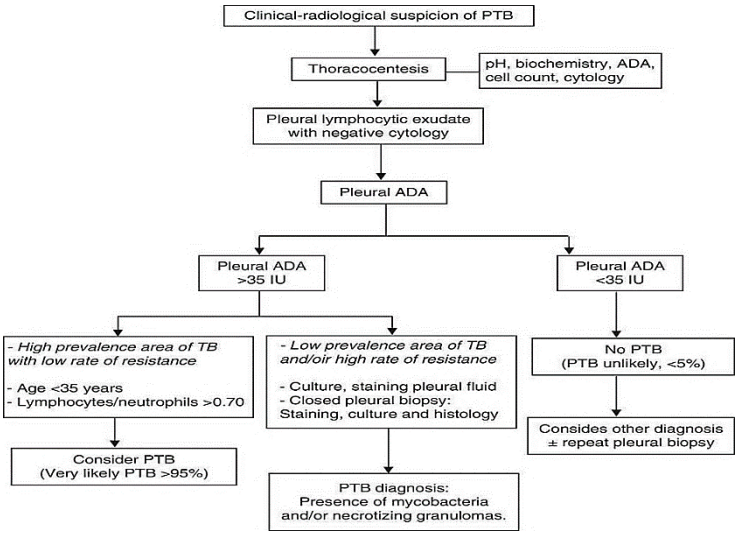


Figura 5. Algoritmo clásico para el establecer el diagnóstico presuntivo de DPTB

Ante un ADA elevado, se puede comenzar el tratamiento realizando lo que se denomina un diagnóstico presuntivo, pero es conveniente realizar un diagnóstico microbiológico confirmatorio.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, se han establecido algoritmos combinando estos parámetros para establecer este diagnóstico presuntivo.

CONCLUSIONES

- Los diagnósticos de certeza presentan limitaciones.
- Se ha utilizado la determinación en líquido pleural de biomarcadores para mejorar el rendimiento diagnóstico.
- El uso combinado del análisis bioquímico (ADA, interferón gamma, recuento celular) del líquido pleural con el análisis microbiológico ayuda a acelerar el diagnóstico y a iniciar más rápidamente el tratamiento.

CASO CLÍNICO:

Varón español de 32 años, derivado desde centro penitenciario por presentar fiebre de hasta 40ºC y tos no productiva de varios días de evolución.

Como antecedentes personales destaca una gastritis por *H. pylori*, fumador activo de 5-6 cigarrillos diarios y una prueba de la tuberculina negativa del año anterior.

El paciente refiere presentar trepopnea derecha y sudoración de tipo nocturno. A la exploración física se observa dolor de tipo pleurítico sin cuadro constitucional asociado, así como murmullo vesicular conservado con semiología de derrame pleural derecho hasta campo medio.

Ante la sospecha de DPTB se solicitó una radiografía de tórax en la que se objetivó un derrame pleural derecho hasta campo medio. Se solicitó una prueba de la tuberculina, que fue positiva, y se realizó una toracocentesis diagnóstica en la que se obtuvo un líquido pleural que se envió para estudio microbiológico y cito-bioquímico, obteniendo los siguientes resultados:

- Tinción de fluorescencia: negativa.
- Cultivo: pendientes.
- Exudado según criterios de Light
- pH de 7.36.
- Recuento leucocitario elevado con predominio mononuclear (77% linfocitos),
- ADA: 70.10 UI/l (VN:<40 U/l)
- INTgamma: >100 pg/ml.

Teniendo en cuenta el cuadro clínico del paciente, los resultados cito-bioquímico del líquido y la positividad de la prueba de la tuberculina, se procedió al aislamiento y se inició terapia antituberculosa pese a no presentar un diagnóstico microbiológico confirmatorio.

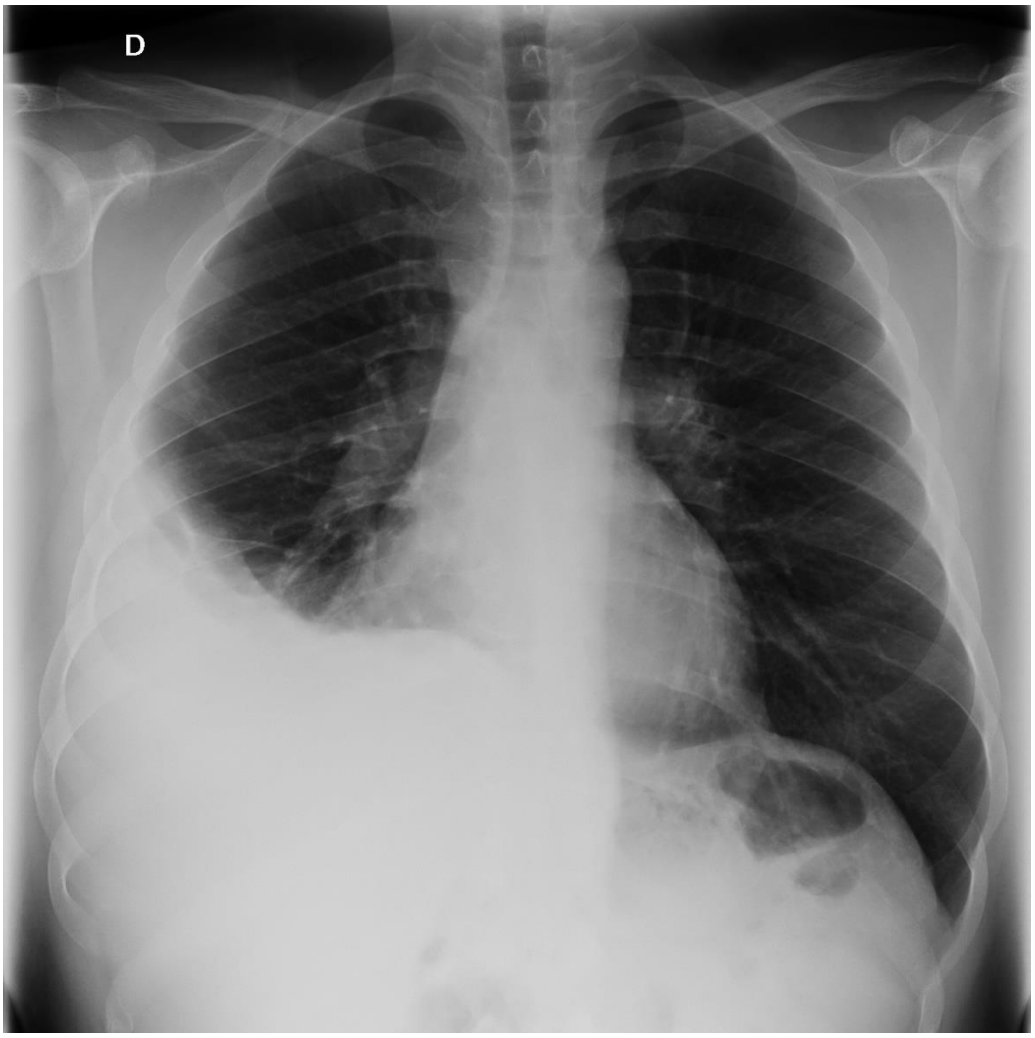


Figura 6. Radiografía de tórax mostrando derrame pleural derecho hasta campo medio

REFERENCIAS:

1. Porcel JM, Esquerda A, Vives M, Bielsa S. Etiología del derrame pleural: análisis de más de 3.000 toracocentesis consecutivas. Arch Bronconeumol. 2014;50(5):161-5
2. Ferreiro L, San José E, Valdés L. Derrame pleural tuberculoso. Arch Bronconeumol. 2014; 50(10):435-43
3. Palma RM, Bielsa S, Esquerda A, Martínez-Alonso M, Porcel JM. Eficacia diagnóstica de la adenosina desaminasa en líquido pleural para diagnosticar tuberculosis. Metaanálisis de estudios españoles. Arch Bronconeumol. 2019;55(1):23-30
4. Jiang J, Shi HZ, Liang QL, Qin SM, Qin XJ. Diagnostic value of interferon-gamma in tuberculous pleurisy: A metaanalysis. Chest. 2007; 131(4):1133-41.
5. Valdés L, San José ME, Pose A, Gude F, González-Barcala FJ. Diagnosing tuberculous pleural effusion using clinical data and pleural fluid analysis. A study of patients less than 40 years-old in an área with a high incidence of tuberculosis. Respir Med. 2010;104(8):1211-7.

CISTATINA C

Autores: Irene González Martínez, Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: función renal, filtrado glomerular, creatinina, cistatina C.

INTRODUCCIÓN

La evaluación precisa de la función renal es clave para la identificación y el manejo de la enfermedad renal crónica, sin embargo, las primeras etapas de la enfermedad son silenciosas y no se detectan con pruebas de rutina. Actualmente, el estudio de la función renal se realiza mediante la medida de la concentración sérica de creatinina y una aproximación del filtrado glomerular obtenida normalmente mediante una ecuación. La obtención del filtrado glomerular es una medida directa de la función renal y éste se reduce antes de la aparición de los síntomas de fallo renal. Sin embargo, a pesar de la amplia implementación de estas recomendaciones en la población adulta, apenas ha tenido repercusión en la población pediátrica (1).

En la enfermedad renal crónica se produce una pérdida de la capacidad depurativa y de mantenimiento de la homeostasis hidroelectrolítica. La variabilidad de su expresión clínica es debida a su distinta etiopatogenia, a la estructura del riñón afectada y a su velocidad de progresión. La historia natural de la enfermedad conduce hacia una disminución progresiva del filtrado glomerular hasta llegar, en algunos casos, a cifras que requieren tratamientos sustitutivos como la diálisis o el trasplante. Además, está asociada a una elevada mortalidad en niños: del 20% a los cinco años tras el inicio de la diálisis y del 5 % tras el trasplante renal (2). Alguno de los factores de riesgo en adultos de la Enfermedad renal crónica como la diabetes mellitus o la hipertensión arterial, pueden iniciarse en la infancia por lo que es importante la identificación de estos factores y la puesta en marcha de medidas que puedan enlentecer la progresión de la enfermedad (1). El diagnóstico se basa en la presencia de alteraciones en la función o en la estructura del riñón durante más de 3 meses. La alteración de la función renal se define por un valor de filtrado glomerular inferior a 60 mL/min/1.73 m² (3).

El filtrado glomerular depende del número de nefronas con capacidad de filtración y se mide mediante el aclaramiento renal o plasmático de un marcador. Corresponde al volumen de plasma del que dicho marcador es eliminado totalmente por el riñón por unidad de tiempo. Los marcadores pueden ser exógenos como la inulina o radioisótopos o endógenos como la creatinina y la cistatina C (4).

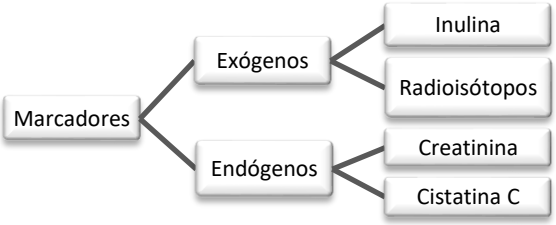


Figura 1. Marcadores usados para la determinación de aclaramiento renal

MARCADORES ENDÓGENOS: creatinina y aclaramiento de creatinina

La creatinina es el parámetro más utilizado en la práctica clínica con el fin de evaluar la función renal. Es un producto metabólico de la creatina y su producción es proporcional a la masa muscular del individuo. Debido a su pequeño tamaño y a su falta de unión a proteínas plasmáticas, se filtra libremente por el glomérulo. Sin embargo, es también secretada activamente por el túbulo proximal por lo que cuando disminuye el filtrado glomerular, la secreción tubular aumenta, produciéndose una sobreestimación del filtrado de entre un 10-40% siendo mayor en pacientes con glomerulopatías. Además, la creatinina está influenciada por la talla, la edad, el sexo, la raza y el estado nutricional del paciente, condicionando que su concentración sérica presente una elevada variabilidad biológica interindividual (4,5).

La relación entre la creatinina y el filtrado glomerular no es lineal, por lo que son necesarios descensos importantes del mismo para que la concentración de creatinina se sitúe por encima de los valores de referencia. Debido a ello, a veces es difícil la interpretación en niños, en parte debido a la elevación fisiológica de creatinina por el aumento de la masa muscular debida al crecimiento (6).

El aclaramiento de creatinina se obtiene a partir de la concentración en suero y de su secreción en orina de 24 horas. Esta medida, requiere de una precisa recogida de orina en un tiempo conocido, hecho que es difícil de conseguir en niños. La posible inexactitud del periodo de diuresis y la posible secreción tubular de creatinina hacen que el aclaramiento de creatinina sea poco práctico en la rutina diaria (7).

Con el fin de obviar el problema de la recogida de orina se han desarrollado fórmulas que tratan de obtener una estimación del filtrado glomerular a partir de la concentración sérica de creatinina y de variables como la edad, el sexo, la talla y la raza.

Basadas en la concentración sérica de creatinina	
Schwartz, 1976 (mL/min/1,73 m^2)	$k^a \times$ (talla/Cr)
Counahan-Barratt, 1976 (mL/min/1,73 m^2)	0,43 × (talla/Cr)
Léger, 2002 (mL/min)	0,641 × (peso/Cr) + 16,063 × (talla^2)/Cr)
BCCH1, 2006 (mL/min/1,73 m^2)	1,18 + (0,0016 × peso) + (0,01 × talla) + ([149,5/Cr × 88,4]) – (2141/[Cr × 88,4]^2)
Schwartz-IDMS, 2009 (mL/min/1,73m^2)	0,413 × (talla/Cr)
Schwartz-Lyon, 2011 (mL/min/1,73 m^2)	0,373 × (talla/Cr)
Gao, 2013 (mL/min/1,73 m^2)	0,418 × (talla/Cr) para varones mayores de 13 años 0,68 × (talla/Cr) – 0,0008 × (talla/Cr)^2 + (0,48 × edad) – (21,53 para niños o 25,68 para niñas)

Tabla 1. Fórmulas propuestas para el cálculo del FG a partir de la concentración plasmática de creatinina (3)

Existen numerosos factores que afectan al cálculo del filtrado glomerular cuando se obtiene a partir de la creatinina o el aclaramiento, la mayoría de ellos relacionados con la dependencia de este marcador con las variables mencionadas anteriormente.

Sobrestiman el FG	Subestiman el FG
Secreción tubular de creatinina aumentada (hasta un 30% en la insuficiencia renal crónica)	Reabsorción de creatinina con flujo urinario bajo
Recogida urinaria superior a la considerada en el cálculo (frecuentemente se incluye la primera orina del día)	Recogida urinaria incompleta
Actividad física disminuida	Actividad física aumentada
Dietas vegetarianas	Dietas hiperproteicas
Masa muscular disminuida: malnutrición	Masa muscular aumentada
Eliminación de creatinina extrarrenal (en la uremia está aumentada la secreción gastrointestinal)	
Presencia de seudorreactantes que interfieren con la lectura de la creatinina: bilirrubina, algunos fármacos	Fármacos que inhiben la secreción tubular

Tabla 2. Factores que afectan al FG (4)

MARCADORES ENDÓGENOS: Cistatina C

La cistatina C es una proteína no glucosilada de bajo peso molecular (13kDa) sintetizada de forma constante por la mayoría de células nucleadas. Es una proteína inhibidora de la cisteinproteasa y presenta una amplia distribución tisular. Tiene un punto isoeléctrico de 9,3 por lo que es una proteína catiónica a pH fisiológico. Debido a su pequeño tamaño y carga positiva, se filtra libremente por el glomérulo y se reabsorbe en el túbulo proximal donde se cataboliza completamente por las células tubulares por lo que no retorna al torrente sanguíneo (5). La concentración de cistatina C en orina en condiciones normales es muy baja, de entre 0,03 y 0,3 mg/mL por lo que también puede utilizarse como indicador de daño tubular ya que en ese caso encontraríamos concentraciones detectables en orina (8).

La concentración sérica de cistatina C se encuentra aumentada en caso de fallo renal y a diferencia de la creatinina no depende del sexo, talla o dieta (9).

Edad	Rango de referencia (mg/l)
Prematuros	1,34-2,57
Neonatos	1,36-2,23
Menores de 1 año	0,75-1,87
1-3 años	0,68-1,60
4-19 años	0,58-0,92

Tabla 3. Rangos de referencia de cistatina C en niños (4)

Al igual que con la creatinina, se han propuesto fórmulas que de forma exponencial o logarítmica relacionan la concentración plasmática de cistatina C con el filtrado glomerular.

Basadas en la concentración sérica de cistatina C	
Filler, 2003 (mL/min/1,73 m^2)	$91{,}62 \times CisC^{-1{,}123}$
Grubb, 2005 (mL/min/1,73 m^2)	$84{,}69 \times CisC^{-1{,}680} \times 1{,}384$ (si edad < 14)
Zappitelli, 2006 (mL/min/1,73 m^2)	$75{,}94/CisC^{1{,}17} \times 1{,}2$ (si TR)
Schwartz, 2012 (mL/min/1,73 m^2)	$70{,}69 \times CisC^{-0{,}931}$

Tabla 4. Fórmulas propuestas para el cálculo del FG a partir de la concentración plasmática de cistatina C (1)

En la gráfica se presenta la correlación entra la concentración de cistatina C y el filtrado glomerular calculado a través de las fórmulas propuestas por diversos autores. Se observa cómo debido a la relación logarítmica, bajas concentraciones de cistatina C condicionan grandes cambios en el filtrado glomerular y una concentración de cistatina C superior a 4 casi no produce variación en el filtrado. Esto quiere decir que en la insuficiencia renal terminal la concentración de cistatina C no sigue aumentando y se desconoce dónde realiza su catabolismo cuando se ha perdido por completo la función renal.

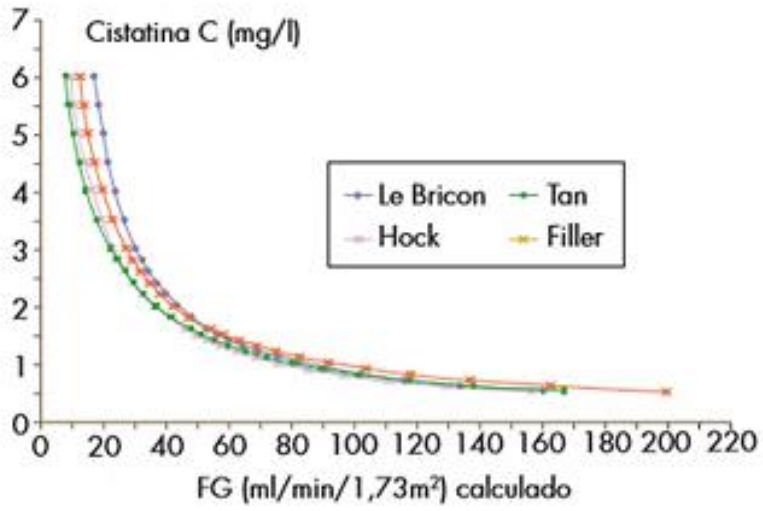


Figura 2. Correlación entre la concentración plasmática de cistatina C y el FG (6)

UTILIZACIÓN DE LA CISTATINA C EN DIVERSAS SITUACIONES CLÍNICAS

1. <u>Marcador de función renal fetal y neonatal</u>

   La cistatina C sérica es un excelente marcador tanto de la función renal fetal como de la posnatal inmediata, ya que, al contrario que la creatinina, no es excretada por la placenta materna.

   En el periodo posnatal, la inmadurez renal produce una disminución fisiológica del filtrado glomerular siendo en el recién nacido de 40 semanas un filtrado de 12 mL/min/1.73 m² y de 5

mL/min/1.73 m² en el prematuro de 28 semanas. Posteriormente comienza un rápido y progresivo incremento del filtrado glomerular coincidiendo con la madurez nefronal. Finalmente, se alcanzan valores similares a los de un adulto (100-200 mL/min/1.73 m²) entre los 15-24 primeros meses de vida. Durante este periodo la creatinina apenas sufre modificaciones, permaneciendo estable con valores entre 0,2 y 0,4 mg/dL. Esto es debido a que aunque el filtrado glomerular aumenta progresivamente, también lo hace la producción endógena de creatinina (10).

La cistatina C refleja el filtrado glomerular real desde el primer día de vida en caso de displasia, hipoplasia renal o uropatía obstructiva (11).

2. Insuficiencia renal aguda

   La cistatina C permite una detección precoz, ya que sus niveles plasmáticos se elevan entre 36 y 48 horas antes de que lo haga la creatinina. Esto es debido a que los valores de creatinina no se elevan hasta que el filtrado glomerular ha disminuido notablemente (4)

3. Insuficiencia renal crónica

   La monitorización de los valores de cistatina C en niños con insuficiencia renal crónica, permite un seguimiento más exacto de la progresión del fallo renal al ser independiente del estado nutricional y de las posibles infecciones o estados inflamatorios asociados del paciente.[12] Dado el carácter progresivo y su repercusión sobre el crecimiento y la nutrición, el diagnóstico precoz de la insuficiencia renal crónica en pediatría es fundamental para poder instaurar tratamientos eficaces. La determinación aislada de la creatinina puede ser insuficiente para detectar la fase aguda de la insuficiencia renal crónica, es decir, para un filtrado glomerular de entre 60 y 90 mL/min/1.73 m². La independencia del tipo de enfermedad primaria y del estado inflamatorio o nutritivo, confiere a la cistatina C una gran utilidad en el diagnóstico precoz y seguimiento de estos pacientes (1).

4. Trasplante renal

   La cistatina C ha demostrado ser útil en el diagnóstico precoz del rechazo agudo, en la toxicidad farmacológica y en la nefropatía del injerto. En esta última situación, la elevación de la creatinina es un proceso tardío al daño renal que es muchas veces irreversible. Sin embargo, los datos de la utilidad de la cistatina C en las fases iniciales del trasplante renal o cuando se utilizan dosis altas de esteroides son controvertidas. La utilización combinada de anticuerpos anti-HLA, albuminuria y cistatina C puede ayudar al diagnóstico precoz o a indicar una biopsia renal (12).

INCONVENIENTES (13)

- La determinación de la cistatina C supone un mayor coste económico frente a la creatinina.
- Existen interferencias en la determinación de la concentración de creatinina con hormonas tiroideas. De esta forma, la cistatina C se sobreestima en el hipertiroidismo y se subestima en el hipotiroidismo por lo que hay que tenerlo en cuenta en pacientes con estas patologías.
- También podemos encontrar una concentración alterada de cistatina C en situaciones de cetoacidosis diabética.
- Alteración de su concentración con el uso de corticoesteroides y ciclosporina A.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Montañés Bermúdez R, Gràcia García, S, Fraga Rodríguez GM. Escribano Subias J, Diez de los Ríos Carrasco MJ. Alonso Melgar A, et al. Documento de consenso: recomendaciones sobre la utilización de ecuaciones para la estimación del filtrado glomerular en niños. An Pediatr. 2014;80(5):326.e1-326.e13.
2. Baum M. Overview of chronic kidney disease in children. Curr Opin Pediatr. 2010;22(2):158-60.
3. Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. Kidney Int Suppl. 2012 Suppl. 2012;2(1):1-138.
4. Fraga Rodríguez GM, Alonso Melgar A. La determinación de los valores plasmáticos de cistatina C como método de valoración de la función renal en pediatría. An Pediatr Contin. 2012;10(2):95-100.

5. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: A meta-analysis. Am J Kidney Dis. 2002;40(2):221–6.
6. Alonso A, Melgosa M. La cistatina C para la valoración de la función renal en pediatría. An Pediatr Contin. 2005; 3(4):239-43.
7. Bokemkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C - a new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. Pediatrics. 1998;101(5):729-36.
8. Grubb AO. Cystatin C properties and use as diagnostic marker. Adv Clin Chem. 2000;35:63-98.
9. Monsalud Arrebola M, Diez de los Ríos Carrasco MJ. Nuevos biomarcadores de insuficiencia renal aguda. SEQC Ed Cont Lab Clin. 2012;16:41-51.
10. Muller F, Brenard MA, Benkirane A, Ngo S, Lortat-Jacob S, Oury JF, et al. Fetalurine cystatin C as predictor of postnatal renal function bilateral uropathies. Clin Chem. 1999;45(12):2292-3.
11. Muller F, Dreux S, Audibert F, Chabaud JJ, Rousseau T, D'Hervé D, et al. Fetal serum β2-microglobulin and cystatin C in the prediction of post-natal renal function in bilateral hipoplasia and hyperechogenic enlarged kidneys. Prenat Diagn. 2004;24(5):327-32.
12. Gökkusu CA, Özden TA, Gül H, Yildiz A. Relationship between plasma cystatin C and creatinina in chronic renal diseases and Tx-transplant patients. Clin Biochem. 2004;37(2):94-7.
13. Roos JF, Doust J, Tett SE, Kirkpatrick CM. Diagnostic accuracy ofcystatin C compared to serum creatinine for the estimation of renal dysfunction in adults and children - A meta-analysis. Clin Biochem. 2007;40(5-6):383-91.

ANÁLISIS DE LCR DESDE EL LABORATORIO DE URGENCIAS. CASOS PRÁCTICOS

Autores: Enrique Albuerne Suárez, Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras Clave: líquido cefalorraquídeo, meningitis, derivación ventrículo-peritoneal, hemorragia subaracnoidea.

1. Localización y función:

El líquido cefalorraquídeo (LCR) está contenido alrededor del cerebro y la médula espinal, concretamente en el espacio subaracnoideo entre la membrana aracnoides y la piamadre, en los ventrículos del cerebro y en las cisternas que lo rodean. El LCR se forma en los plexos coroideos a partir del plasma por mecanismos de ultrafiltración selectiva bajo la presión hidrostática y la secreción por transporte activo, por lo que su composición es diferente al plasma.

El LCR cumple funciones biológicas muy importantes, dentro de las cuales destacan el aporte de nutrientes al tejido nervioso y la eliminación de desechos metabólicos del sistema nervioso central (SNC) además de conferir protección mecánica a este.

En el adulto, el volumen medio de LCR es de 150 mL y se renueva en un periodo de 5 a 7 horas. En el recién nacido, el volumen oscila entre 10 y 60 ml, pudiéndose duplicar en niños.

2. Composición:

Como se ha indicado antes, el LCR se forma a partir del plasma, pero su composición es diferente. Respecto a este, tiene una parecida osmolalidad, menor cantidad de bicarbonato, urea y glucosa y mucho menor contenido de proteínas. Aproximadamente el 80% de las proteínas del LCR proceden del suero y el 20% se producen intratecalmente. Las proteínas son transportadas desde el suero al LCR por pinocitosis o por transportadores específicos y su concentración depende del radio molecular, la carga, la concentración plasmática de la proteína y el estado funcional de la barrera hematoencefálica. Dentro del 20% que se produce intratecalmente, las proteínas específicas del LCR como la proteína básica de la mielina, la proteína acida fibrilar glial o la beta-2-transferrina constituyen solo el 1-2% de las proteínas totales en el LCR normal.

3. Análisis de LCR en el laboratorio de urgencias:

El análisis de LCR se realiza principalmente ante la sospecha de hemorragias (subaracnoidea o intracraneal), infecciones (meningitis y encefalitis), trastornos autoinmunitarios (como el síndrome de Guillain-Barré y la esclerosis múltiple) y tumores cerebrales y otras neoplasias, siendo el análisis del laboratorio de urgencias clave en los dos primeros casos.

El LCR puede provenir de fístulas y drenajes aunque es obtenido principalmente a través de punción lumbar. Esta punción se realiza entre la tercera y cuarta, o entre la cuarta y la quinta, vértebra lumbar con el paciente recostado en posición decúbito lateral. En condiciones normales es seguro obtener hasta 20 mL de LCR en un adulto. El líquido debe analizarse lo más pronto posible y su manipulación debe llevarse a cabo bajo condiciones de seguridad y esterilidad, debido a su alto potencial infeccioso.

El laboratorio de urgencias llevará a cabo las siguientes determinaciones sobre el LCR:

- Examen macroscópico: Se comprobará la xantocromía del líquido.
- Contaje celular: El conteo de hematíes y leucocitos se realizará en cámara de Neubauer. Se realizará la fórmula diferencial entre leucocitos mono y polimorfonucleares si procede.
- Bioquímica: Glucosa, Proteínas totales y Lactato.

3.1. Examen macroscópico:

El aspecto normal del LCR es incoloro y cristalino, denominado coloquialmente “agua de roca”. Una coloración rojiza suele indicar presencia de sangre que puede ser debida a una hemorragia subaracnoidea o intracraneal, infarto cerebral o a una punción lumbar traumática.

Es importante saber distinguir entre una hemorragia y una punción traumática. Si el aspecto hemorrágico aparece de forma uniforme en todos los tubos de muestra de LCR, nos indica hemorragia, mientras que en la punción traumática la mayor concentración de sangre se observa en el primer tubo y disminuye gradualmente en los siguientes tubos. Además, en la punción traumática se observa un sobrenadante incoloro y transparente tras la centrifugación. El número de leucocitos encontrados en la muestra provenientes de la sangre se puede calcular, siendo aproximadamente un leucocito por cada 700 hematíes hallados en LCR. Por último, la aparición de coágulos es sugestiva de punción traumática ya que una hemorragia intracraneal no produce suficiente fibrinógeno para coagular.

La xantocromía es la coloración rosada, anaranjada o amarillenta del sobrenadante del LCR tras su centrifugación. Aparece después de una hemorragia subaracnoidea. De 2 a 4 horas después de la hemorragia, el LCR presentará un color rosado/rojizo debido a la presencia de oxihemoglobina proveniente de la hemólisis. Doce horas después de la hemorragia aparecerá un color amarillento debido a la degradación del grupo hemo de la oxihemoglobina a bilirrubina. Pueden aparecer falsas xantocromías debido a una concentración de proteínas totales en el LCR mayor de 1,5 g/L, bilirrubina procedente del plasma cuando esta supera los 5 mg/dL, carotenoides por hipercarotenemia, melanina por un melanosarcoma o por la demora en la centrifugación de un líquido hemático por punción traumática

3.2. Contaje celular:

En cuanto a los hematíes, la normalidad es su ausencia, siendo común encontrarnos recuentos bajos debido a la rotura de algún vaso durante la punción.

Respecto a los leucocitos, en adultos sanos se considera normal la presencia de hasta 5 leucocitos/µL, entre 5 y 10 leucocitos/µL se considera límite de la normalidad y superior a 10 leucocitos/µL es elevado. Más de dos tercios son linfocitos morfológicamente similares a los de la sangre periférica, mayoritariamente tipo T (alrededor del 97%). En neonatos es normal la presencia de hasta 30 leucocitos/µL, predominantemente monocitos. Se produce un recuento elevado de células nucleadas en numerosas situaciones. Su valor asume una significación especial en el diagnóstico de meningitis, predominando los neutrófilos en las de origen bacteriano y los linfocitos en las de origen viral.

No podemos olvidar que se puede observar la presencia de células neoplásicas en LCR en diversas situaciones como metástasis, neoplasias hematopoyéticas o procedentes de un tumor cerebral primario.

3.3. Bioquímica:

3.3.1. Glucosa: La concentración de glucosa en el LCR deriva de la glucosa plasmática mediante transporte facilitado y difusión simple. Se considera normal un coeficiente Glu_{LCR}/Glu_{Suero} situado aproximadamente entre 0.5 y 0.8. Una concentración de glucosa en LCR menor de 18 mg/dL se considera altamente predictiva de meningitis bacteriana independientemente del coeficiente. El coeficiente tiene otras limitaciones: en recién nacidos y en pacientes con graves hiperglucemias ya que la concentración de glucosa en LCR raramente supera los 300 mg/dL.

3.3.2. Proteínas: el rango normal de concentración de proteínas en LCR es 0.15-0.45 g/L. La albúmina representa del 50% al 60% del total de proteínas y representa un 0,4% del nivel plasmático. La elevación de la concentración de proteínas en LCR tiene su origen en diversas causas como: A) un aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en enfermedades inflamatorias, B) un flujo reducido de LCR, debido por ejemplo a un tumor, que implica más tiempo para lograr el equilibrio de proteínas entre el LCR y el plasma, C) Síntesis intratecal, como por ejemplo la síntesis de inmunoglobulinas en esclerosis múltiple o D) destrucción del tejido cerebral.

3.3.3. Lactato: La concentración de lactato en LCR es independiente de la concentración de lactato sérico. Los niveles normales en LCR varían de 1.1 hasta 2.4 mmol/L. Su aumento se produce por glucólisis del sistema nervioso central secundaria a hipoxia, isquemia, convulsiones, hemorragia subaracnoidea o meningitis. Su determinación ayuda a discriminar entre meningitis viral y bacteriana, siendo una

concentración superior a 4.2 mmol/L predictiva de meningitis bacteriana y una inferior a 4.2 mmol/L predictiva de meningitis viral.[1]

4. Caso clínico A:

Varón de 25 años, portador de derivación ventrículo-peritoneal (DVP) por hidrocefalia a los 9 meses que acude a urgencias por cuadro de cefalea frontal iniciado esa mañana. Esta cefalea se acompaña de náuseas y vómitos, que no cede con analgesia habitual y que le recuerda a episodios previos de mala función valvular. Se realiza un TAC craneal en el que se objetiva un aumento del sistema ventricular compatible con un defecto de drenado de la DVP. Ingresa para estudio y cirugía.

Los resultados obtenidos en el análisis del LCR:

Contaje celular	
Hematíes (céls/µL)	28800
Leucocitos (céls/µL)	60 (0-10)
% polimorfonucleados	80
% monomorfonucleados	20
Xantocromía	No xantocrómico
Bioquímica	
Glucosa (mg/dL)	85 (50-80)
Proteínas totales (g/L)	0.26 (0.15-0.45)

Tabla 1. Resultados del análisis de LCR del paciente A

Los cultivos de LCR fueron negativos.

Se procede a cirugía de urgencia. Se recambia catéter proximal y válvula. Tras la cirugía el paciente se recupera de la clínica que motivó el ingreso y se realiza un TAC que muestra la resolución de la hidrocefalia. La herida presenta buen aspecto sin datos de infección ni fístula de LCR. Debido a la buena evolución se decide alta domiciliaria.

En este paciente nos encontramos con un líquido con un elevado recuento celular que no se debe a una infección o hemorragia. Existen varios factores que nos indican que las células proceden de una contaminación por sangre durante la recolección de muestra. El más importante es que el sobrenadante del líquido fue incoloro y transparente (líquido no xantocrómico) lo que nos indica que la presencia de los hematíes en el LCR es reciente. Además, los resultados de la bioquímica fueron normales y el porcentaje de leucocitos polimorfonucleados es muy semejante al encontrado en sangre (74%).

5. Caso clínico B:

Recién nacido con madre de 20 años, sana y primigesta con embarazo controlado, curso del embarazo normal y parto eutócico que no presenta signos de infección. Desarrolla problemas con la lactancia, concretamente con el enganche, en las primeras 24 horas de vida. A las 36 horas presenta irritabilidad, pérdida de peso del 8,7 %, respecto a peso del nacimiento, y 38,4ºC de temperatura. Se realiza punción lumbar para descartar infección.

Los resultados obtenidos en el análisis del LCR:

Contaje celular

Hematíes (céls/µL)	19
Leucocitos (céls/µL)	0 (0-30)
% polimorfonucleados	-
% monomorfonucleados	-
Xantocromía	No xantocrómico
Bioquímica	
Glucosa (mg/dL)	51 (34-119)
Proteínas totales (g/L)	0.66 (0.3-1.4)

Tabla 2. Resultados del análisis de LCR del paciente B

Los cultivos bacterianos y PCR para virus resultaron negativos. Su evolución fue favorable con suplementos de leche materna y fórmula de inicio. Recibió antibióticos (ampicilina y gentamicina) durante 2 días hasta descartar proceso infeccioso y recibe el alta a los 3,5 días.

La interpretación del LCR de recién nacidos conlleva un reto mucho más complicado que la de adultos debido a los rangos de referencia más amplios, pudiendo encontrarnos valores para glucosa, proteínas totales y leucocitos normales que resultarían patológicos en el adulto.

En este caso, la ausencia de xantocromía y leucocitos, los resultados de glucosa y proteínas totales en LCR dentro de los rangos de referencia y un pequeño número de hematíes que puede deberse a la rotura de pequeños vasos sanguíneos durante la punción, son altamente sugestivos de ausencia de infección.

6. Caso clínico C:

Varón de 51 años que es traído a urgencias de madrugada por fiebre, vómitos y alteración del comportamiento. Entre sus antecedentes médicos destacan: infección crónica por VIH, hepatopatía crónica por VHC, lesión medular con paraparesia secundaria de miembros inferiores por herida de arma de fuego y esplenectomía, con historia de vacunaciones imperfecta.

Se le realiza un TAC craneal sin hallazgos significativos y una punción lumbar. Los resultados obtenidos en el análisis del LCR:

Contaje celular	
Hematies (céls/µL)	190
Leucocitos (céls/µL)	368 (0-10)
% polimorfonucleados	85
% monomorfonucleados	15
Xantocromía	Xantocrómico
Bioquímica	
Glucosa (mg/dL)	1 (50-80)
Proteínas totales (g/L)	7.45 (0.15-0.45)
Lactato (mmol/L)	16.5 (1.1-2.4)

Tabla 3. Resultados del análisis de LCR del paciente C

Los cultivos de LCR y hemocultivos resultaron positivos para *Streptococcus pneumoniae* sensible a penicilina.

El paciente fue sometido a un tratamiento antibiótico empírico con cefotaxima a dosis elevadas hasta conocer sensibilidad a penicilina, y simplificación a ceftriaxona 4 g/d hasta completar 12 días de tratamiento antibiótico. Además, dexametasona a dosis elevadas durante las primeras 48 horas. Con ello sufre una rápida mejoría del estado general y del nivel de conciencia, con desaparición progresiva de la fiebre y reducción de la cifra de leucocitos y de proteína C reactiva y es dado de alta.

En este caso nos encontramos un recuento alto de leucocitos que no pueden ser explicados por punción traumática ya que tenemos un recuento de hematíes menor, con claro predominio polimorfonuclear, glucosa inferior a 18 mg/dL, proteínas altas y un lactato superior a 4.2 mmol/L, siendo todo ello altamente predictivo de meningitis bacteriana. El análisis del LCR en el laboratorio de urgencias permite orientar el tratamiento antibiótico empírico hasta conocer el resultado de los cultivos.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

1. Guillén Campuzano E, Buño Soto A, Días García R, Galán Ortega A, Guevara Ramírez P, Malumbres S, Marín Soria J.L, Muñóz Pérez M, Navarro Segarra X, Oliver Sáez P, Oujo E, del Río Barcenilla N. Recomendaciones para el estudio de líquido cefalorraquideo. Sociedad Española de Medicina de Laboratorio; 2010. Documentos de la SEQC 2010.
2. Gómez Lagos R, Pellegrini Pinto P, Retamales Castelletto E, Valenzuela Barros C. Recomendaciones para el análisis de líquidos biológicos. Santiago de Chile: Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia, Instituto de Salud Pública de Chile; 2016.
3. Montero Reguera R. Interpretación del líquido cefalorraquídeo. An Pediatr Contin. 2014;12(1):30-3.
4. Valcárcel Piedra G, Guillén Campuzano E, Altimira Queral L, Galán Ortega A, Hernando Holgado A, Navarro Segarra X, et al. Identificacion de liquidos biologicos de origen desconocido. Rev Lab Clin. 2018;11(4):209-16. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.labcli.2017.11.008
5. Noguera Velasco JA, Cebreiros López I. Líquido cefalorraquídeo. En: Líquidos biológicos. MOOC_LabClin_#06. Ed 1. 2019.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Noguera Velasco JA, Cebreiros López I. Líquido cefalorraquídeo. En: Líquidos biológicos. MOOC_LabClin_#06. Ed 1. 2019.

CRIBADO TOXICOLÓGICO DE DROGAS DE ABUSO

Autores: Fernando Calvo Boyero, Ana Elena López Jiménez

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: toxicología, drogas de abuso.

Introducción

La determinación de drogas de abuso consiste en detectar una o más sustancias ilegales y/o legales en orina o, con menor frecuencia, en sangre, saliva, cabello o sudor.

Las pruebas de determinación de drogas de abuso suelen empezar con una prueba inicial de cribado seguida de una segunda prueba confirmatoria que identifica y/o confirma la presencia de una o más sustancias.

Criterios de elección de tóxicos

Los principales criterios son el impacto clínico, la epidemiología y alertas sanitarias en la población objetivo y la disponibilidad tecnológica.

Hay dos aplicaciones clínicas principales: el análisis cualitativo, en caso de intoxicaciones agudas o presencia de síndromes de abstinencia en recién nacidos y el análisis cualitativo en caso de tóxicos como el etanol, las benzodiazepinas y la metadona.

Existe una propuesta de la Federación Española de Toxicología Clínica (FETOC) sobre la disponibilidad mínima de analítica toxicológica en función del nivel asistencial (1).

Cribado básico y ampliado

La mayoría de los laboratorios efectúan un cribado básico por inmunoensayo en orina. En algunos centros se realiza un cribado ampliado mediante métodos cromatográficos ante la presencia de resultados positivos o una fuerte sospecha clínica de intoxicación.

Interpretación de resultados

Para valorar correctamente los resultados del test de drogas debemos tener en cuenta los siguientes conceptos:

1. Valor de corte

El resultado es positivo o negativo en función del valor de corte de cada prueba, que lo indica el fabricante en función de recomendaciones de guías internacionales.

La detección positiva de drogas en orina sólo es indicativa de que se detecta la droga y/o sus metabolitos por encima de una concentración conocida.

Un resultado negativo sólo es indicativo de que no se detecta la droga y/o sus metabolitos por encima de una concentración conocida.

El valor de corte máximo recomendado es establecido por diferentes sociedades científicas, como la *European Workplace Drug Testing Society* (2) o la *Substance Abuse and Mental Health Services Administration* (3).

2. Tiempo de detección

El tiempo durante el cual una sustancia puede ser detectada depende de muchos factores, entre ellos:

- Matriz de detección (orina, sangre, saliva, etc.).

- Forma de consumo.
- Dosis.
- Tipo de consumo (ocasional o habitual) y el tiempo transcurrido desde la toma.
- Farmacocinética de la sustancia (liposolubilidad).
- Hidratación, pH de la orina.
- Variabilidad interpersonal (masa corporal, genética, metabolismo, etc.).
- Interacciones farmacológicas.

La matriz de detección preferida para el análisis es la orina, debido a su fácil acceso, su rápida acumulación y la alta concentración alcanzada del tóxico. Otras matrices utilizadas son la sangre, la saliva o el sudor.

Matrices alternativas son el meconio en los recién nacidos, donde la ventana de detección incluye los dos últimos trimestres del embarazo, y el pelo, que permite una detección de consumo crónico donde aproximadamente cada centímetro corresponde aproximadamente a un periodo de tiempo de un mes.

Otros aspectos a tener en cuenta en la vida media del tóxico en el cuerpo humano es la vía de administración y la dosis. Evidentemente a mayor dosis acumulada (ya sea en dosis única o consumo crónico) encontraremos el tóxico más tiempo en el organismo. Se ha descrito que el cannabis puede detectarse en orina durante más de 30 días desde el último consumo en consumidores habituales a altas dosis, ya que es un compuesto muy lipófilo. Se puede observar el tiempo de detección de algunas sustancias en la figura 1.

Ante estos datos, hay que tener en cuenta que un resultado positivo:

- No diferencia entre consumo reciente o antiguo.
- No confirma sobredosis ni abstinencia, solamente posible consumo.
- No permite una correlación clínica. Un resultado positivo no informa sobre la cantidad consumida, tiempo de la ingesta ni grado de intoxicación.

Drug	Time
Alcohol	7-12 h
Amphetamine	48 h
Methamphetamine	48 h
Barbiturate	
Short-acting (eg, pentobarbital)	24 h
Long-acting (eg, phenobarbital)	3 wk
Benzodiazepine	
Short-acting (eg, lorazepam)	3 d
Long-acting (eg, diazepam)	30 d
Cocaine metabolites	2-4 d
Marijuana	
Single use	3 d
Moderate use (4 times/wk)	5-7 d
Daily use	10-15 d
Long-term heavy smoker	>30 d
Opioids	
Codeine	48 h
Heroin (morphine)	48 h
Hydromorphone	2-4 d
Methadone	3 d
Morphine	48-72 h
Oxycodone	2-4 d
Propoxyphene	6-48 h
Phencyclidine	8 d

Data from references 7 through 12.

Figura 1. Tiempo de detección de drogas de abuso en orina (4)

3. Falsos positivos

Son muchas las sustancias que pueden producir reacciones cruzadas dando lugar a falsos positivos. La lista de falsos positivos es dinámica, aumenta a medida que se producen nuevos casos, se establece la sustancia responsable y se comunica a través de publicaciones científicas. La mayoría de las interferencias son debidas a compuestos con estructuras químicas similares, que son detectados por los anticuerpos presentes en el test. Algunas de estas interferencias se pueden observar en la figura 2.

Algunos test tienen un valor predictivo positivo (VPP) bajo. Un estudio (5) con 21638 pacientes mostró que, en el test de detección de anfetamina, que cuantifica *D-Anfetamina*, el VPP era del 9,3% al confirmar los valores positivos por espectrometría de masas. El valor tan elevado de falsos positivos de este test se explica por la medicación utilizada (alfa-bloqueantes, betabloqueantes, pseudoefedrina, etc.) y en algunos casos por tóxicos similares pero con una estructura diferente a la *D-Anfetamina*.

Substance tested via immunoassay	Potential agents causing false-positive result	Substance tested via immunoassay	Potential agents causing false-positive result
Alcohol[20]	Short-chain alcohols (eg, isopropyl alcohol)	Cannabinoids[1,8,43-48]	Dronabinol
Amphetamines[21-40]	Amantadine		Efavirenz
	Benzphetamine		Hemp-containing foods
	Bupropion		NSAIDs
	Chlorpromazine		Proton pump inhibitors
	Clobenzorex[b]		Tolmetin
	l-Deprenyl[c]	Cocaine[49-51]	Coca leaf tea
	Desipramine		Topical anesthetics containing cocaine
	Dextroamphetamine	Opioids, opiates, and heroin[8,16,52-63]	Dextromethorphan
	Ephedrine		Diphenhydramine[e]
	Fenproporex[b]		Heroin
	Isometheptene		Opiates (codeine, hydromorphone, hydrocodone, morphine)
	Isoxsuprine		Poppy seeds
	Labetalol		Quinine
	MDMA		Quinolones
	Methamphetamine		Rifampin
	l-Methamphetamine (Vick's inhaler)[d]		Verapamil and metabolites[e]
	Methylphenidate	Phencyclidine[8,52,64-70]	Dextromethorphan
	Phentermine		Diphenhydramine[e]
	Phenylephrine		Doxylamine
	Phenylpropanolamine		Ibuprofen
	Promethazine		Imipramine
	Pseudoephedrine		Ketamine
	Ranitidine		Meperidine
	Ritodrine		Mesoridazine
	Selegiline		Thioridazine
	Thioridazine		Tramadol
	Trazodone		Venlafaxine, O-desmethylvenlafaxine
	Trimethobenzamide	Tricyclic antidepressants [71-81]	Carbamazepine[f]
	Trimipramine		Cyclobenzaprine
Benzodiazepines[16,41,42]	Oxaprozin		Cyproheptadine[f]
	Sertraline		Diphenhydramine[f]
			Hydroxyzine[f]
			Quetiapine

Figura 2. Resumen de Agentes que causan falsos positivos en Inmunoensayos (4)

4. Falsos negativos

Existen pocos falsos negativos descritos en estas técnicas. Es conocido que la presencia de salicilatos en pacientes consumidores de cocaína ocasiona falsos negativos en el inmunoensayo. En el caso del MDMA o la Metanfetamina, pueden no detectarse en el ensayo de anfetamina, lo que ha dado lugar al desarrollo de ensayos específicos de esta sustancia.

5. Especificidad del test

Dentro de varias familias farmacológicas (benzodiazepinas, opiáceos, antidepresivos tricíclicos), los inmunoensayos son capaces de detectar varios compuestos a diferentes concentraciones. En algunos casos algunos compuestos pueden no detectarse ya sea por la diferencia estructural o por estar a una concentración inferior al punto de corte del test.

En el caso de los opioides, el Inmunoensayo *TOX/See* de BioRad no detecta los derivados sintéticos de la morfina, como el fentanilo, el tramadol, la meperidina o el tapentadol.

6. Manipulación de la muestra

En la interpretación de un cribado de drogas en orina, hay que tener en cuenta la posible manipulación de la muestra generada por el paciente para evitar su detección (6). Las técnicas más habituales son: la dilución de la orina, la sustitución y la adulteración.

La dilución debida a la elevada ingesta de agua induce una disminución en la concentración de las drogas y/o sus metabolitos en orina.

La sustitución del espécimen de orina pretende ocultar un consumo reciente de drogas. Existen diferentes sistemas para ello. En entornos legales se debe seguir la denominada “cadena de custodia”.

La adulteración se puede producir por la adición al espécimen de orina de algunas sustancias (detergentes, oxidantes) que enmascaran, degradan o hacen que el análisis de las drogas en orina pueda verse afectado, generalmente para conseguir un resultado falso negativo. Generalmente ocasionan cambios bruscos de pH.

Para detectarla, es necesaria la valoración del color, pH, densidad y concentración de creatinina:

- Creatinina en orina: Debe ser del orden de 150 mg/dl, y casi siempre mayores de 20 mg/dl, punto de corte para validar el espécimen de orina.
- Densidad específica: Rango de 1,002 a 1,020. Un punto de corte < 1,003 supone una dilución de 8 veces la orina normal. Esta dilución puede ser manipulada o fisiológica.
- pH: Rango 4,5-9. Valores muy bajos o altos son evidencias de espécimen adulterado.
- Osmolalidad: <50 mOsm/Kg puede indicar que la orina ha sido diluida.

Interpretación de resultados

El Laboratorio Clínico debe actuar como consultor en la interpretación de los resultados del cribado de drogas en orina. Una encuesta del año 2012 a 199 médicos de urgencia de diferentes hospitales en España, entre ellos del Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid (7), puso en evidencia que los clínicos no siempre tienen un conocimiento completo del resultado de estos ensayos.

En la pregunta “Ante un resultado positivo de una droga de abuso entiendo”, el 51% contestó correctamente “Que se detecta la droga y/o sus metabolitos por encima de una concentración conocida”. Un 40% contestó “Que se detecta la droga y/o sus metabolitos”. Esta pregunta resalta que gran parte de los médicos no tienen interiorizada la idea de que el inmunoensayo da un resultado cualitativo por encima o debajo de un punto de corte.

En la pregunta “Ante un resultado negativo de una droga en abuso de orina entiendo”, un 49% respondieron “Que no se detecta la droga y/o sus metabolitos por encima de una concentración conocida”. Mientras tanto, un 17% contestó “Se puede descartar que el paciente está bajo los efectos farmacológicos de esta droga”, lo que es rotundamente falso y pone en evidencia el desconocimiento de las limitaciones de estos test.

Conclusiones

- El análisis toxicológico de urgencia tiene sus limitaciones. Es necesario conocerlas para poder asesorar a los peticionarios
- El inmunoensayo es un análisis cualitativo. Por lo tanto, es importante comprender el concepto de sensibilidad (punto de corte de cada compuesto).
- La especificidad de los inmunoensayos es variable. Es especialmente importante en familias farmacológicas amplias.
- Los inmunoensayos no informan ni de la dosis, ni del tiempo transcurrido desde el consumo, aunque están descritas orientaciones del tiempo que permanece detectable una sustancia en la orina. Sólo confirman posible consumo.
- Existe un gran número de falsos positivos y negativos que deben tenerse en cuenta.
- Los resultados de los ensayos de drogas deben interpretarse en función del contexto clínico y de la farmacoterapia del paciente.

– Es recomendable realizar un análisis confirmatorio para confirmar los resultados positivos y para descartar falsos negativos cuando el contexto clínico lo apoye.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Nogué S, Puiguriguer J, Amigó M. Indicadores de calidad para la asistencia urgente de pacientes con intoxicaciones agudas (Calitox-2006). Rev Calidad Asistencial. 2008;23(4):173-91.
2. European Workplace Drug Testing Society. European Guidelines for Workplace Drug Testing in Urine. EWDTS; 2015. Disponible en: http://www.ewdts.org/data/uploads/documents/ewdts-urine-guideline-2015-11-01-v2.0.pdf.
3. Substance Abuse and Mental Health Services Administration. Key Substance Use and Mental Health Indicators in the United States: Results from the 2017 National Survey on Drug Use and Health. Rockville, MD: SAMHSA; 2018.
4. Moeller KE, Lee KC, Kissack JC. Urine drug screening: Practical guide for clinicians. Mayo Clin Proc 2008;83(1):66-76.
5. Bertholf RL, Sharma R, Reisfield GM. Predictive value of positive drug screening results in an urban outpatient population. J Anal Toxicol. 2016;40(9):726–31.
6. Chueca Rodríguez MP, Izquierdo Quirce JF, Ventura Pedret S, directores. Interferencias en la medición de drogas de abuso en orina. Sociedad Española de Medicina de Laboratorio; 2010.
7. Castanyer Puig B, Barceló Martín B, Queraltó Compañó JM, Díaz García R, Farré Masip C, Llorente Fernández E, et al. Motivación y conocimiento de la solicitud y significado de los resultados del cribado de drogas de abuso en orina. Rev Lab Clin. 2012;5(4):165-9.

TEST DEL HIDRÓGENO ESPIRADO

Autores: Olga Nerea Coya Linares, Aitor Delmiro Magdalena

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras claves: sobrecrecimiento bacteriano, lactosa, fructosa, test de hidrógeno espirado, malabsorción.

1. INTRODUCCIÓN

La principal función del intestino consiste en la correcta incorporación de nutrientes al organismo mediante los procesos de digestión y absorción. Cuando alguno de los mecanismos implicados fracasa se producen fenómenos de maldigestión o malabsorción.

La maldigestión y malabsorción son síndromes diferentes, aunque habitualmente nos referimos a ellos indistintamente. La maldigestión implica alteración en la digestión intraluminal de los alimentos, mientras que la malabsorción se asocia a defectos en la mucosa intestinal. El término malasimilación englobaría los dos síndromes anteriores.

La digestión y absorción de nutrientes se divide en tres etapas:

1. Fase luminal.
2. Fase mucosa.
3. Fase de transporte.

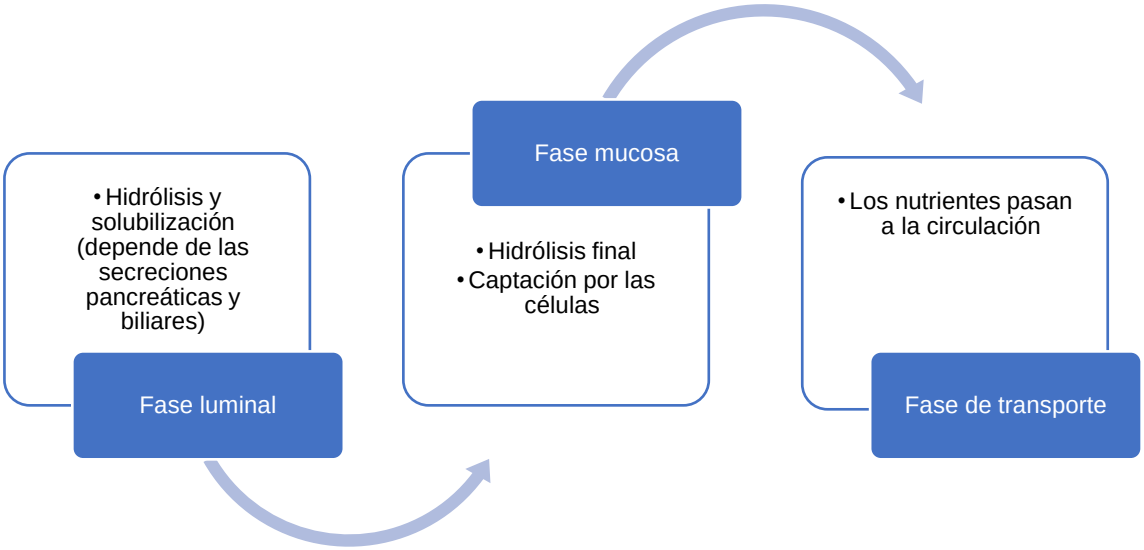


Figura 1. Fases de la absorción de nutrientes

En este tema nos centraremos en la digestión y absorción de hidratos de carbono que solo es posible a través de la transformación de estos en monosacáridos.

Las posibles causas de malasimilación son:

- Hidrólisis defectuosa por insuficiencia pancreática.
- Déficit concreto de una disacaridasa.
- Anomalías estructurales de la mucosa.

Es importante determinar la causa para poder tomar las medidas adecuadas.

2. INTOLERANCIA

La malabsorción es una condición necesaria, pero no suficiente para que exista intolerancia. La existencia de malabsorción sin síntomas descarta la intolerancia, la presencia de únicamente síntomas, sin embargo, no es suficiente para confirmar la intolerancia.

Los síntomas aparecen como consecuencia del aumento del tránsito intestinal debido a la carga osmótica por el carbohidrato sin digerir. Su desarrollo depende de varios factores como la cantidad de carbohidrato, la combinación con otros alimentos, la motilidad gastrointestinal o la presencia de otras enfermedades intestinales. Los principales síntomas que se pueden encontrar son: dolor, distensión, meteorismo, borborigmos y diarrea.

Es importante no confundir la intolerancia con otras patologías como la celiaquía, la enfermedad inflamatoria intestinal, el síndrome del intestino irritable u otras similares.

A. INTOLERANCIA A LA LACTOSA

La lactosa es hidrolizada por las lactasas en el intestino, especialmente en el yeyuno medio en los bordes en cepillo de los enterocitos, haciéndola absorbible por la mucosa intestinal. Cuando las lactasas no funcionan adecuadamente, la lactosa sin hidrolizar llega al colon donde será fermentada por la flora comensal.

La hipolactasia puede ser congénita, primaria o secundaria:

- **Congénita o alactasia**: Pérdida completa y permanente de la enzima, provoca una diarrea acuosa severa con la primera ingesta de leche tras el nacimiento. Obliga a la eliminación completa de lácteos.
- **Primaria**: Es la causa más frecuente y tiene lugar en la mayor parte de la población, supone una disminución o desaparición de la actividad de lactasa genéticamente programada.
- **Secundaria**: Se produce por daños en la mucosa intestinal o por un aumento del tránsito yeyunal. Cualquier enfermedad del intestino puede provocarla.

B. INTOLERANCIA A LA FRUCTOSA

La fructosa es un monosacárido que se puede ingerir como monosacárido puro, como sacarosa o en forma de polímeros de fructosa (fructanos). Éstos últimos llegan al colon, ya que no existe hidrolasa en el intestino de los mamíferos, y tienen función prebiótica.

La absorción de la fructosa se produce por difusión facilitada, donde necesita una proteína transportadora, pero se realiza a favor de gradiente y de forma pasiva. La proteína responsable es GLUT; cuando la ingestión de fructosa es muy elevada se puede superar la capacidad de estos transportadores dando lugar a la malabsorción.

GLUT2 es otro transportador que interviene en la absorción de fructosa. Se trata de un transportador no específico compartido con la glucosa y galactosa. Es dependiente de las concentraciones de glucosa, por lo que en presencia de glucosa se absorberán altas cantidades de fructosa, pero sin glucosa la absorción de fructosa será considerablemente menor.

Existen dos tipos de malabsorción de fructosa:

- La **malabsorción primaria** se debe a un déficit de la enzima transportadora de la fructosa, se cree que está mediada genéticamente y que se desarrolla a lo largo de la vida.
- La **malabsorción secundaria** es debida a la existencia de una enfermedad intestinal que daña la mucosa intestinal de forma transitoria, aunque también puede ser permanente. Este tipo de malabsorción es común en sobrecrecimiento bacteriano, celiaquía, gastroenteritis y enfermedad inflamatoria intestinal.

C. SOBRECRECIMIENTO BACTERIANO

La flora intestinal ejerce efectos reguladores positivos y negativos en el desarrollo y función del intestino. La microbiota es distinta en cada individuo y permanece relativamente constante en su composición. El tipo y concentración de bacterias varía en las distintas partes del tracto gastrointestinal. En el tracto gastrointestinal alto normalmente existe flora gram positiva y el en tracto gastrointestinal bajo encontramos

generalmente coliformes y anaerobios. Los principales mecanismos que mantienen la homeostasis intestinal son el peristaltismo y la barrera de ácido gástrico. El desbalance, tanto cuantitativo como cualitativo, puede tener consecuencias negativas.

El **sobrecrecimiento bacteriano** se caracteriza por la presencia de una población anormal de bacterias en el intestino delgado proximal: se produce una colonización por microbios aerobios y anaerobios que están de forma natural en el colon. Hay desórdenes que predisponen al alterar las defensas de la mucosa. Desórdenes de la motilidad intestinal o pancreatitis crónica se cree que son los responsables del 90% de los casos. La incidencia de sobrecrecimiento bacteriano también aumenta con la edad.

Las consecuencias del sobrecrecimiento bacteriano serían: meteorismo, distensión abdominal, déficit de hierro, déficit de B12, malabsorción de grasa por desconjugación de ácidos biliares por parte de las bacterias…

Algunas causas que pueden favorecer el crecimiento bacteriano son:

- Fallo en la barrera ácido-gástrica.
- Fallo en el aclaramiento intestinal.
- Alteración anatómica del intestino delgado.
- Inmunodeficiencia local o sistémica.
- Asociación con otras enfermedades.

Si existe un fallo en la barrera gástrica, las secreciones serán inadecuadas y aparecerá la misma flora en el estómago y en el intestino delgado proximal. Si el peristaltismo está conservado no tiene relevancia clínica ya que las bacterias serán transportadas anterógradamente. Será necesario un fallo tanto de la barrera de ácido gástrico como del peristaltismo para que se produzca un sobrecrecimiento de bacterias gram positivas y coliformes en el tracto gastrointestinal alto.

Las bacterias dan lugar al deterioro de la absorción a través de sus acciones:

- Las anaerobias se adhieren a las superficies y producen enterotoxinas.
- Las aerobias producen enzimas y productos metabólicos que inducen daño epitelial.

El efecto combinado da lugar a daños en las mucosas, desconjugación de ácidos biliares y pérdida de la actividad de disacaridasas.

3. TEST DEL HIDRÓGENO ESPIRADO

El test del hidrógeno espirado se basa en el principio de que no hay producción endógena de hidrógeno y que las bacterias productoras del mismo están principalmente en el colon.

Es un test no invasivo, pero no está estandarizado y su interpretación a menudo no es sencilla. Sus aplicaciones prácticas son las pruebas de intolerancia a azúcares, de sobrecrecimiento bacteriano o para determinar el tiempo de tránsito orocecal.

En condiciones normales, los carbohidratos serán digeridos y absorbidos antes de llegar al colon, por lo tanto, un paciente sano no debería espirar hidrógeno, o los niveles deberían mantenerse próximos a cero (<10ppm) ya que no se produce fermentación por parte de las bacterias del colon.

Si existe malabsorción o maldigestión, los carbohidratos, que no pueden ser absorbidos, llegan al colon y las bacterias los fermentan produciendo gases, ácidos grasos de cadena corta y agua. El hidrógeno pasa posteriormente a los pulmones permitiéndonos medir sus niveles en el aire espirado.

En el caso de que exista sobrecrecimiento bacteriano, tendrá lugar una deficiente absorción porque las bacterias fermentan parte de los carbohidratos. En el test del hidrógeno apreciaremos niveles elevados de hidrógeno espirado.

La diferencia de resultados entre los test de intolerancia y de sobrecrecimiento bacteriano reside en el hecho de que, si estamos ante un caso de sobrecrecimiento bacteriano, la elevación de hidrógeno se produce antes de que el nutriente llegue al colon y puede, o no, descender en colon. Cuando hablamos de intolerancias, la elevación se produce en colon, y antes de eso los niveles de hidrógeno se mantienen próximos a cero. Para poder ver estas diferencias se realizan medidas de los niveles de hidrógeno en el aire espirado cada 20-30 minutos durante al menos 120 minutos (tiempo mínimo considerado para que la medida corresponda a colon). Las medidas se toman de manera seriada con el fin de obtener los niveles de hidrógeno espirado a lo largo de todo el tracto gastrointestinal.

Condiciones para la realización del test:

- Ayuno de al menos ocho horas.
- Dieta sin fibra 24horas antes.
- Eliminar 4 semanas antes antibióticos, probióticos, procinéticos y laxantes.
- No fumar ni antes ni durante la prueba.
- Enjuague con colutorio no mentolado o con agua antes de la prueba.

Realización del test:

Antes de iniciar el test se debe verificar el cumplimiento de las condiciones previas y se realizará una primera medida en condiciones basales.

- <10ppm se considera un valor normal.
- 10-20ppm podría tratarse de un ayuno incompleto o una ingestión de comida de digestión lenta.
- >20ppm posible sobrecrecimiento bacteriano, infección por *Helicobacter pylori*, vaciamiento gástrico incompleto, contaminación de la muestra con bacterias de la orofaringe. En este caso se hará un enjuague con clorhexidina y se repetirá el basal.

Una vez hemos realizada la medida basal, se procede a suministrar la dosis adecuada de sustrato según la prueba:

- Lactulosa 10g para el test de sobrecrecimiento bacteriano.
- Lactosa 50g para el test de intolerancia a la lactosa.
- Fructosa 50g para el test de intolerancia a la fructosa.
- Sacarosa 50g para el test de intolerancia a la fructosa.

Durante la prueba es importante preguntar al paciente cómo se encuentra y anotar los síntomas que refiera.

Se considera que los primeros 60 minutos corresponden a la zona alta del tracto gastrointestinal y a partir de los 90 minutos a colon.

El test es positivo cuando:

- Carbohidratos: aumento de más de 20 ppm de hidrógeno respecto al valor basal en colon.
- Sobrecrecimiento bacteriano: aumento de más de 20 ppm de hidrógeno respecto al valor basal antes de llegar al colon.

Hay que tener en cuenta que un paciente con diarrea puede presentar un tránsito acelerado y por lo tanto las medidas antes de los 90 minutos podrían corresponder al colon.

Si nos encontramos ante un paciente con sintomatología, pero con un test negativo sería recomendable realizar el test midiendo también los niveles de metano, ya que la principal causa de falsos negativos en este test son los metanoproductores. Se calcula que hasta en un 30% de los pacientes con sobrecrecimiento bacteriano predomina la producción de metano. La positividad del metano en el test del aliento se relaciona con estreñimiento, ya que el gas metano inhibe el tránsito intestinal.

Antes de realizar pruebas de intolerancia a azúcares se debería descartar el sobrecrecimiento bacteriano ya que puede interferir con los test de malabsorción de azúcares.

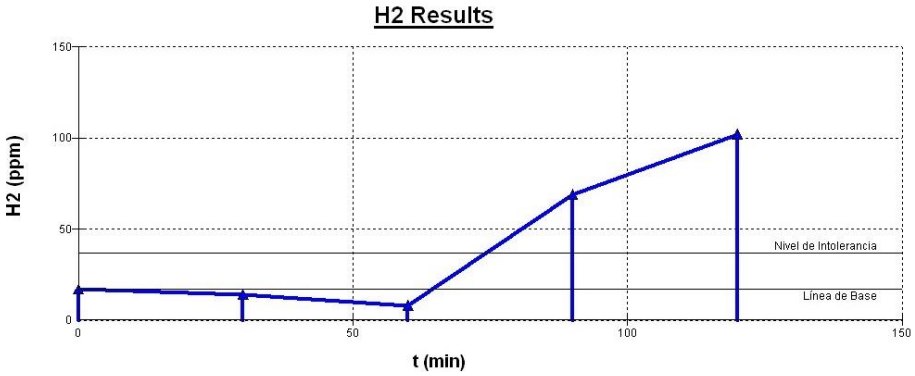


Figura 2. Test de intolerancia a fructosa.

En la figura 2 observamos como los niveles de hidrógeno espirado se mantienen constantes durante los primeros 60 minutos de la prueba y se elevan pasados los 90 minutos (nos encontraríamos ya en la zona

del colon). Se considera que el test de intolerancia a la fructosa es positivo ya que la elevación se produce en colon y es superior a 20 ppm respecto del basal.

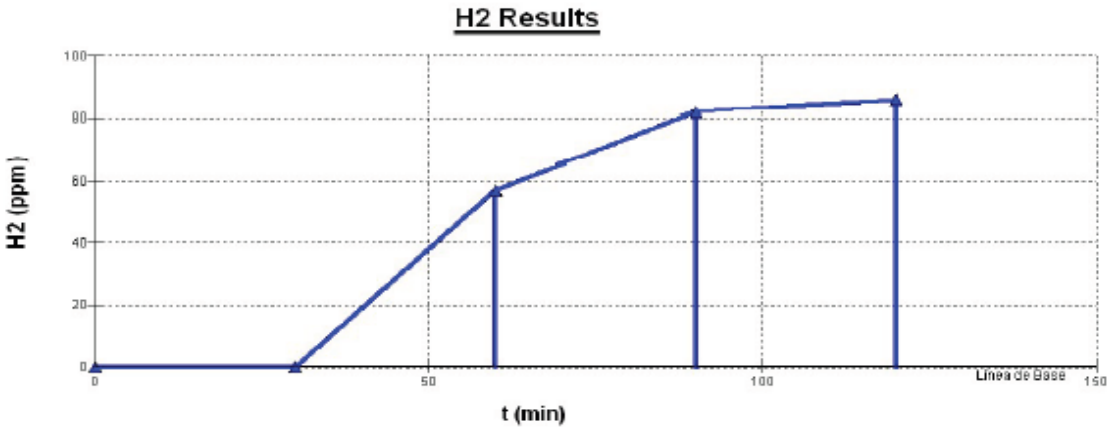


Figura 3. Test de sobrecrecimiento bacteriano.

En la figura 3 observamos un test de sobrecrecimiento bacteriano, partiendo de niveles basales óptimos vemos como a los 60 minutos hay una importante elevación de los niveles de hidrógeno espirado. Se considera un test positivo a sobrecrecimiento bacteriano.

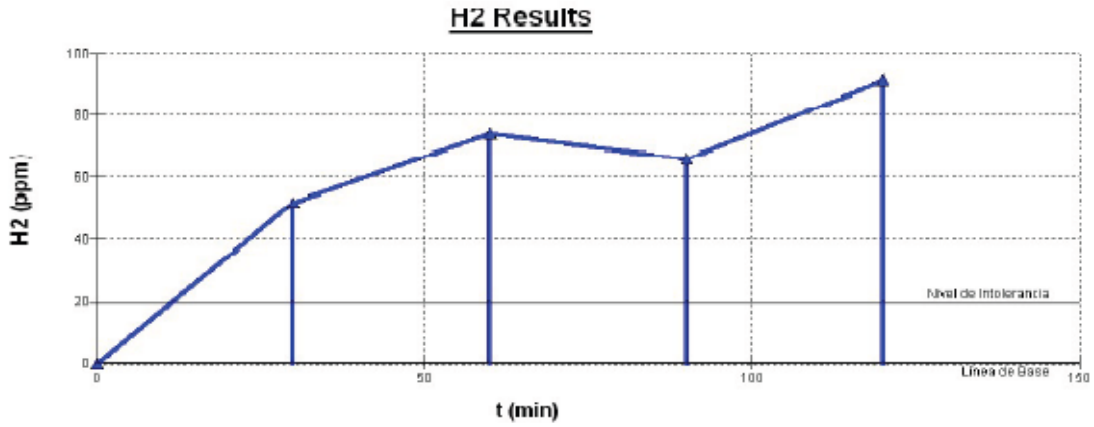


Figura 4. Test de intolerancia a lactosa.

En la figura 4 se ve una elevación brusca de los niveles de hidrógeno espirado, esto nos siguiere que pueda existir un sobrecrecimiento bacteriano que está interfiriendo en el test. Aunque los niveles a los 90 y 120 minutos (se considera que el sustrato está ya en colon) sean más de 20 ppm superiores a los basales podríamos estar ante un falso positivo por sobrecrecimiento bacteriano. Se recomendaría realizar un test de sobrecrecimiento bacteriano y en caso de ser positivo tratar el sobrecrecimiento antes de repetir el test de intolerancia a la lactosa.

4. CONCLUSIONES

Aunque el *gold standard* para el diagnóstico de sobrecrecimiento bacteriano es el cultivo cuantitativo de aspirado yeyunal, éste es un test invasivo, costoso y no exento de limitaciones importantes que casi no se aplica en la práctica clínica. El test del hidrógeno espirado es una buena alternativa ya que se trata de una prueba no invasiva, de fácil realización y económica.

Se recomienda cuantificar hidrógeno y metano para evitar así los falsos negativos que se producirían en los metanoproductores.

En cuanto al tratamiento antibiótico no existe un consenso claro y debe tenerse en cuenta si la población bacteriana mayoritaria en el paciente es metanoproductora.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

1. Rezaie A, Buresi M, Lembo A, Lin H, McCallum R, Rao S, et al. Hydrogen and methane-based breath testing in gastrointestinal disorders: The North American Consensus. Am J Gastroenterol. 2017;112(5):775-784.
2. Marín Serrano E. Pruebas diagnósticas y manejo de la Intolerancia a la lactosa, sobrecrecimiento bacteriano e insuficiencia pancreática exocrina. Madrid: Saned; 2015.
3. Dueñas Disotuar S, García Luna PP. Técnicas diagnósticas en maldigestión y malabsorción de macronutrientes. Nutr Clin Med. 2016;X(1):40-53.
4. Gisbert JP, González-Lama Y. Pruebas de aliento en el diagnóstico de enfermedades digestivas. Gastroenterol Hepatol. 2005;28(7):407-16.
5. Shin W. Medical applications of breath hydrogen measurements. Anal Bioanal Chem. 2014;406(16): 3931-9.

BLOQUE III

CASOS CLÍNICOS

CASO CLÍNICO: SEPSIS EN SENO DE NEUMONIA NEUMOCÓCICA

Autores: Diego Tuñón Le Poultel, Raúl Recio Martínez, María Ángeles Orellana Miguel, José Miguel Comino Cáceres

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Servicio de Microbiología Clínica, Hospital universitario 12 de Octubre, Madrid.

Palabras clave: Sepsis, infección, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), síndrome de disfunción multiorgánica (SDM), proteína C reactiva (PCR), procalcitonina (PCT), síndrome hemolítico urémico (SHU).

EXPOSICIÓN DEL CASO:

Paciente varón de 2 años, natural de Madrid, que acude a urgencias derivado por su pediatra por fiebre de 2 días de evolución con máximo de 38.2ºC y rigidez nucal. Como antecedentes personales se trata de un nacido pretérmino (32+6), sin ingresos ni cirugías fuera del periodo neonatal. Vacunado según calendario, sin alergias medicamentosas conocidas. En la exploración física se constata una temperatura de 38º C, un peso de 11,2 kg, una frecuencia cardiaca de 160 l.p.m. (latidos por minuto), una tensión arterial de 100/50 mm Hg y una saturación de O_2 del 91%. En una primera auscultación pulmonar se aprecia una hipoventilación en base derecha. La radiografía de tórax muestra un hemitórax blanco derecho en relación con consolidación parenquimatosa. Se objetiva neumonía necrotizante derecha con derrame pleural sugestivo de empiema (Figura 1).

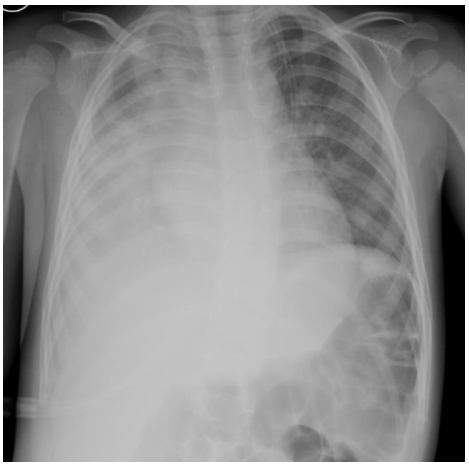


Figura 1. RX Hemitórax blanco derecho en relación con consolidación parenquimatosa. Neumonía necrotizante derecha con derrame pleural.

Se procede al traslado a la unidad de cuidados intensivos donde permanece ingresado con sospecha de sepsis secundaria a enfermedad neumocócica invasiva (neumonía + empiema). Los resultados de los análisis bioquímicos mostraron una creatinina de 0.63 mg/dl, LDH de 580 U/l, bilirrubina de 2.06 mg/dl y proteína C reactiva (PCR) de 40.35 mg/dl. La hematimetría presentó una hemoglobina de 10.9 g/dl, plaquetas de 133.000 y leucocitos de 8.400 con un 90% de neutrófilos. En el frotis de sangre periférica se observó auto-aglutinación de hematíes, presencia de esferocitos y 7 esquistocitos por campo sugestivos de anemia hemolítica. Se observaron neutrófilos reactivos con refuerzo de granulación, algunos de ellos hiposegmentados. La hemostasia mostró un tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa) de 45 sec. Se sugiere descartar microangiopatía trombótica.

Coincidiendo con el pico febril, se remitieron hemocultivos y una muestra de líquido pleural para estudio microbiológico. En la tinción de Gram del líquido pleural se observaron abundantes polimorfonucleares y cocos grampositivos en diplos y en cadenas sugestivos de *Streptococcus pneumoniae* (Figura 2). Tras 24 horas de incubación crecieron colonias pequeñas planas alfa-hemolíticas con sensibilidad marcada a optoquina. La sangre fue inoculada en una botella de hemocultivo pediátrico (*BacT/Alert 3D*, bioMérieux, Marcy l´Etoile, Francia). El hemocultivo fue positivo tras 32 horas de incubación y se subcultivó a su vez en

placas convencionales de agar sangre, agar chocolate y agar para anaerobios a 37ºC. Tras 24 horas de incubación se aislaron colonias similares a las del líquido pleural. La identificación del microorganismo se llevó a cabo mediante espectrometría de masas MALDI-TOF (Bruker Daltonics, Bremen, Alemania) a partir de las colonias aisladas en el hemocultivo y en el líquido pleural. Ambas muestras fueron identificadas como *S. pneumoniae* con un *score* mayor de 2.3. El estudio de sensibilidad antibiótica se realizó mediante el método de difusión en disco y E-test (bioMérieux, Marcy l´Etoile, Francia) siguiendo las recomendaciones y puntos de corte de EUCAST (*European Committe on Antimicrobial Susceptibility Testing*) versión 8.1. (www.eucast.org). El inóculo bacteriano utilizado fue de 0.5 de la escala McFarland, y en las placas de Müller-Hinton sangre se incubó durante 24 horas a 37ºC. El patrón de sensibilidad antibiótica del líquido pleural y del hemocultivo fue el mismo: sensible a penicilina (concentración mínima inhibitoria [CMI]= 0,016 mg/L), ceftriaxona (CMI= 0,006 mg/L), meropenem (CMI= 0,002 mg/L) y levofloxacino (CMI= 1 mg/L). El paciente fue trasladado a la planta de Enfermedades Infecciosas completando el tratamiento antibiótico con cefotaxima IV (200mg/kg/dia) y clindamicina (27mg/kg/dia).

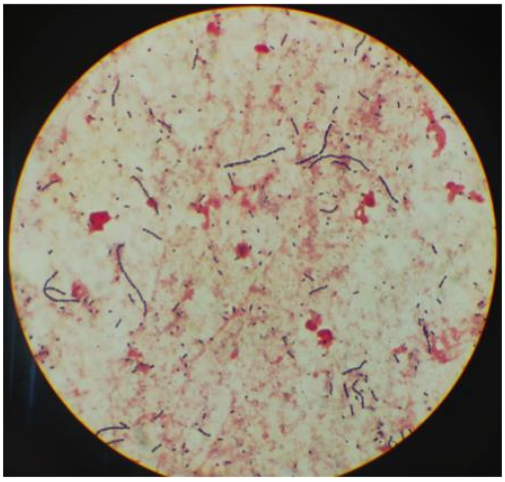


Figura 2. Tinción Gram del set de hemocultivo pediátrico en el que se observan cocos positivos en cadenas.

Los valores máximos de proteína C reactiva (PCR: 40,35 mg/dl) y de procalcitonina (PCT: 24,97 ng/ml) obtenidos en una primera instancia fueron disminuyendo durante el ingreso hasta niveles no patológicos, con un ligero repunte de la PCR de 21,88 mg/dl al cuarto día, acompañada de insuficiencia renal aguda con valores máximos de urea de 154 mg/dl con hipertensión arterial, anuria y filtrado glomerular CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*) de 39 ml/min/1,73m2, que preciso hemodiafiltración. La tríada característica, anemia hemolítica, plaquetopenia e insuficiencia renal en una enfermedad neumocócica invasiva, hizo sospechar un síndrome hemolítico urémico (SHU) para su rápido tratamiento con hemodiafiltración venovenosa continua. La evolución de los casos pediátricos descritos con pleuroneumonía neumocócica que desarrollan SHU varía desde la normalización de la función renal con curación a los 2 meses mediante hemodiálisis, como en el presente caso, hasta la intervención con trasplante renal (1). Se puede concluir que, debido a la gravedad de la sepsis (tiempo dependiente) se precisa un alto índice de sospecha para un diagnóstico precoz y un adecuado tratamiento.

RESOLUCIÓN DEL CASO:

Actualmente, la sepsis se define como una disfunción orgánica que amenaza la vida de un paciente causada por una respuesta no regulada del individuo frente a la infección (2). Como en la práctica clínica se requiere una herramienta diagnóstica que sustituya a los criterios inespecíficos del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), tradicionalmente utilizados en la identificación de este proceso, se ha optado por una nueva escala, denominada *qSOFA* (*quick SOFA*), que incluye exclusivamente criterios clínicos, por lo que es fácilmente aplicable en cualquier nivel asistencial (no sólo en el hospital). Esta escala tiene en cuenta la alteración del nivel de conciencia, la presencia de una presión arterial sistólica ≤100 mmHg y/ o la presencia de una frecuencia respiratoria ≥22 r.p.m (respiraciones por minuto). Mientras que la infección

se define como la entrada, invasión y multiplicación de un agente patógeno en el organismo, el síndrome de respuesta inflamatoria sistémico es un conjunto complejo de fenómenos patológicos manifestados en diversas condiciones clínicas (infección, trauma, quemaduras, pancreatitis…) que producen alteraciones clínicas en temperatura, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria y recuento de leucocitos. La sepsis se entiende como la presencia de un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) en un paciente con un proceso infeccioso (Figura 3). Se produce la activación de una cascada de reacciones inflamatorias y el desequilibrio en vasodilatación y coagulación, que resulta en un síndrome de fuga capilar, se disminuye la perfusión tisular de oxígeno, lo que unido al daño tisular directo y a la alteración de la respiración mitocondrial, haciendo fallar primero a la célula, el tejido, el órgano y finalmente al sistema.

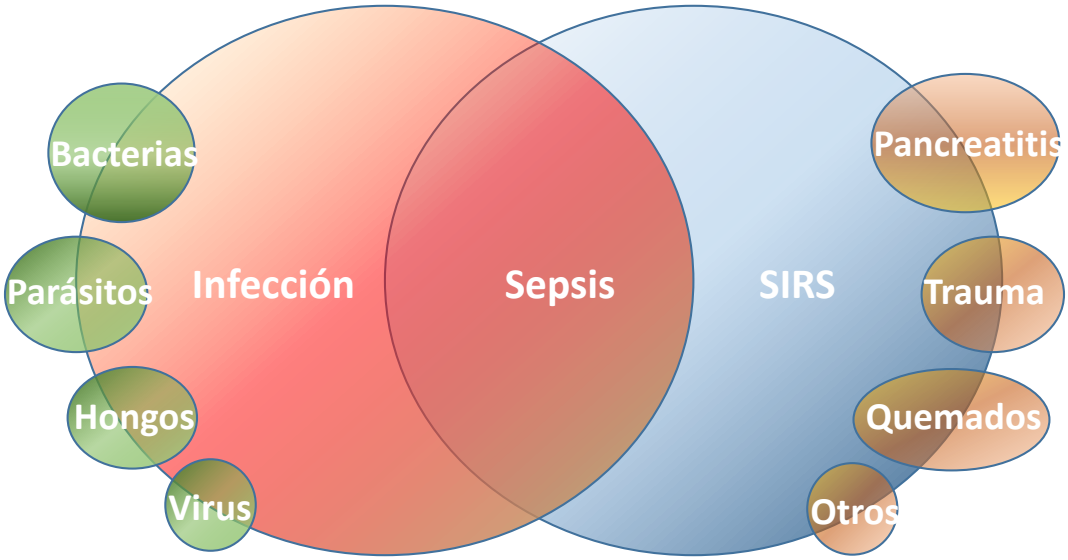


Figura 3. Esquema para la definición de sepsis del College of Chest Physicians / Society of Critical Care Medicine. Chest. 1992; 101:1644-1655.

La sepsis es una causa importante de mortalidad en los países desarrollados. Los estudios epidemiológicos han evidenciado la elevada incidencia y letalidad de la sepsis, habiéndose estimado que esta enfermedad es responsable de más muertes que el infarto agudo de miocardio o el ictus, y que los cánceres de mama, colon, recto, páncreas y próstata juntos. La tasa de mortalidad varía entre el 30 y el 80%. La importancia de la sepsis será aún mayor en los próximos años, ya que su incidencia está aumentando, y se espera que esta tendencia continúe en el tiempo (3). En Estados Unidos, se ha estimado que, en los últimos 20 años, la incidencia de la sepsis ha aumentado a un ritmo del 8,7% anual, y en Europa se manejan cifras similares. A pesar de los nuevos tratamientos introducidos en los últimos años, que han mejorado el pronóstico de la sepsis, su cada vez mayor incidencia hace que el número de fallecimientos por esta enfermedad esté aumentando progresivamente.

En España, el grupo de infecciones de la Sociedad Española de Medicina de Urgencias y Emergencias (INFURG-SEMES) ha realizado recientemente un estudio epidemiológico en 49 hospitales españoles para evaluar durante un año las infecciones atendidas en los servicios de urgencias hospitalarios (4). En el mencionado estudio, la incidencia de sepsis es del 6,2%, siendo del 3,3% en pacientes menores de 65 años y del 11,1% en pacientes mayores de esa edad. Además, y comparado con un estudio similar realizado por el grupo 10 años antes, se demostró un aumento de la prevalencia de las infecciones con un perfil de pacientes de mayor edad, comorbilidad, factores de riesgo y sepsis.

El foco u origen de infección que con mayor frecuencia presentan los pacientes sépticos es la infección respiratoria de vías inferiores, seguida de la infección urinaria y la infección intra-abdominal. La sepsis requiere una identificación rápida y un tratamiento inmediato. Los síntomas que acompañan la sepsis son fiebre, escalofríos o sensación de frío, dolor y molestias extremos, piel pegajosa o sudorosa, confusión o desorientación, dificultad para respirar y alta frecuencia cardiaca (Figura 4). Es decir, los signos y síntomas

que se producen durante la sepsis son muy inespecíficos y en muchas ocasiones hacen difícil establecer un diagnóstico precoz. Por otra parte, la rapidez con la que se llega a fallos irreversibles en órganos y sistemas hace que un diagnóstico correcto y un tratamiento adecuado sean imprescindibles en el menor tiempo posible, por lo que es necesario buscar un modelo en el que poder basarnos para sospechar el cuadro séptico en fases precoces (5).

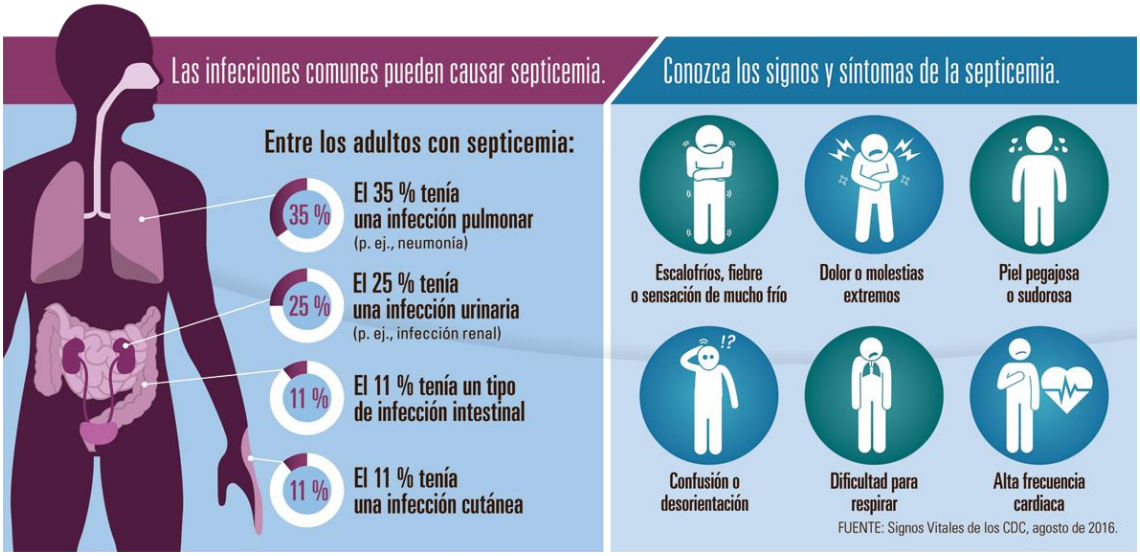


Figura 4. Modelos de infección que con mayor frecuencia presentan los pacientes sépticos junto con los signos y síntomas que acompañan, adaptada con permiso de www.sepsisone.com.

Todos los pacientes con infección o bacteriemia están en riesgo de desarrollar sepsis. La intervención terapéutica durante los momentos iniciales del desarrollo de la sepsis está directamente correlacionada con la mejora en la supervivencia. Para mejorar el diagnóstico, el reconocimiento de los criterios del (SIRS) junto con la sospecha clínica, las determinaciones del laboratorio y las imágenes radiológicas. El criterio antiguo para el diagnóstico de sepsis (Sepsis-2) prestaba mayor atención en presentaciones más leves, donde la mortalidad puede ser mayor, mostrando ser más eficaz en la predicción de resultados adversos y en la identificación de pacientes que se beneficiarían más de una intervención temprana en las urgencias (Figura 5). Sin embargo, recientemente, la definición de la sepsis ha sido revisada para reflejar la amenaza que representa la disfunción orgánica debida a una respuesta inmune/inflamatoria desequilibrada en respuesta a una infección (Sepsis-3) (2).

Infección	Sepsis	Sepsis severa	Shock séptico
Sepsis-2	**≥2 criterios SIRS:** -fiebre/hipotermia -taquicardia -leucocitosis/leucopenia	-Fallo orgánico -o hipotensión -o hipoperfusión	Hipotensión refractaria

Infección	Sepsis	Shock séptico
Sepsis-3	**Sospecha o documentación de infección y fallo orgánico; +≥2 criterios Qsofa:** -hipotensión -hiperlactatemia -o vasopresores	**Sepsis +:** -necesidad de vasopresores para mantener T.A.M.>65mmHg -lactato > 2mmol/lL

Figura 5. Criterios antiguos y revisados para el diagnóstico de sepsis.

Uno de los principales cometidos que tiene el médico cuando atiende una urgencia es una identificación rápida y la estratificación adecuada de la gravedad del paciente, así como un tratamiento inmediato. En función de la estratificación del riesgo se realizará un tratamiento más agresivo, un diagnóstico más intenso y un nivel asistencial de atención diferente. El shock séptico se define como un cuadro de hipotensión inducido por la sepsis que no se corrige con una adecuada infusión de volumen y que precisa de la administración de drogas vasopresoras para mantener la tensión. Por último, el síndrome de disfunción multiorgánica (SDM) se caracteriza por presentar una función alterada de órganos o sistemas de forma sostenida con necesidad de intervención terapéutica para poder mantener la misma. La definición de sepsis, sepsis grave o shock séptico determina una mortalidad predecible a 30 días del 16%, 20% y 46%, respectivamente. Se recomienda, en casos de sospecha de infección, la toma de todas las constantes que permiten identificar la sepsis. Entre los criterios definitorios de sepsis existen varios que pueden observarse desde el primer momento en que se realiza el triaje: fiebre, taquicardia, taquipnea o hipotensión o hipoperfusión. Además, existen variables analíticas fácil y rápidamente accesibles en muchos centros como son la glucemia, la PCR, la PCT, el lactato y la PaO_2.

Mediante el hemocultivo se pone de manifiesto la presencia de bacterias en la sangre, lo que se define como bacteriemia. La detección de la bacteriemia constituye una de las prioridades del Servicio de Microbiología Clínica, ya que se asocia con una elevada mortalidad. Se han de realizar hemocultivos siempre que exista sospecha clínica de sepsis, meningitis, osteomielitis, pielonefritis, infección intraabdominal, artritis, infecciones graves de la piel y tejidos blandos, neumonía, endocarditis y fiebre de origen desconocido (absceso oculto, fiebre tifoidea, brucelosis, tularemia, etc.). Asimismo, en niños pequeños o ancianos con disminución súbita de la vitalidad, ya que en estas poblaciones pueden no presentarse los signos y síntomas típicos de la bacteriemia. El diagnóstico definitivo de la bacteriemia se establece cuando se aísla el microorganismo causal en la sangre del enfermo. Está primera identificación puede servir de guía para el tratamiento antibiótico. Además, se puede orientar el diagnóstico de enfermedades como la neoplasia de colon (*Streptococcus bovis*), endocarditis (*Streptococcus viridans*) e infección por el VIH (*Salmonella*, *Enterococcus)*. Por otro lado, permite la diferenciación de los casos de verdadera bacteriemia de aquellos en los que la positividad es debida a un inadecuado procedimiento de extracción y procesamiento.

La probabilidad de que el resultado de los hemocultivos positivos represente una bacteriemia verdadera aumenta cuando la muestra se obtiene adecuadamente. Se recomienda que la sangre para cultivo sea extraída lo antes posible después del comienzo de la fiebre y los escalofríos, o siempre que se sospeche una infección grave. El principal problema para la interpretación correcta de los hemocultivos es su contaminación con la microbiota cutánea durante la extracción. Para evitarla debe prepararse antes meticulosamente la piel de la zona de punción. Antes de proceder a la extracción se limpiarán los tapones de los frascos de hemocultivo con un antiséptico que se dejará secar para evitar su entrada en el interior del frasco al inocular la sangre La muestra de sangre para hemocultivo se extrae de una vena, utilizándose generalmente las del antebrazo.

La sangre extraída se inocula en una pareja de frascos, anaerobio y aerobio. La sensibilidad diagnostica aumenta en relación con el número de sets de hemocultivos extraídos al paciente. Se acerca al 60-80% con el primer hemocultivo, del 80-90% cuando se cursan dos hemocultivos y del 95-99% con el tercer hemocultivo. En adultos se suelen extraer dos o tres hemocultivos en aquellos casos en los que se sospecha sepsis aguda o cualquier foco de infección y tres o cuatro hemocultivos si existe la posibilidad de que se trate de una endocarditis, una infección de un dispositivo protésico o una infección de catéter en la que puede ser difícil diferenciar entre contaminación y bacteriemia verdadera. En niños, en general se extrae un solo hemocultivo aerobio, y no se recomienda la extracción seriada de hemocultivos excepto en el paciente inmunodeprimido, pero para mejorar el diagnóstico algunos autores recomiendan dos extracciones si el niño pesa más de 1 kg y sólo una extracción si su peso es inferior. Hay estudios que demuestran que la introducción de un volumen adecuado de sangre en un solo frasco es más rentable que la extracción de varios frascos. Diversos estudios han demostrado que el riesgo de la población pediátrica de desarrollar una bacteriemia por anaerobios es mucho menor que en la población adulta, lo que además apoya el cultivo en un solo frasco en condiciones de aerobiosis; se deberá solicitar de manera explícita dicho cultivo cuando exista alta sospecha clínica de infección por microorganismos anaerobios. No existe una recomendación universal sobre el intervalo de tiempo a respetar entre cada extracción y aunque por lo general se aconseja que estén separadas 10-30 minutos, este intervalo se puede acortar en situaciones de extrema urgencia e incluso en estos casos, para no retrasar el tratamiento antibiótico, pueden extraerse los hemocultivos simultáneamente de extremidades diferentes. El volumen de sangre cultivada es importante debido al bajo número de microorganismos presentes en la mayoría de las bacteriemias. Se recomiendan 10-15 ml por

frasco, ya que con volúmenes menores se ha demostrado una disminución del índice de positividad. En neonatos y niños, se ha preconizado que la mayor cantidad de bacterias presentes en sangre permite que con volúmenes considerablemente menores, incluso inferiores a 1 mililitro, se obtengan resultados aceptables y comparables a los de los adultos (6).

Cuando en un hemocultivo es positivo, a partir de 3 a 5 ml de caldo del frasco se realiza una tinción Gram y se subcultiva en agar sangre, agar chocolate y agar sangre enriquecido para anaerobios. Se realizan pruebas de identificación y antibiograma preliminares con objeto de obtener resultados lo antes posible, En función de lo observado en la tinción Gram se tendrá una idea aproximada del microorganismo aislado así como el medio de cultivo indicado para su aislamiento (Tabla 1).

	Tinción de Gram	Microorganismo	Identificación
Cocos	Gram (+) racimos	Estafilococos	SAIDE
	Gram (+) diplos o cadenas	Estreptococos	Detección de antígeno, Optoquina
	Gram (-)	Meningococo	
Cocobacilos	Gram (-)	*Haemophilus*	
Bacilos	Gram (+) y corineformes	*Bacillus*, *Clostridium…*	
	Gram (-)	Enterobacteria, BGNF	McConkey, Müller-Hilton
Flora mixta	Gram (+) y Gram (-)		
Levaduras		*Candida*, *Trichosporon...*	Chromo-agar, Müller-Hilton

Tabla 1: Procedimientos en Microbiología Clínica. SEIM. 2017.

Si la colaboración entre el clínico y el microbiólogo es siempre necesaria, mucho más ante la sospecha de una infección cuyo agente etiológico es infrecuente y, además, de difícil aislamiento y crecimiento. Estos microrganismos, a veces responsables de las llamadas endocarditis con hemocultivo negativo, incluyen *Brucella, Haemophilus, Cardiobacterium, Eikenella, Kingella, Bartonella, Abiotrophia*, etc. La mayoría necesitan medios de cultivos especiales por sus requerimientos nutritivos y su incubación debe ser prolongada debido a su lento crecimiento. En alguno de estos procesos infecciosos el estudio serológico es indispensable para el diagnóstico; en otros es imprescindible aplicar técnicas de biología molecular que proporcionan información con más celeridad que el cultivo.

Un biomarcador es un indicador medible y reproducible de un estado o condición biológica. Son indicadores de que un proceso es normal o patológico. El biomarcador de sepsis idealmente debería establecer un diagnóstico rápido (incluso antes de que se manifiesten los signos y síntomas de una infección y previo a los resultados microbiológicos), cuantificar la gravedad y estratificar el riesgo, monitorizar la evolución de la infección bacteriana y su respuesta al tratamiento, de forma que pueda servir de guía de este (ej. indicación, cese o cambio del antibiótico) (7).

La concentración plasmática de la PCR es constante, por lo que los niveles circulantes reflejan directamente la intensidad de los procesos patológicos que estimulan su síntesis. Mide el grado de inflamación secundario por lo que, si el nivel es alto, el riesgo de infección grave es más probable. Las inflamaciones leves o infecciones virales se asocian a elevaciones entre 10-50 mg/L, mientras que en inflamaciones agudas e infecciones bacterianas las concentraciones suelen oscilar entre 50 y 200 mg/L y en casos de infecciones severas o traumatismos graves están por encima de 200 mg/L. Niveles más elevados de PCR se correlacionan con más días de ingreso hospitalario, más días sometido a ventilación mecánica y mayor mortalidad (8).

La PCT es uno de los mejores indicadores de sepsis bacteriana, siendo un marcador útil para evaluar el grado de gravedad de la infección. Actualmente se emplea habitualmente cuando existe duda diagnóstica

sobre la presencia de sepsis o su gravedad, así como en la monitorización de la respuesta al tratamiento. Es muy útil para tomar decisiones de cribado ante la sospecha de bacteriemia y sepsis. Actualmente, la PCT es el marcador más sensible y específico de infección bacteriana, y el biomarcador de mayor poder diagnóstico de sepsis (9). La PCT se muestra superior a la PCR, en sensibilidad y especificidad, para distinguir infección bacteriana tanto de otras causas de respuesta inflamatoria como de infección vírica. Su actual disponibilidad en muchos centros hospitalarios, la rapidez y facilidad de su técnica, y la gran experiencia acumulada sitúan a la PCT como el biomarcador de referencia de detección de sepsis. Una PCT < 0,25 ng/ml desaconsejaría la administración inicial de antibiótico ante la baja probabilidad de etiología bacteriana. Si se obtienen determinaciones seriadas permite valorar el pronóstico en función de las intervenciones realizadas (10). Además, su capacidad diagnóstica y predictiva se mantiene en pacientes de difícil diagnóstico (enfermos con insuficiencia renal, cirrosis, oncohematológicos y neutropénicos, ancianos o con enfermedades autoinmunes o reumatológicas) (11). Los valores de PCT dan una mayor correlación con la gravedad de la sepsis, es más sensible y específica que la PCR para la sospecha de sepsis y shock séptico.

El lactato se eleva en infecciones bacterianas debido a que es un biomarcador de hipoperfusión. Donde más experiencia existe es con la medición en líquido cefalorraquídeo, dónde algunos autores recomiendan su inclusión en el perfil bioquímico de rutina del líquido y para valorar el diagnóstico de meningitis bacteriana cuando existen concentraciones altas. Existen también estudios del potencial valor para identificar mediante el lactato la infección en líquidos biológicos como el líquido sinovial, líquido pleural o líquido ascítico. El principal valor del lactato en el ámbito de urgencias es su utilidad en la estratificación del riesgo del paciente, ya que cifras de lactato > 3 mmol/L se asocian a peores resultados en términos de supervivencia (2).

La proadrenomedulina (proADM) es un biomarcador de reciente incorporación. Su concentración aumenta en las situaciones de estrés celular y es reconocida como biomarcador de enfermedad infecciosa, pero también de otras enfermedades (insuficiencia cardíaca, infarto agudo de miocardio, cirrosis hepática…). Sus niveles aumentan con la edad, por lo que necesita un factor de corrección a partir de los 70 años. Existen estudios sobre su utilidad en el diagnóstico de infección bacteriana frente a la vírica, de sepsis y como predictor de bacteriemia. El MRproADM demostró capacidad para diferenciar en pacientes críticos, aquellos que presentaban un proceso infeccioso (12). Recientemente, como se ha mostrado en un estudio de cohorte prospectivo, se ha valorado la incorporación del MDW (*Monocyte Distribution Width*) junto con el recuento de células de la serie blanca en el hemograma para mejorar la detección de sepsis en el momento de la admisión del paciente en la urgencia (13).

Streptococcus pneumoniae, agente etiológico frecuente de infecciones respiratorias bacterianas en niños y adultos, también puede ser causa de síndrome hemolítico-urémico (SHU), generalmente tras una neumonía con empiema. Entre las microangiopatías trombóticas, la mayor parte de los casos de SHU ocurren tras una gastroenteritis por *Escherichia coli* verotoxigénico 0157:H7, causa más frecuente de insuficiencia renal aguda en la infancia. El SHU neumocócico se diferencia del SHU clásico, en cuanto al tratamiento, a la patogenia, al pronóstico, presentando un mayor riesgo de insuficiencia renal crónica. *Streptococcus pneumoniae* produce neuraminidasa, una enzima que se une al ácido N-acetilneuramínico de la superficie de las membranas celulares de los eritrocitos, plaquetas y capilares glomerulares, exponiendo el *antígeno de Thomsen-Freidenreich* (antígeno T). En el plasma humano circulan normalmente anticuerpos (IgM) frente al antígeno T, produciéndose una reacción antígeno-anticuerpo (T-activación). Ésta da lugar a anemia hemolítica por el paso de hematíes por la pared vascular alterada, trombocitopenia por adhesión plaquetaria al endotelio lesionado y lesión renal por microangiopatía. La presencia de T-activación se ha relacionado con SHU y anemia hemolítica aislada (14).

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Krysan DJ, Flynn JT. Renal transplantation after Streptococcus pneumoniae-associated hemolytic uremic syndrome. Am J Kidney Dis. 2001 Feb;37(2):E15.
2. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Conensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016;315(8):801-10.
3. Martin GS. Sepsis, severe sepsis and septic shock: Changes in incidence, pathogens and outcomes. Expert Rev Anti Infect Ther. 2012;10(6):701-6.
4. Martinez Ortiz de Zárate M, González del Castillo J, Julián Jiménez A, Piñera Salmerón P, Llopis Roca F, Guardiola Tey JM, et al. Estudio INFURG-SEMES: Epidemiología de las infecciones

atendidas en los servicios de urgencias hospitalarios y evolución durante la última década. Emergencias. 2013; 368-78.

5. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. Intensive Care Med. 2013;39(2):165-228.
6. Rodríguez Díaz JC, Guna Serrano MR, Larrosa Escartín N, Marín Arriaza M. Diagnóstico microbiológico de la bacteriemia y la fungemia: hemocultivos y métodos moleculares. Madrid: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; 2017.
7. Angus DC, Van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. N Engl J Med. 2013;369(21):2063.
8. Julián Jiménez A, Candel González FJ, González del Castillo J. Utilidad de los biomarcadores de inflamación e infección en los servicios de urgencias. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2014;32(3):177-90.
9. Stucker F, Herrmann F, Graf JD, Michel JP, Krause KH, Gavazzi G. Procalcitonin and infection in elderly patients. J Am Geriatr Soc. 2005;53(8):1392-5.
10. Lai CC, Chen SY, Wang CY, Wang JY, Su CP, Liao CH, et al. Diagnostic value of procalcitonin for bacterial infection in elderly patients in the emergency department. J Am Geriatr Soc. 2010;58(3):518-22.
11. Simon L, Gauvin F, Amre DK, Saint-Louis P, Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: A systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis. 2004;39(2):206-17.
12. Önal U, Valenzuela-Sánchez F, Vandana KE, Rello J. Mid-regional pro-adrenomedullin (MR-proADM) as a biomarker for sepsis and septic shock: Narrative review. Healthcare. 2018;6(3): 110. Disponible en: https://doi.org/10.3390/healthcare6030110
13. Crouser ED, Parrillo JE, Seymour C, Angus DC, Bicking K, Tejidor L, et al. Improved Early Detection of Sepsis in the ED With a Novel Monocyte Distribution Width Biomarker. Chest. 2017;152(3):518-26.
14. Spinale JM, Ruebner RL, Kaplan BS, Copelovitch L. Update on Streptococcus pneumoniae associated hemolytic uremic syndrome. Curr Opin Pediatr. 2013;25(2):203-8.

POTOMANÍA: LA OBSESIÓN POR BEBER AGUA

Autores: David Melero López, Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: polidipsia, hiponatremia, osmolalidad, ADH.

INTRODUCCIÓN

La polidipsia psicógena o potomanía es el deseo compulsivo de beber grandes cantidades de líquido (principalmente agua), muy por encima de las necesidades fisiológicas. No se considera una enfermedad como tal sino un síntoma o consecuencia de otra patología subyacente, trastornos psicológicos (principalmente esquizofrenia) o disfunción hipotalámica entre otras. Se carateriza fundamentalmente por una hiponatremia severa. Ésta no suele ser grave gracias a los potentes mecanismos compensadores del sistema renal, hormonal y cardiovascular. Si estos fallaran o se vieran superados por la velocidad de consumo de líquido podrían aparecer cefaleas, letargia, parálisis, coma e incluso la muerte[1].

El diagnóstico bioquímico es determinante en esta patología, obteniéndose resultados significativamente bajos de osmolalidad plasmática y urinaria además de la ya mencionada hiponatremia.

PRESENTACIÓN DEL CASO

Mujer de 42 años, sin antecedentes de interés (no Hipertensión Arterial, Diabetes Mellitus, dislipemia ni otras patologías graves), frecuentadora habitual del servicio de Urgencias. Refiere únicamente sintomatología inespecífica (malestar general y astenia), aunque admite durante la anamnesis un consumo muy elevado de agua.

En las analíticas a su llegada a Urgencias destaca una hiponatremia severa que mejora con restricción hídrica, mostrando algunos ejemplos en la Tabla 1.

	NIVELES DE SODIO (mEq/L)				
	Ingreso Urgencias	**Tras restricción hídrica**			
		Día 1	**Día 2**	**Día 3**	**Día 4**
Episodio 1	108	115	118	119	126
Episodio 2	108	118	133		
Episodio 3	111	118	125	129	137
Episodio 4	121	130	135		
Episodio 5	122	126	135		

Tabla 1. Evolución de los niveles de sodio en la paciente tras restricción hídrica.

Además se observan osmolalidad plasmática y urinaria bajas (265 Y 81 mOsm/kg respectivamente), datos bioquímicos característicos de insuficiencia renal crónica (IRC) y anemia de etiología mixta (IRC y hemodilución). Los niveles hormonales (tiroides, gónadas y suprarrenales) son normales.

En las pruebas de imagen se observa uropatía obstructiva con hidronefrosis bilateral sin causa anatómica justificada, músculo detrusor hiperactivo y vejiga muy distendida con algún pequeño divertículo sugestivo de vejiga de lucha; todo ello compatible con retención voluntaria de la orina.

La paciente rehusa la realización de otras pruebas diagnósticas y solicita alta voluntaria en todos los episodios, por lo que se realiza un diagnóstico de hiponatremia crónica dilucional por potomanía ante la mejora con restricción hídrica.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

Además de la analítica de sangre y orina, se realiza una ecografía como prueba de imagen. La paciente es reacia a la realización de otras pruebas diagnósticas, con lo que se complica su manejo:

- Se niega a pruebas de imagen con contraste.
- Se niega a sondaje para renograma.
- Se niega a resonancia magnética por claustrofobia.
- Se niega a estudio hipofisario completo.
- Se niega a ayuda psicológica.
- Se niega a toma de psicofármacos.
- Se niega a tratamiento para anemia (EPO y hierro).

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Para hacer un buen diagnóstico diferencial resulta crucial conocer los valores de osmolalidad plasmática y urinaria además de la actividad de la hormona antidiurética (ADH). Ésta es la principal reguladora de la osmolalidad urinaria, aumentando la reabsorción de agua a nivel renal y concentrando la orina, disminuyendo la osmolalidad plasmática[2].

En el Síndrome de Secreción Inadecuada de la hormona antidiurética (SIADH), encontramos una hipersecreción de ADH por desajuste del osmostato hipotalámico; lo encontramos en el 30% de pacientes con hiponatremia hospitalizados. Se produce un aumento de la reabsorción de agua a nivel del túbulo colector, lo que provoca una hiponatremia dilucional. Tiene múltiples causas: fármacos (neurolépticos y antidepresivos), enfermedades pulmonares (neumonía, tuberculosis), enfermedades del SNC (tumores, traumas, meningitis), dolor, estrés…

La diabetes insípida se basa en un efecto reducido en la función de la ADH. Según su origen puede ser:

- **Central**: Hiposecreción de ADH, ya sea por producción nula o insuficiente por parte del hipotálamo o falta de secreción por parte de la hipófisis.
- **Nefrógena**: Incapacidad de respuesta del riñón frente a la ADH (receptor V2 renal).

En nuestro caso se trata de una polidipsia primaria por diagnóstico de descarte de otras patologías relacionadas con la ADH.

POLIDIPSIA PRIMARIA (↓ADH)	**SIADH (↑ADH)**	**DIABETES INSÍPIDA CENTRAL (↓ADH)**
Osmolalidad plasmática ↓	Osmolalidad plasmática ↓	Osmolalidad plasmática ↑
Osmolalidad urinaria ↓↓ (<100 mOsm/kg)	Osmolalidad urinaria ↑ (>1000 mOsm/kg)	Osmolalidad urinaria ↓ (>100 mOsm/kg)

Tabla 2. Diagnóstico diferencial entre polidipsia primaria y patologías relacionadas con ADH a partir de la osmolalidad plasmática y urinaria.

TRATAMIENTO

En nuestro caso se basa únicamente en la restricción hídrica, con mejora objetiva de la paciente por los mecanismos compensadores del organismo. Además de la restricción hídrica, el tratamiento tiene que estar enfocado en el origen del consumo abusivo de agua, para lo que es fundamental analizar las causas que pueden dar luigar a estar patología y tratarlas adecuadamente.

- Psicoterapia

- Alternativa farmacológica en casos de xerostomía
- Tratamiento del tumor, enfermedad autoinmune, etc.

En caso de hiponatremia aguda (<110 mEq/L) se recomienda tratamiento de choque con suero salino hipertónico[3].

RESULTADO Y SEGUIMIENTO

La paciente mejora con restricción hídrica, aunque la mayoría de los episodios acaban en fuga o alta voluntaria.

DISCUSIÓN

Aunque la principal causa de polidipsia primaria es psicogénica, hay otros factores que pueden provocarla como la afectación del centro de la sed (hipotálamo) o la xerostomía que producen algunos fármacos. En pacientes psiquiátricos, esta polidipsia suele ser multifactorial: psicógena, farmacológica, por síndrome de secreción inadecuada de ADH (SIADH), entre otras[1].

Los mecanismos compensadores del organismo son la función hormonal, el sistema cardiovascular y el sistema renal; todos están relacionados, aunque el sistema renal es el que tiene mayor peso. Este sistema es capaz de formar hasta 15 litros de orina al día, 5 veces más concentrada o diluida que la sangre (50-1500 mOsm/L). Este dato se suma a la frecuencia de filtrado glomerular (se filtra todo el plasma alrededor de 60 veces por día) que nos da idea del potencial homeostático del sistema renal, además de la hormona antidiurética y la contracción o relajación de la arteriola aferente o eferente del glomérulo para variar la presión hidrostática y cambiar la cantidad de filtración de plasma en el glomérulo[4].

TRES MENSAJES PARA LLEVAR A CASA

- La potomanía es un problema multifactorial (comorbilidad):
  - Trastorno psiquiátrico
  - Patología hipotalámica
  - Fármacos
  - SIADH
- Se caracteriza por hiponatremia severa y osmolalidades plasmáticas y urinarias muy bajas.
- El tratamiento irá enfocado a la causa primaria que está provocando la potomanía, en nuestro caso fue suficiente un tratamiento sintomático basado en restricción hídrica.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Dundas B, Harris M, Narasimhan M. Psychogenic polydipsia review: Etiology, differential, and treatment. Curr Psychiatry Rep. 2007 Jun; 9(3):236-41.
2. Guyton AC, Hall JE. Tratado de fisiología médica. 12ª ed. Barcelona: Elsevier; 2008.
3. Librizzi MS, Auñón Rubio P, Torralba Morón A. *Trastornos del equilibrio hidroelectrolítico. Síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética. Fluidoterapia.* En: Suárez Pita D, Vargas Romero JC, Salas Jarque J, Losada Galván I, De Miguel Campo, Catalán Martín P, et al., editores. Manual de diagnóstico y terapéutica médica. 8ª ed. Madrid: Hospital Universitario 12 de Octubre; 2016. p. 1127-50.
4. Goldman MB, Luchins DJ, Robertson GL. Mechanisms of altered water metabolism in psychotic patients with polydipsia and hyponatremia. N Engl J Med 1988; 318(7):397-403.

BLOQUE IV

CALIDAD DEL LABORATORIO NORMA UNE-EN ISO 15189

UNE-EN ISO 15189: INSTALACIONES Y CONDICIONES AMBIENTALES. EQUIPOS DE LABORATORIO, REACTIVOS Y MATERIALES FUNGIBLES

Autores: Isabel Meana Baldomir, Daniel Párraga García

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Instalaciones y condiciones ambientales (Apartado 5.2 de la norma ISO 15189:2013)

Los laboratorios deben determinar, proporcionar y mantener la infraestructura necesaria para la operación de sus procesos y lograra la conformidad de los productos y servicios. En la edición vigente de la norma este apartado viene dividido en 6 grandes bloques que se irán desgranando a largo de este capítulo y que incluyen (Figura 5.2.1):

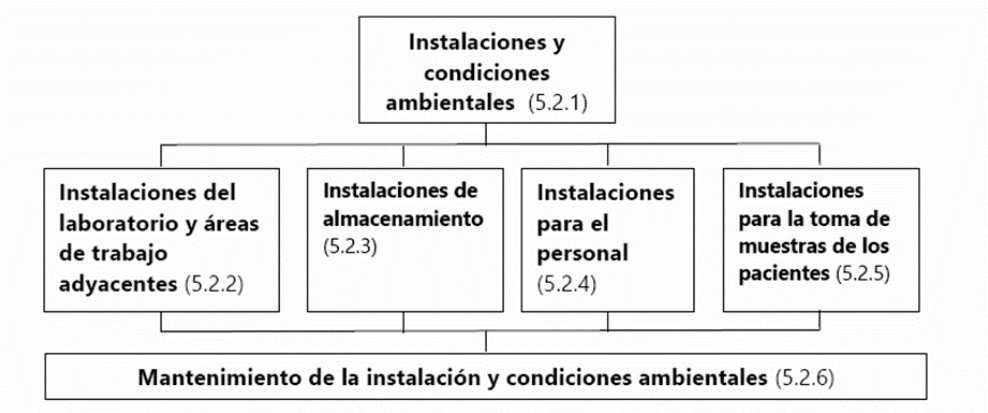


Figura 5.2.1. Bloques de la norma referidos a instalaciones y condiciones ambientales

La pregunta que surge inicialmente es la siguiente ¿Cómo cumpliremos con los requisitos de la norma? ¿Qué es lo que tenemos que hacer? Para conseguir este objetivo, es necesario el dominio de los siguientes conocimientos y tener presente en todo momento qué nos pide la norma.

En el primer epígrafe de este subapartado, 5.2 “Instalaciones y condiciones ambientales”, la norma indica que el laboratorio debe disponer de un espacio diseñado para garantizar la calidad, seguridad y eficacia del servicio proporcionado a los usuarios y asimismo ofrecer un entorno de salud y seguridad tanto al personal del laboratorio como a los pacientes y visitantes.

Además, establece que el laboratorio es el responsable de evaluar que el espacio destinado para la realización del trabajo es suficiente y adecuado.

En relación con este punto, a modo de ejemplo, el Hospital Universitario 12 de Octubre cuenta con un área preanalítica dividida en dos áreas claramente diferenciadas, un área de muestras y un área de pacientes. El área de muestras o de preanalítica propiamente dicha, es una de las áreas transversales que comparten todos los laboratorios y por tanto, único punto de recepción y envío de muestras y su alto grado de automatización permite una distribución rápida, trazable y eficaz de las muestras a los diferentes laboratorios. Respecto al área de pacientes, la norma en el subapartado 5.2.5 relativo a las “Instalaciones para la toma de muestras de los pacientes”, indica que se debe disponer de zonas separadas para la recepción/sala de espera y para la toma de muestra. Además, indica que se deben tener en cuenta las discapacidades, comodidad y privacidad de los pacientes y la existencia de un espacio adecuado para la persona acompañante (por ejemplo, tutor o intérprete) durante la toma de la muestra. Así, la sala de extracciones de Hospital Universitario 12 de Octubre cuenta con boxes individuales que permiten realizar la toma de muestra de forma adecuada, y que cuentan además con espacios amplios que posibilitan el acompañamiento del paciente durante la toma de muestra y en los cuales se respeta la intimidad y privacidad del paciente.

En este punto, la norma también indica que las instalaciones para toma de muestra deben disponer de equipos de primeros auxilios (carro de paradas y desfibriladores), apropiados para las necesidades de los pacientes y del personal clínico y deben encargarse además de su mantenimiento. Estos dispositivos móviles, por tanto, deberán llevar adherido su plan/registros de mantenimiento donde se indique cómo llevar

a cabo de forma sistemática la revisión periódica de su contenido y el mantenimiento de este. En la revisión se ha de comprobar que se cuenta con todo el material (medicación, material sanitario y aparataje) y que éste se encuentra en condiciones óptimas para su utilización, para evitar que cuando se precise, este caducado o falte lo necesario para manejar situaciones de urgencia vital.

En el segundo epígrafe 5.2.2 “Instalaciones del laboratorio y áreas de trabajo adyacentes” la norma hace referencia a varios aspectos que el laboratorio debe asegurar en relación con sus instalaciones. Se indica que los laboratorios deben contar al menos con 2 áreas diferenciadas: un área de trabajo o de análisis y procesamiento de las muestras y un área auxiliar con diferentes espacios destinados a funciones administrativas o de apoyo (almacenes, salas de espera, salas de reuniones y docencia, despachos, habitaciones de descanso para el personal, vestuarios aseos o pasillos). Esta diferenciación de áreas permite separar zonas de mayor riesgo de zonas de menor riesgo, lo que contribuye a alcanzar el máximo de seguridad, eficacia y funcionalidad de los espacios.

En lo que respecta a las áreas auxiliares, la norma en el subapartado 5.2.4 relativo a las “Instalaciones para el personal” hace referencia a varias necesidades que deben cubrirse para asegurar la comodidad y seguridad del personal del laboratorio. Algunas de sus especificaciones son de obligado cumplimiento, como la existencia de un acceso adecuado a los lavabos, a un suministro de agua apta para el consumo y a las instalaciones para el almacenamiento del equipo de protección personal y la vestimenta. En caso de que sea posible, el laboratorio deberá proporcionar el espacio para las actividades del personal tales como las salas de reuniones o un área de descanso

Respecto a las áreas de trabajo, la norma indica que se ha de controlar el acceso a las áreas del laboratorio. Un aspecto de vital importancia ya que contribuye a asegurar que la calidad de los análisis, las muestras de los pacientes, los recursos del laboratorio y la información clínica están protegidos. Para garantizar esta protección, en los diferentes accesos a las áreas de trabajo, los laboratorios pueden disponer de puertas de seguridad de apertura mediante tarjeta de identificación personal sólo facilitada a los profesionales sanitarios.

Otro aspecto que el laboratorio debe contemplar y así lo indica la norma en el subapartado 5.2.5. es el de asegurar el correcto estado de las instalaciones. Entre las instalaciones a verificar se incluyen: fuentes de energía, iluminación, ventilación, agua, desecho de residuos, condiciones ambientales y control del ruido. Este último se incluye como novedad respecto a la edición anterior de la norma. Al respecto, para aquellos laboratorios que presenten un alto grado de robotización y un gran trasiego de personal, los estudios de ruido ambiental que se realicen durante su funcionamiento han de indicar que los niveles detectados no superen los límites establecidos en la reglamentación vigente.

En relación con este punto, habrá determinadas técnicas que para su correcto funcionamiento nos exijan trabajar bajo unas condiciones ambientales cuidadosamente controladas, y por tanto, para la correcta realización de los análisis habrá que contemplar aspectos tales como aislamiento, ausencia de vibraciones, acceso a determinados suministros...). Por ejemplo, la localización de una Unidad de Espectrometría de masas en el Área de bioquímica especializada exige contar con un espacio propio, independiente, precisamente para garantizar los aspectos mencionados además de otras prescripciones técnicas muy específicas relativas a la climatización, a la conexión de los distintos suministros (red eléctrica, gases, disolventes, etc.), y el acceso a sistemas de evacuación de residuos o de extracción de gases cumpliendo con la legislación vigente.

También, en este punto la norma indica que debe existir un sistema de comunicación factible dentro del laboratorio adecuado al tamaño y complejidad de la instalación, para asegurar la transferencia eficaz de información (por ejemplo, si los laboratorios están ubicados en los diferentes pisos de una torre, mediante ascensores que comuniquen entre sí los diferentes laboratorios, además de un ascensor interno que les comunique con el área de preanalítica).

Y por último la norma también dice que el laboratorio debe asegurar que se han proporcionado las instalaciones y dispositivos de seguridad adecuados. En este sentido, un laboratorio de microbiología, dada la naturaleza de las muestras que maneja, debe establecer un Manual de Seguridad en el que describan una serie de medidas para la prevención de riesgos derivados del trabajo, así como protocolos de actuación en caso de accidente biológico, y “Todas las personas que desarrollan su labor en las áreas deberán disponer de un ejemplar actualizado y es responsabilidad de cada persona conocerlo y aplicarlo”.

En los laboratorios de microbiología además existen diferentes niveles de bioseguridad en función del riesgo asociado a determinadas actividades que se realizan en las áreas de trabajo y que suponen la manipulación de diferentes agentes biológicos. Esta situación se presenta, por ejemplo, en el área de Micobacterias que

debe contar con un laboratorio de nivel de seguridad P3. Se trata de una instalación de alta seguridad biológica, dotada de medidas de contención adecuadas para el manejo de agentes biológicos causantes de graves infecciones y fácilmente transmisibles, como es el caso en el ejemplo que nos ocupa del *Mycobacterium tuberculosis.* Son 4 los niveles de bioseguridad, en orden ascendente según el grado de protección. Entre las principales medidas preventivas a aplicar para este nivel de bioseguridad P3 están: el establecer un acceso controlado al laboratorio, la utilización de cabinas de seguridad biológica (CBS), contar con sistemas de ventilación con gradiente de presión negativa para crear un flujo de aire dirigido al interior de la instalación que minimice la liberación de aerosoles infecciosos desde el laboratorio y además adoptar las medidas de protección individual necesarias.

En el subapartado 5.2.3 "Instalaciones de almacenamiento", la norma indica claramente cómo tiene que ser el espacio destinado al almacenamiento de muestras y dice que: "el laboratorio debe disponer de un espacio y las condiciones de almacenamiento y conservación adecuados, que aseguren la integridad permanente o al menos a largo plazo de los materiales: muestras, equipos, reactivos, materiales fungibles, documentos, registros y cualquier otro artículo que pueda afectar a la calidad de los resultados del análisis. Aunque, no indica cómo debe hacerse este almacenamiento y conservación. Los laboratorios deben disponer de espacios de almacenamiento situados dentro del área de trabajo, para reducir al mínimo el desplazamiento del personal. Se trata de espacios de almacenamiento tanto para las muestras como para los residuos posteriores generados tras su procesamiento. Se pueden distinguir dos tipos de áreas de almacenamiento: áreas de almacenamiento refrigerado y no refrigerado.

Para cumplir con este requisito de la norma y asegurar la integridad permanente de estos materiales el laboratorio debe contar con sistemas de control y registro de las condiciones ambientales que garanticen el cumplimiento de las condiciones de conservación. Generalmente estas condiciones deben ser controladas en continuo, por lo que resulta muy útil disponer de sistemas de medición y registro automáticos. A modo de ejemplo, la estrategia seguida en el Hospital Universitario 12 de Octubre para el control de temperatura de equipos isotermos consiste en la instalación de la aplicación informática "Sirius" en todos los laboratorios, que permite controlar las temperaturas de estufas, refrigeradores y congeladores, sumando un total de 184 equipos pertenecientes a los 7 laboratorios. La aplicación, a través de sondas acopladas al exterior de cada equipo, identifica cualquier equipo en el que se haya producido una alerta por presentar una temperatura fuera de su rango permitido, y para estos casos existe a su vez un plan de contingencia que indica qué hacer en estas situaciones.

En este mismo epígrafe, la norma indica que las instalaciones de desecho de los materiales peligrosos deben ser apropiadas a los riesgos de los mismos, y según indique la reglamentación pertinente. En este sentido, el laboratorio de microbiología deberá disponer de un procedimiento específico para la gestión de sus residuos con el fin de minimizar la exposición del personal a un riesgo o amenaza biológica derivado de la naturaleza de las muestran que se manejan. Por supuesto, el personal del Laboratorio de Microbiología está obligado a conocer y cumplir las normas que en él se indican.

Respecto a la gestión de residuos, cada hospital debe contar con su propia política medioambiental que ha de estar regulada y constar como norma general, siendo de aplicación a todas las personas que trabajen en el Hospital. Para la eliminación de residuos, el organismo de gestión ambiental ha de elaborar una Instrucción Técnica y pictogramas indicativos en formato póster para su distribución en los laboratorios y así facilitar la formación del personal.

La norma en el epígrafe 5.2.6 hace referencia al "Mantenimiento de la instalación y condiciones ambientales" e indica que: el laboratorio debe realizar un seguimiento, control y registro de las condiciones ambientales prestando especial atención a factores tales como la iluminación, temperatura, esterilidad, logística del flujo de trabajo, entre otros, siempre que puedan influir negativamente sobre la calidad de la muestra, los resultados o salud del personal. En relación con este punto, el laboratorio de microbiología deberá disponer de un espacio específico para la recepción de muestras y de un área contigua de siembra y pre-procesamiento que deberá situarse a la entrada del laboratorio, de manera que las muestras se depositen sin necesidad de acceder a las áreas internas. Próxima a las áreas de trabajo, el Área de limpieza de material y esterilización debe ser un área diferenciada dentro del laboratorio, de acceso restringido y por ser el lugar en el que se ubica el autoclave, deberá situarse cerca de una salida de emergencia.

Además, en este mismo subapartado, la norma indica que las instalaciones del laboratorio se deben mantener en una condición funcional y fiable y se debe asegurar que las áreas de trabajo estén limpias y bien mantenidas. También, indica que se debe documentar como llevar a cabo la limpieza diaria de las áreas de trabajo, y como formar al personal para llevar a cabo esa limpieza de forma adecuada.

Por último y no menos importante, la norma hace hincapié en este punto en la necesidad de que exista una separación eficaz entre las secciones del laboratorio en las que se realizan actividades incompatibles. Indica que deben existir procedimientos implantados para impedir la contaminación cruzada, bien cuando los procedimientos analíticos representen un peligro o bien, cuando el trabajo pudiera resultar afectado o influido por el hecho de no estar segregado. En los laboratorios de diagnóstico molecular, la contaminación cruzada es uno de los principales problemas que nos podemos encontrar derivado de las técnicas de amplificación, que puede trasladar resultados falsos positivos y comprometer la integridad del diagnóstico. Para minimizar este riesgo, el laboratorio debe tener una organización que asegure una estricta separación física entre el área pre-PCR o zona de extracción de los ácidos nucleicos y el área post-PCR o zona de amplificación.

Equipos de laboratorio, reactivos y materiales fungibles (Apartado 5.3 de la norma ISO 15189:2013)

El laboratorio debe asegurar que los equipos del laboratorio y el material necesario para trabajar con ellos, tanto directa como indirectamente, se encuentra en las condiciones óptimas para la obtención de resultados fiables. Debido al incremento de la complejidad de los laboratorios y sistemas empleados, es necesario establecer unos requisitos específicos cada vez más desarrollados, dirigidos al uso y gestión de los equipos y de los materiales utilizados.

En el primer epígrafe de este subapartado, 5.3.1 “Equipo”, la norma indica que el laboratorio ha de elaborar un procedimiento documentado para la selección compra y gestión de equipos y además el laboratorio ha de estar dotado de todo el equipamiento necesario para la provisión de servicios, que a efectos de la acreditación serán aquellos servicios incluidos en el alcance que se vaya a acreditar. Para cumplir con este requisito se puede disponer de un único documento o bien de varios que incluyan esta información.

Además, se debe disponer de un listado de equipos que incluya a todos los utilizados (analizadores, pipetas, centrífugas, refrigeradores, etc.) y por supuesto el software que se utilice (para registro de personal, para los datos de información...), ya que también es considerado equipo de laboratorio.

Con respecto a los EQUIPOS DE LABORATORIO, la norma divide este epígrafe en 6 grandes bloques en los que se tienen en cuenta dos aspectos fundamentales, los requisitos para la selección y adquisición de los equipos, y los correspondientes a su gestión (Figura 5.3.1):

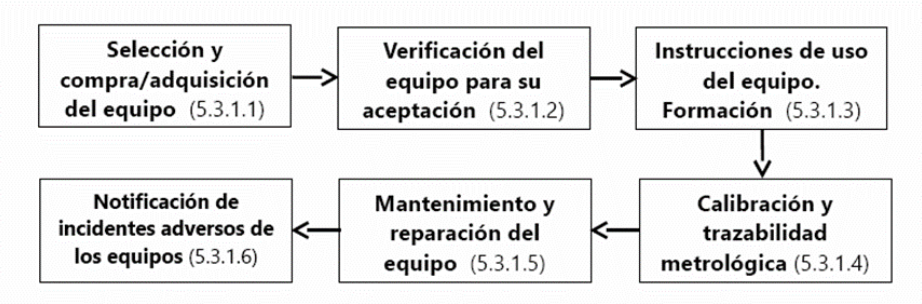


Figura 5.3.1. Bloques de la norma referidos a equipos de laboratorio.

De acuerdo con este esquema, el laboratorio selecciona los equipos que necesita, en el sistema público generalmente mediante concurso. Las empresas de diagnóstico se encargan de instalar el equipo y verifican que cumple los criterios de aceptación establecidos dejando constancia al laboratorio de las verificaciones efectuadas según los protocolos establecidos para cada equipo. Como se explicará en capítulos posteriores al hablar de los procedimientos analíticos, es necesario siempre verificar los métodos que se utilicen. Por otra parte, a criterio del laboratorio se elaborarán si se considera conveniente, instrucciones técnicas para el manejo del equipo o bien se utilizará directamente el manual del propio equipo y se realizará siempre la formación de las personas que vayan a utilizarlo. Se debe notificar y hacer constar los incidentes que se produzcan en estos equipos ya sea mediante reclamaciones, no conformidades o la forma que se establezca. En este capítulo se abordará el mantenimiento de equipos, mientras que los aspectos relativos a calibración y trazabilidad metrológica se tratarán ampliamente en el capítulo “Procesos Analíticos” correspondiente al subapartado 5.5 de la norma.

La norma en el epígrafe 5.3.1.5 relativo al Mantenimiento y Reparación de Equipos establece que el laboratorio debe disponer de un programa documentado de mantenimiento preventivo que como mínimo siga las instrucciones del fabricante y con el objetivo de mantener el equipo en condiciones seguras y en

perfecto estado de funcionamiento. Este documento deberá recoger cómo se realizan los mantenimientos, ya sea una verificación, una calibración o un mantenimiento preventivo, así como los criterios de aceptación de estos.

En este sentido, anualmente se han de verificar los equipos isotermos, centrífugas, etc. siguiendo los criterios establecidos por ENAC, siempre que la ENAC disponga de esta documentación. También, se han de calibrar anualmente las pipetas y balanzas por un laboratorio acreditado por ENAC cómo nos indica la norma. Se han de realizar mantenimientos preventivos en los periodos de tiempo establecidos y también mantenimientos correctivos. Por supuesto, siempre que el equipo se halle en estado defectuoso se debe retirar del servicio y se debe etiquetar claramente como “NO APTO PARA SU USO”

En relación con esto, el servicio de electromedicina del Hospital Universitario 12 de Octubre, se encarga de llevar a cabo esas verificaciones y ha elaborado un calendario anual de mantenimientos de los equipos del laboratorio. Se trata de un listado en formato Excel en el que se indica la frecuencia y fecha prevista para la próxima verificación/calibración o mantenimiento preventivo. El servicio de electromedicina vincula el informe de resultados del mantenimiento efectuado a un equipo al registro del equipo en este listado, pudiendo acceder a través del link a dicho informe. A través de esta estrategia se asegura la conservación de esta información y a su vez que ésta sea fácilmente accesible para el área de calidad.

Este es un punto muy importante para considerar, y puede ser origen de NO CONFORMIDADES MAYORES en la auditoria. Por ejemplo, en relación con la verificación de los equipos auxiliares (pipetas, balanzas) se detecta que:

Para dar respuesta a estas preguntas, la norma recomienda basarse en documentación específica publicada por la propia ENAC al respecto, o en su defecto basarse en criterios aceptados por Sociedades Científicas u otros organismos reconocidos internacionalmente. Así, en el caso particular de los equipos isotermos la ENAC dispone de una nota informativa en la que se indica como llevar a cabo la verificación de estos equipos, cuáles son los requisitos o factores a considerar en su verificación, además de establecer los criterios de aceptación y rechazo de estas verificaciones. Esta información se ha de incorporar a nuestro procedimiento lo que dará lugar a una nueva edición del mismo y además, tras la auditoria se han incluir aquellos aspectos/ítems que no habían sido contemplados en el informe de verificación inicial de estos equipos. Una vez actualizado con las modificaciones incorporadas en nuestro procedimiento se puede dar por cerrada la NO CONFORMIDAD.

La calibración de equipos es otro de los puntos clave que puede dar origen a NO CONFORMIDADES en la auditoria. Los laboratorios acreditados son los únicos que garantizan la trazabilidad y fiabilidad de los resultados de las calibraciones.

Así se recoge en la nota correspondiente a La Política de trazabilidad metrológica de la ENAC en la que se indica que ENAC sólo aceptará “Los certificados de calibración externa que incluyan la marca de acreditación ENAC o de cualquier organismo de acreditación con que ENAC haya firmado un acuerdo de reconocimiento (EA, ILAC, …) o haber sido emitidos por laboratorios nacionales firmantes del acuerdo de reconocimiento mutuo de CIPM”.

Otra posible NO CONFORMIDAD a la que podemos incurrir relacionada también con el proceso de calibración, es que no se han documentado los criterios de aceptación y rechazo de las calibraciones de los equipos auxiliares y tampoco hay constancia de cómo se había llevado a cabo la evaluación de los resultados de estas.

Al igual que se planteó para el proceso de verificación, en este caso para conseguir esa información, se puede recurrir a las recomendaciones aceptadas por la SECQ (Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular) para la calibración de material volumétrico y balanzas. En estos documentos se indica cómo llevar a cabo el procedimiento de calibración y cuáles son los criterios de aceptación y rechazo para estas calibraciones. Tras incorporar a nuestro procedimiento de calibración esta información se puede dar por cerrada esta NO CONFORMIDAD.

En los laboratorios del Hospital 12 de Octubre la calibración de pipetas es realizada por un laboratorio acreditado por ENAC. En el informe de calibración, para cada punto de calibración se calcula el error sistemático y la incertidumbre de medida del instrumento. Datos a partir de los cuales se puede determinar el error máximo permitido (EMP) en cada punto de calibración, lo que permite establecer unos criterios de aceptación y de rechazo de las calibraciones. Dependiendo de su valor se puede establecer una categorización de las pipetas, lo que determinará para qué uso puede destinarse y para cuáles no.

En el subapartado 5.3.2 correspondiente a reactivos y materiales fungibles, al igual que en el caso de los equipos de laboratorio, la norma indica que “el laboratorio debe disponer de un procedimiento documentado para la adquisición, recepción, almacenamiento, ensayo y gestión de los reactivos y el material fungible”.

En nuestro medio son los supervisores los encargados de la gestión de reactivos y material fungible siempre a propuesta de los facultativos y siguiendo la normativa del hospital.

Una vez adquirido el reactivo o el material fungible, el laboratorio debe comprobar a la recepción si durante el transporte se han mantenido las condiciones de conservación especificadas por el fabricante, así como la integridad del mismo. El laboratorio debe establecer, por tanto, unos criterios de aceptación/rechazo y evaluar permanentemente a los proveedores, registrando cualquier incidencia detectada o eventuales incumplimientos de contratos.

Además, la norma indica que, estos incidentes han de ser investigados y comunicados a los fabricantes y autoridades pertinentes. Ante una incidencia no resuelta o reiterativa, ésta debe ser comunicada al Servicio de Suministros que debe contactar con el laboratorio de diagnóstico para intentar solucionarlo y evitar de este modo que se repita. Por otra parte, anualmente, este servicio ha de evaluar a los proveedores y remitir la evaluación a los laboratorios. Aunque lo habitual es que no se registren quejas, en aquellos casos en los que la evaluación haya sido negativa, si procede se deberán emprender las medidas correctivas oportunas.

Respecto al almacenamiento de los reactivos y material fungible, la norma indica que el laboratorio debe almacenar los reactivos y materiales fungibles recibidos de acuerdo con las especificaciones del fabricante, que deberán estar fácilmente accesibles a todo el personal del laboratorio.

Para finalizar, la norma también indica que: “El laboratorio debe establecer un sistema de control del inventario para los reactivos y materiales fungibles”. Así como definir una sistemática que priorice el consumo en orden a su caducidad. Esto implica la elaboración de un registro para el control de los lotes de los reactivos y materiales que se poseen en el almacén, en el que figure su fecha de recepción, fecha de caducidad, número disponible, etc. ya sea en formato papel, que es lo habitual o idealmente en formato electrónico para la gestión del stock de reactivo.

UNE-EN ISO 15189: PERSONAL

Autores: Diego Tuñón Le Poultel, Daniel Párraga García

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Uno de los apartados de requisitos técnicos de la norma ISO 15189 es el de personal. Durante el presente capítulo, se repasarán sus nueve puntos. El primero de ellos establece que para indicar el cumplimiento de los requisitos, el laboratorio debe disponer de un procedimiento que establezca cómo se gestiona al personal y, además, cómo se mantienen sus registros. Sin embargo, cada laboratorio puede decidir cómo. En nuestro laboratorio, se ha creado un procedimiento técnico para la gestión de los recursos humanos, un documento que integra a los servicios de Bioquímica, Hematología, Microbiología, Genética e Inmunología. En él, se describe al personal como el activo más valioso del servicio, siendo el equipo humano el elemento clave para la calidad, eficiencia y productividad del mismo.

A su vez, es un requisito del sistema de gestión de la calidad que la dirección del laboratorio documente la cualificación del personal para cada puesto. Se debe reflejar la educación académica, la formación, la experiencia apropiada y la capacitación demostrada necesaria, siendo apropiada para las tareas realizadas. A lo largo del texto se verá como el laboratorio se asegura de que el personal que trabaja en cada área de conocimiento tiene formación suficiente para desempeñar el puesto.

La norma establece que el laboratorio debe disponer de las descripciones de todos los puestos de trabajo y que se describan las responsabilidades, niveles de autoridad y tareas para todas las categorías profesionales. Por ejemplo, y como se describe en el debido procedimiento técnico, el responsable de la calidad depende jerárquica y funcionalmente de su jefe de servicio. Se ha descrito que entre sus funciones están supervisar el sistema de gestión de la calidad (SGC), gestionar la calidad en todas las etapas del proceso analítico, el cumplimiento y control de los registros del personal. En caso de coordinar todos los laboratorios, elaborará y mantendrá actualizado el manual de la calidad, los procesos y la documentación común. Como titulación, se requiere ser facultativo especialista con formación en calidad. Otro ejemplo será el técnico especialista en laboratorio, que tendrá dependencia jerárquica del supervisor del área y funcional del jefe de sección o facultativo. Sus tareas generales son las correspondientes por estatuto y legislación debidamente recogidas en el Boletín Oficial del Estado, como pueden ser la recepción e identificación de muestras, recogida de tiempos y temperatura en el transporte, tratamientos previos, alícuotas y almacén. Como titulación se requiere formación profesional.

Como se puede ver en el organigrama (Figura 1), la distribución de los recursos humanos se da en tres grandes ramas. El personal facultativo, incluidos residentes, depende jerárquicamente de la dirección médica y directamente del jefe de servicio. El personal de enfermería, es decir, enfermeros, técnicos y auxiliares de enfermería dependen jerárquicamente del director de enfermería y directamente del supervisor. El personal administrativo depende jerárquicamente de la dirección de gestión en recursos humanos, y directamente del coordinador de auxiliares administrativos. En cuanto a los niveles de autoridad entre las distintas categorías profesionales del laboratorio, es importante diferenciar la dependencia jerárquica, en azul, de la funcional, en rojo. Funcionalmente, todo el personal depende del jefe del servicio al que se incorpora, o de la jefatura de sección, o del facultativo responsable.

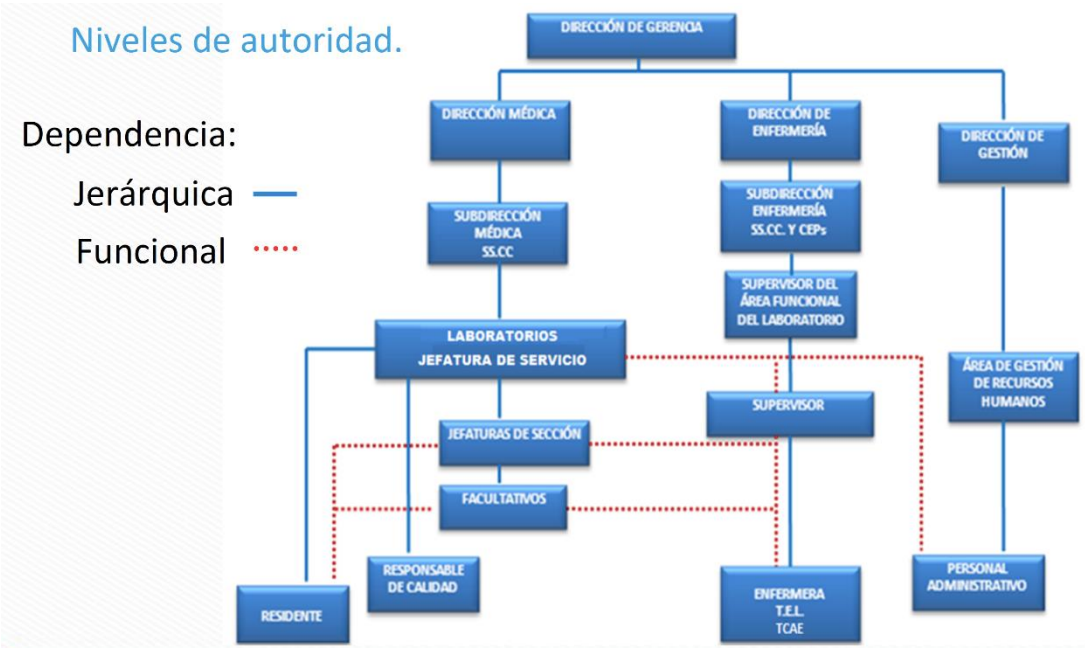


Figura 1. Organigrama del personal del laboratorio y sus dependencias jerárquicas y funcionales.

Si continuamos revisando, la norma dice que el laboratorio debe disponer de un programa para introducir al personal nuevo a la organización, al departamento o al área en que la persona trabajará, los periodos y condiciones laborales, las instalaciones del personal, los requisitos de salud y seguridad laboral (incluyendo la actuación en caso de incendio y emergencia) así como los servicios de salud ocupacional. En nuestro caso, estos requisitos los tenemos recogidos en el manual de acogida de nuevo personal. Nuestro manual de acogida recoge aspectos muy diversos y de gran utilidad para el personal que se incorpora. Aporta información para el acceso a las instalaciones, la obtención del número de empleado y usuario informático. Un aspecto muy importante cuando alguien se incorpora al puesto de trabajo es saber que la información y datos que va a manejar son estrictamente confidenciales. En nuestro hospital, el Servicio de Personal obliga a firmar un documento de confidencialidad a todos los trabajadores que se incorporan. En el manual también se describe una breve historia del Hospital Universitario 12 de Octubre, donde actualmente trabajan coordinados más de 6000 empleados, junto con su misión, visión y plan estratégico. Además, se proporciona la normativa legal vigente que puede ser de interés relativa a los recursos humanos, el sistema informático del laboratorio junto con el sistema de gestión de la calidad, los periodos y condiciones laborales, las opciones formativas, etc. En cuanto a la seguridad en el laboratorio se presta atención a la seguridad del trabajador, con interés en las buenas prácticas profesionales, es decir, minimizando la exposición a riesgos. La responsabilidad para con la inmunización, gestión de incidentes y accidentes y la ergonomía recae en el servicio de prevención de riesgos laborales. En la intranet del hospital está disponible el plan de autoprotección, que tiene por objeto salvaguardar la seguridad de las personas ante catástrofes internas, incendio, amenaza de bomba, riesgos radiológicos.

Por otra parte, la norma establece que el laboratorio debe proporcionar formación para todo el personal que incluya el sistema de gestión de la calidad, los procesos y procedimientos de trabajo asignados, el sistema aplicable de información del laboratorio, la salud y seguridad (contención y prevención de incidentes), la ética y la confidencialidad de información del paciente. Se considera que el personal que esté en formación debe estar supervisado. A su vez, la eficacia del programa de formación se debe de revisar periódicamente. Como se verá a continuación, en la formación continuada anual que se imparte se hace hincapié en estos aspectos. Cuando llega un nuevo profesional a un laboratorio, el facultativo o supervisor encargado le entregará una serie de conocimientos teóricos y prácticos contenidos en la ficha asignada al puesto. La formación técnica y práctica se llevará a cabo por tutorización por otro profesional veterano, observación de tareas a compañero, reuniones con supervisor o formación por facultativo. Constará en la ficha asignada a la persona. Los laboratorios tienen descritos en fichas los diferentes puestos de trabajo y las competencias teóricas y prácticas asociadas a dichos puestos. En el caso de un técnico de cáncer hereditario tendrá una competencias generales y específicas. Una vez pasado el tiempo de formación, que está establecido en función del puesto y que puede llegar a ser, como en este caso, de 3 meses debido a la complejidad de las

técnicas, se procederá a la comprobación de la adquisición de conocimientos requeridos evaluando a la persona como competente o no para el puesto.

En nuestro hospital las posibilidades de acceso a actividades formativas son muy amplias. En nuestro caso, sesiones establecidas en los laboratorios, sesiones hospitalarias semanales. Las empresas de diagnóstico también organizan cursos formativos para el personal, cursos organizados por el hospital y por la consejería de la Comunidad de Madrid. El laboratorio realiza cursos acreditados como formación continuada, que posteriormente se comentará. Después de recibir la formación, se debe evaluar la competencia de la persona que realiza las tareas asignadas de acuerdo con los criterios establecidos, que son, la reevaluación debe tener lugar a intervalos regulares y la nueva formación se debe realizar cuando sea necesario. Así, el laboratorio se asegura de que el personal que trabaja en cada área de conocimiento tiene formación suficiente para desempeñar el puesto.

La norma establece varios criterios para evaluar al personal, como observar los procesos y procedimientos junto con las prácticas de seguridad. (Por ejemplo, manejo de muestras como líquidos cefalorraquídeos siempre con guantes), comprobar el mantenimiento y funcionamiento con los equipos, seguir el registro y comunicación de los resultados de los análisis, la revisión de los registros de trabajo, la evaluación de la capacidad de resolver problemas y el análisis de muestras como controles externos, muestras en paralelo. Sin embargo, uno se puede preguntar cuándo se debe de realizar la evaluación de la competencia. Como dicta la norma, el personal es evaluado tras finalizar la formación. Por ejemplo, tras un cambio a un nuevo puesto, se realizará la formación y se evaluará la capacitación. Además, como se describe en el procedimiento sobre recursos humanos, será reevaluado tras ausencias prolongadas, cuando sea necesario a criterio del evaluador o siempre que el profesional considere necesario refrescar sus conocimientos en las nuevas tecnologías, equipamientos o procedimientos de trabajo.

El laboratorio evalúa la competencia de cada persona en función de la cualificación necesaria para el puesto y los resultados del adiestramiento recibido. Por ejemplo, en la ficha del puesto de técnico de orinas está reflejado que tendrá unas competencias específicas teóricas de conocimientos para el análisis de orinas y competencias específicas prácticas de manejo de los equipos y muestras. La capacitación de cada técnico de orinas se realizará individualmente. Se evaluará su habilidad en cuanto a seis categorías (equipo, material de trabajo, muestra, controles, análisis del sedimento y seguridad). Se considerará que la formación ha sido satisfactoria si es apto en al menos cinco de las seis categorías. En caso contrario, se repetirá la formación.

La norma dice que además de la competencia técnica, se deben revisar las necesidades tanto del laboratorio como del individuo, con la finalidad de mantener o mejorar la calidad del servicio prestado a los usuarios y fomentar las relaciones de trabajo productivas. Por ello, el personal que realiza las revisiones ha de tener su formación actualizada, al igual que se realizan reuniones de guardias periódicas para revisar el normal desarrollo del desempeño del personal.

Otro requisito de la norma es que debe existir un programa de formación continua para el personal, y que este debe tomar parte en él además de participar en programas regulares de desarrollo profesional u otras actividades de organizaciones profesionales. Igualmente, se debe revisar periódicamente su eficacia. Para ello, el laboratorio dispone de cursos anuales acreditados para el personal facultativo, para la actualización de los técnicos especialistas y para el personal de enfermería. Los programas se revisan, estando actualizado en los puntos que dicta la norma, para facilitar siempre la mejora. Se evalúa su eficacia en cada curso realizado un cuestionario al finalizar, mediante entrevista o revisando la capacitación.

En cuanto a los registros de personal, se deben mantener siempre accesibles documentos que demuestren, entre otros: la educación académica y profesional pertinente, junto con su título, que establecerá su categoría, experiencia en empleos anteriores, recogida es su currículum vitae, descripciones de los puestos en los que ha trabajado en el laboratorio, registro de entrega del manual de acogida del nuevo personal, de la formación realizada junto con las evaluaciones de su competencia, los cursos de formación continua en los que ha participado así como las revisiones del desempeño. El servicio de prevención de riesgos laborales será responsable de mantener los informes de accidente y exposición a riesgos junto con el estado de inmunización, cuando sea pertinente a las obligaciones asignadas.

En nuestro laboratorio, se dispone de una base de datos relacional con acceso de usuario controlado y se realiza copia de seguridad para el control de todos los registros del personal. Se tiene un listado que cuenta con todos los profesionales, al día en altas y bajas. En la ficha de cada uno está recogido su currículum vitae, sus competencias, capacitaciones, titulación académica junto con la formación anual en la que ha participado, tanto planificada como no planificada, historial, formación continuada realizada, cualificación, adiestramiento y valoración de la competencia en el puesto de trabajo. En el punto de la cualificación y

adiestramiento de la ficha se refleja el perfil de su puesto de trabajo y los conocimientos que el profesional ha de tener o adquirir para el desempeño. En él también queda constancia de cuándo y quién fue responsable de llevar a cabo este aprendizaje, identificado con el número de empleado.

UNE-EN ISO 15189: PROCESOS PREANALÍTICOS

Autores: Irene Hidalgo Mayoral, Daniel Párraga García

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Introducción

La norma UNE-EN ISO 15189:2013 define el proceso preanalítico como aquellos "Procesos que comienzan cronológicamente a partir de la petición del médico clínico e incluyen la petición de los análisis, la preparación e identificación del paciente, la toma de la(s) muestra(s) primaria(s), el transporte hasta el interior del laboratorio, recepción, alicuotado y distribución de las muestras a las unidades destinatarias responsables del análisis y que terminan cuando comienza el proceso analítico".

Es un proceso muy complejo y crucial ya que es el momento en el que mayor número de personas van a intervenir, y en el que se concentran la mayor parte de los errores de laboratorio. Se estima que entre un 70-75 % de los errores de laboratorio se deben a fallos en el proceso preanalítico. Así, la detección y prevención de estos errores es una de las estrategias claves para asegurar la calidad del laboratorio.

En este sentido resulta de gran importancia elaborar un mapa de procesos del proceso preanalítico, que contemple el flujo de trabajo y el personal que interviene en cada etapa, y disponer de procedimientos documentados que describan la organización y el desarrollo de las diferentes actividades. La gestión documental es interesante realizarla en soporte informático, ya que resulta más fácil de controlar y actualizar que la información distribuida en papel.

Deben recogerse los principales puntos: solicitud de la petición analítica, obtención de la muestra, transporte, recepción, distribución y conservación.

Solicitud de la petición analítica

El laboratorio debe tener información disponible para los pacientes y usuarios de los servicios del laboratorio. La información debe incluir:

- Información sobre el laboratorio: ubicación, horario de apertura, extracción y recepción de muestras, personal y teléfono de contactos, política de protección de información personal y política de gestión de reclamaciones.
- Información acerca de las actividades preanalíticas: instrucciones para cumplimentar la hoja de petición, la preparación del paciente, la toma de muestras, transporte y conservación, criterios de aceptación y rechazo, requerimiento o no de consentimiento informado.
- Información acerca de la determinación analítica: información acerca de la determinación analítica, tipo de muestra y volumen requerido, precauciones especiales, factores conocidos que influyan en el desempeño o interpretación de los resultados, plazos de entrega de resultados, intervalos de referencia o valores de decisión clínica debidamente justificados.

Una forma de recopilar dicha información para los profesionales sanitarios es mediante la Cartera de Servicios, que debe ser revisada y actualizada de forma periódica. Un parámetro interesante de contemplar en la Cartera de Servicios es el código LOINC (*Logical Observation Identifier Names and Codes*), que relaciona de forma inequívoca una determinación analítica con un código numérico único y universal, permitiendo el intercambio electrónico de información normalizada entre diferentes territorios e independientemente del idioma.

Para los pacientes, una forma de recopilar la información pertinente es a través de dípticos informativos, en los que se incluyan aspectos importantes como la ubicación, teléfonos de información, horarios y funcionamiento de la sala de extracciones.

La norma UNE-EN ISO 15189:2013 define cómo debe realizarse la petición analítica, y la información mínima necesaria que debe aparecer. Puede realizarse en soporte papel o mediante petición electrónica, y debe incluir:

- Identificación del paciente, incluyendo sexo, fecha de nacimiento y detalles de contacto, así como un identificador único (por ejemplo, número de historia del hospital o nº de tarjeta sanitaria).
- Identificación del personal peticionario y del destinatario del informe, junto con detalles de contacto.

- Información clínica relevante para la interpretación de los resultados de las pruebas analíticas.
- Análisis objeto de la petición.
- Tipo de muestra requerida.
- Fecha de la toma y recepción de la muestra primaria.

Obtención de la muestra

El laboratorio debe disponer de procedimientos documentados para la toma y manipulación apropiadas de las muestras primarias. Estos procedimientos deben estar disponibles para los responsables de la toma de la extracción y toma de muestra, sean o no personal de laboratorio: personal de extracciones, enfermería de urgencias, hospitalización, centros de atención primaria, y el propio paciente.

Una forma interesante de almacenar y poder consultar los procedimientos es incluirlos en la intranet del hospital, de forma que los usuarios puedan tener acceso a ellos desde cualquier puesto de trabajo, y siempre a la versión actualizada, evitando problemas de documentación obsoleta. La implantación de cursos de formación para el personal extractor es una buena forma de visibilizar esta información, y recalcar su importancia en el aseguramiento de la calidad de la muestra. En caso de que sea el propio paciente quién tenga que recoger la muestra (por ejemplo, la recolección de orina de 24 horas en un recipiente con ácido clorhídrico para la determinación de catecolaminas), pueden elaborarse instrucciones por escrito que entregar al paciente cuando acuda a recoger el envase, que incluyan información sobre la prueba, precauciones, condiciones de almacenamiento y transporte…

Las instrucciones de laboratorio para las actividades de toma de muestra deben incluir:

- Verificación de la Identidad del paciente del que se toma la muestra primaria y de que cumple los requisitos preanalíticos requeridos. Debe comprobarse que el volante de petición está asociado a la misma persona que viene a realizarse la extracción. Una forma de asegurarse es preguntar directamente al paciente por su nombre y/o otros identificadores personales.
- Descripción del tipo de contenedor necesario y requerimientos adicionales, como la necesidad de proteger la muestra de la luz.
- Instrucciones para el etiquetado, de forma que cada muestra quede correctamente asignada al paciente al que corresponde y se garantice la trazabilidad.
- Registro de la identidad de la persona que toma la muestra, y la fecha y hora de extracción, así como las incidencias que se hayan producido. En laboratorios con posibilidad de trabajar con claves de acceso individual para cada puesto de trabajo, este registro resulta más sencillo.
- Almacenamiento de muestras de las muestras antes de que se lleven al laboratorio. En caso de que tras la extracción la muestra no se envíe directamente al laboratorio, deben darse instrucciones sobre requerimientos especiales de almacenamiento: muestras que deban conservarse a temperatura ambiente, en hielo, en estufa…
- Desecho seguro de los materiales utilizados

Transporte

El laboratorio debe disponer de un procedimiento documentado para realizar el seguimiento del transporte de las muestras para asegurar que se transportan: dentro de un intervalo de tiempo apropiado, dentro de un intervalo de temperatura especificado y de forma que asegure la integridad de la misma y la seguridad del portador, independientemente de dónde se realice la extracción.

El proceso de transporte de muestras al laboratorio es un punto crítico, especialmente para aquellas procedentes de puntos de extracción lejanos. La duración y condiciones ambientales del transporte son fuentes de variabilidad: un tiempo prolongado entre la toma de muestra y su procesamiento (superior a 2 horas) y/o temperaturas extremas (superiores a 22 ºC) pueden dar lugar a falsas alteraciones de parámetros como la glucosa, potasio o lactato deshidrogenasa (LDH), entre otros.

El laboratorio debe definir un sistema normalizado de transporte que permita monitorizar los tiempos y temperaturas del transporte. Para el control del tiempo es importante definir las rutas de transporte desde los diferentes centros de extracción, con tiempos de recogida y entrega establecidos que no superen las dos horas. Para el control de las temperaturas es importante definir las condiciones de los contenedores de transporte, como por ejemplo el número de acumuladores de frío incluidos en cada contenedor. El uso de sondas de temperatura incluidas dentro de los contenedores es una idea interesante para monitorizar la temperatura a lo largo de todo el trayecto, y detectar posibles fluctuaciones. Tras la apertura de los contenedores, los datos pueden volcarse en un sistema informático, y registrarse.

En caso de que el transporte no se realizase en las condiciones adecuadas, el laboratorio debe contar un protocolo de actuación en el que defina cómo proceder con las muestras afectadas.

Recepción y distribución

El laboratorio debe disponer de un procedimiento documentado para la recepción y distribución de las muestras a las diferentes áreas de trabajo, en el que se refleje el flujo de trabajo y el personal responsable.

Todas las muestras recibidas deben ser registradas, quedando constancia del tipo de muestra, fecha y hora de recepción, y si es posible, quién la recepciona. El personal designado revisa las muestras y evalúa su idoneidad en base a una serie de criterios de aceptación y rechazo definidos por el laboratorio, y que deben estar documentados. Ejemplos de criterios de rechazo son: muestras con errores de identificación, recogidas en tubo incorrecto o con volumen inapropiado. Las incidencias relacionadas con la recepción de la muestra deben ser registradas, indicándose el tipo de incidencia y quién detecta la incidencia, la muestra implicada, y la acción tomada para resolverla (ejemplo: contactar con el servicio peticionario y solicitar el envío de nueva muestra). En caso de que, a pesar de detectarse algún problema con la muestra, el laboratorio decidiese procesarla (por ejemplo, muestras difíciles de obtener como un líquido cefalorraquídeo), se debe incluir en el informe de laboratorio un apunte sobre la naturaleza del problema, para que sea tenido en cuenta durante la interpretación de los resultados.

El registro de las incidencias permite diseñar e implantar indicadores de calidad, y trabajar con un control de calidad interno del proceso preanalítico. Además, el laboratorio debe participar en algún programa de comparación interlaboratorio. Actualmente existen diferentes Programas de Garantía Externa de la Calidad, que evalúan cada indicador preanalítico en base a unas especificaciones de calidad (mínima, deseable y óptima), y permiten a cada laboratorio conocer su situación con respecto al resto de participantes y su evolución, ayudando a detectar áreas de mejora. Entre estos indicadores se incluyen el Nº total de rechazos/Nº total de peticiones (%), el Nº total de rechazos de suero/Nº total de determinaciones de creatinina (%), o el Nº de rechazos por muestra de suero hemolizada/Nº determinaciones de creatinina (%).

Todas las muestras deben tener una trazabilidad inequívoca, por petición y etiquetado, hasta un paciente determinado. De igual forma, todas las alícuotas de la muestra primaria deben tener una trazabilidad inequívoca hasta la muestra primaria original.

Si se considera necesario, deben existir instrucciones especiales para la recepción y distribución de muestras específicamente marcadas como urgentes, que prioricen y agilicen su procesamiento, y que contemplen la recepción, etiquetado y redacción del informe. Este podría ser el caso de las muestras para tipaje de HLA para trasplante.

Conservación

El laboratorio debe disponer de procedimientos e instalaciones apropiadas para asegurar las muestras del paciente y evitar su deterioro, pérdida o daño. Se debe definir el tiempo de almacenamiento de las muestras en el laboratorio, y disponer de un sistema para monitorizar que las condiciones de almacenamiento sean adecuadas durante dicho periodo (por ejemplo, sistema de sondas de temperatura para el interior de neveras, congeladores y estufas).

Los procedimientos deben contemplar así mismo los plazos para la solicitud de análisis adicionales o repeticiones de la misma muestra, definidos en función de las posibilidades de almacenamiento de cada laboratorio. El laboratorio debe disponer de un procedimiento documentado para las peticiones verbales de análisis: debe quedar registro de las determinaciones solicitadas, cuándo y quién las solicita.

UNE-EN ISO 15189: PROCESOS ANALÍTICOS

Autores: Olga Nerea Coya Linares, Daniel Párraga García

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Introducción

Durante este tema se hablará sobre los puntos 5.5 y 5.6 de la Norma UNE-EN ISO 15189 relativos a los procesos analíticos y aseguramiento de la calidad de los resultados del análisis.

Se puede definir la etapa analítica como la fase que abarca todas las acciones para la realización del análisis, desde la selección de métodos y equipos de medición, calibración, mantenimiento, el sistema de control de calidad para la detección de los posibles errores analíticos, las acciones correctivas día a día, el control de la precisión y exactitud analíticas y el desarrollo correcto de la técnica de medición.

Todos estos puntos están incluidos detalladamente en la Norma.

Procesos analíticos

- Selección verificación y validación de los procedimientos analíticos

El primer paso para la implantación de una técnica es la selección. Cada laboratorio deberá elegir la técnica que mejor se adapte a sus necesidades y, una vez seleccionado, se debe comprobar si el método está validado.

Cuando decimos que un método está validado significa que existe una evidencia objetiva del cumplimiento de los requisitos específicos para la utilización prevista. Estos requisitos deben estar técnicamente justificados o basarse en criterios aceptados por sociedades científicas o profesionales o por otra fuente reconocida y vigente en la comunidad científica.

En el caso de que no esté validado se deberá proceder a la validación, si lo está se deberá verificar, es decir, aportar una evidencia objetiva del cumplimiento de las especificaciones declaradas del desempeño.

Entre las características del desempeño se encuentran: veracidad de medida, exactitud, precisión (repetitividad), precisión intermedia, incertidumbre, especificidad, sensibilidad, límite de detección, límite de cuantificación, intervalo de medida, especificidad y sensibilidad diagnóstica.

- Validación

La validación se debe realizar en los siguientes casos:

- Método no normalizado.
- Normalizado pero para otras aplicaciones.
- Método en el que se ha realizado alguna modificación.
- Métodos desarrollados por el laboratorio (*in house*).

La validación de un método analítico es un paso fundamental para asegurar que los resultados son confiables, se busca demostrar estadísticamente que el método es adecuado para los fines previstos.

Debe ser coordinado por un responsable entendido en la materia para asegurar que se realiza de forma metódica, trazable, ordenada y confiable.

Siempre que estén disponibles se deberán seguir protocolos emitidos por organizaciones científicas reconocidas y por supuesto documentar el proceso y registrar los resultados.

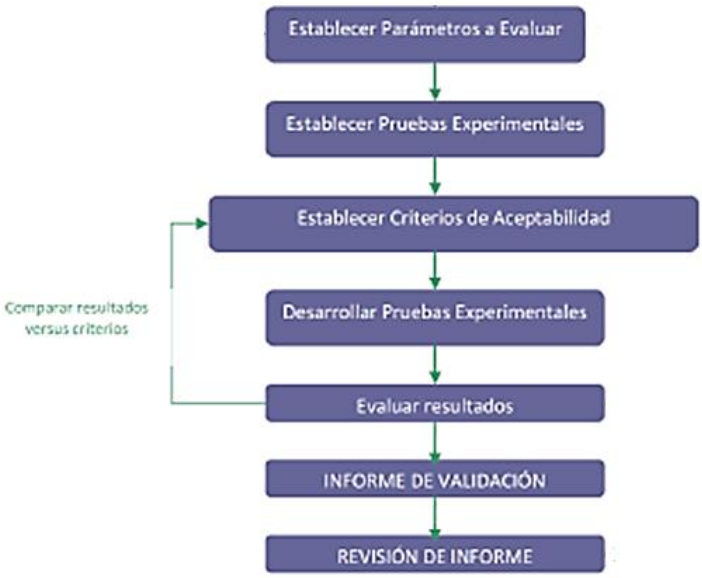


Figura 1. Esquema del proceso de validación.

En la figura anterior (Figura 1) se muestra un ejemplo de procedimiento de validación (cada laboratorio podrá diseñar su propio protocolo de validación).

Se puede ver que, en este caso, los pasos a seguir son: establecer los parámetros a evaluar, las pruebas experimentales que se deberán realizar a tal efecto, establecer unos criterios de aceptación, desarrollar las pruebas experimentales previamente establecidas, evaluar los resultados (el cumplimiento de los criterios de aceptabilidad) y la realización y revisión del informe.

- Verificación

Si el procedimiento está validado se deberá realizar la verificación. La verificación, en condiciones ideales, se deberá realizar antes de incluir la técnica en el uso cotidiano. Se verificará que se cumplen las prestaciones analíticas especificadas en los procedimientos (criterios de imprecisión y veracidad).

Cada laboratorio deberá desarrollar su propio procedimiento de verificación en función de sus necesidades. Puede existir un mismo procedimiento para todas las áreas de conocimientos o ser diferente para cada una de ellas.

En el siguiente ejemplo (Tabla 1) se distinguen tres situaciones: un equipo o método nuevo, un cambio de método o tecnología y un procedimiento para cuando no se ha realizado la intercambiabilidad antes de la implantación.

- Nuevo procedimiento en el laboratorio
  - CV% control interno
  - ES% control externo
  - ET%
- Procedimientos en los que existe un método o tecnología anterior
  - Comparación de métodos
    - Análisis de las diferencias
    - Regresión lineal
  - Imprecisión
- Procedimientos en los que no se realizó el estudio antes del cambio
  - CV% control interno
  - ES% control externo
  - ET%

Tabla 1. Ejemplo de procedimiento para la verificación.

Si el procedimiento es nuevo se realizará un estudio utilizando el coeficiente de variación del control interno, el error sistemático del control externo y calculando el error total.

Si tenemos otro método con el que comparar se procesarán muestras por ambos métodos y se hará un estudio de comparación mediante análisis de las diferencias y regresión lineal, también se hará un estudio de imprecisión.

Por último, si no se ha realizado la verificación antes de la implantación y ya no se dispone del método anterior se realizará un estudio con los datos de los controles internos y externos con carácter retroactivo, calculando el error total de la misma forma que en el caso de un procedimiento nuevo.

Posible no conformidad: *En algunos casos no se ha realizado la verificación de los equipos, en otros casos ha sido incompleta o no se conservan los registros de la evaluación de resultados.*

En este caso se cambió un equipo por otro exactamente igual y no se realizó la verificación. Se tuvo que realizar tiempo después para resolver la no conformidad con los datos del coeficiente de variación del control interno, error sistemático del control externo y el error total.

Una vez que se obtuvieron estos datos se compararon con las especificaciones de calidad establecidas para cada parámetro por el laboratorio para ver si se cumplían los requisitos. Todo este proceso quedó registrado en un documento estandarizado y controlado por el laboratorio llamado "Registro de resultados de verificación de métodos" (Imagen 1).

EQUIPO ANALÍTICO Architect Plus i2000SR nº inventario 08246, nº serie ISR04341 incorporado en marzo 2017

FECHA DE REALIZACIÓN 19-10-2017

RESPONSABLE VERIFICACIÓN XXXXXXX

OBSERVACIONES: Se ha seguido el PT-BIO-05 para la verificación de métodos apartado 2.3; Especificaciones de calidad 2017 (F-BIO-37)
CV (%) interserial: media de los niveles de control teniendo en cuenta el número de puntos (abril y mayo 2017, con excepción de gentamicina en cuyo caso se ha calculado por el menor nº de puntos en este periodo, desde abril a septiembre.
ES (%) obtenido de la participación en control externo (abril y mayo 2017 ,con excepción de gentamicina en la que se ha tenido en cuenta de abril a septiembre)
Controles externos utilizados: SEQC CARDIO, LGC
Estado del arte: Requisito CV % obtenido en la participación en 2016 de nuestro grupo par (ver anexo 1); para el cálculo de ET, se utilizó un ES % máximo del 20 % (ver anexo 2)
*ET = ES + 1,65xCV (%)

PARÁMETROS ANALÍTICOS INCLUIDOS EN EL ANALIZADOR ARCHITECT	CV (%) interserial	ES (%)	ET (%)*	Especificaciones de calidad	Requisito CV %	Requisito ET (%)	SI	NO	CONTROL EXTERNO
HOMOCISTEÍNA	3,3	3,2	8,65	Deseables (SEQC 2014)	4,15	15,5	X		SEQC CARDIO
VANCOMICINA	6,4	8,6	19,16	ESTADO DEL ARTE	10,3	37,1	X		LGC
GENTAMICINA	*5,05*	*8,46*	*16,79*	*ESTADO DEL ARTE*	*11*	*38,1*	*X*		*LGC*
TACROLIMUS	6,1	3,9	13,97	ESTADO DEL ARTE	7	31,6	X		LGC
SIROLIMUS	9	9,1	23,95	ESTADO DEL ARTE	9,2	35,2	X		LGC
CICLOSPORINA	13	6,7	28,15	ESTADO DEL ARTE	13,2	41,8	X		LGC

CONCLUSIONES: El nuevo equipo cumple con las especificaciones de calidad establecidas.

Imagen 1. Documento para el registro de resultados de verificación de métodos.

- Especificaciones de calidad

En 1999 tuvo lugar la Conferencia de Estocolmo donde se establecieron unas especificaciones globales de calidad basadas en cinco modelos siendo el nivel uno el preferente.
En 2010 en Bardolino-Lago di Garda (Verona) se trataron temas como la variabilidad biológica, calidad de las pruebas a la cabecera del paciente, el establecimiento del riesgo y control de las fuentes de error, la frecuencia adecuada del control de calidad y la situación central que ocupa la medicina de laboratorio en el cuidado del paciente. Se continúa con la jerarquía de Estocolmo de cinco modelos.
En 2014 en la Conferencia de Milán la jerarquía pasa de cinco modelos a tres.

- El modelo 1 se basa en la evaluación de los efectos de las prestaciones analíticas en los resultados clínicos bajo situaciones clínicas concretas. Investigación del impacto del rendimiento analítico de la prueba sobre el diagnóstico clínico (estudios directos),

investigación del impacto del rendimiento sobre las pruebas o decisión clínica afectando a la probabilidad diagnóstica (estudios indirectos).

- El modelo 2 se basa en la variabilidad biológica. Es esencial que la obtención de los datos de variabilidad se lleve a cabo a través de estudios adecuados. Existe una lista de elementos claves para la elaboración adecuada de los análisis.
- El modelo 3 se basa en el estado del arte. Carece de justificación científica, un ejemplo serían las especificaciones de calidad mínimas de consenso de las sociedades nacionales.

Las asociaciones científicas nacionales firman un documento de especificaciones mínimas de consenso (EMC) que se obtienen de las participaciones en sus controles externos de calidad (error sistemático del control externo).
Además, hay especificaciones óptimas, deseables y mínimas definidas en función de datos de variabilidad biológica.
Queda claro que el modelo 1 es el más restrictivo, cada laboratorio establecerá sus propias especificaciones de calidad basándose en estos tres modelos definidos en el Consenso de Milán y en los documentos de las Asociaciones Científicas. La norma permite a cada laboratorio fijar sus propios objetivos de calidad e incide sobre la importancia del cumplimiento de los mismos y su revisión periódica.

- Incertidumbre de medida de los valores de magnitud medidos

La incertidumbre es la suma de las incertidumbres preanalítica, analítica y postanalítica (Figura 2). Las incertidumbres preanalíticas y postanalíticas son difíciles de medir, no lo es la incertidumbre analítica que podemos calcular a través de la incertidumbre del calibrador y de los controles tanto internos como externos. Habitualmente no se tiene acceso a los datos de incertidumbre del calibrador por lo que deberá ser solicitado a la casa comercial para poder calcular la incertidumbre adecuadamente.
Existen programas para la revisión de controles que ya tienen en cuenta la incertidumbre del calibrador.

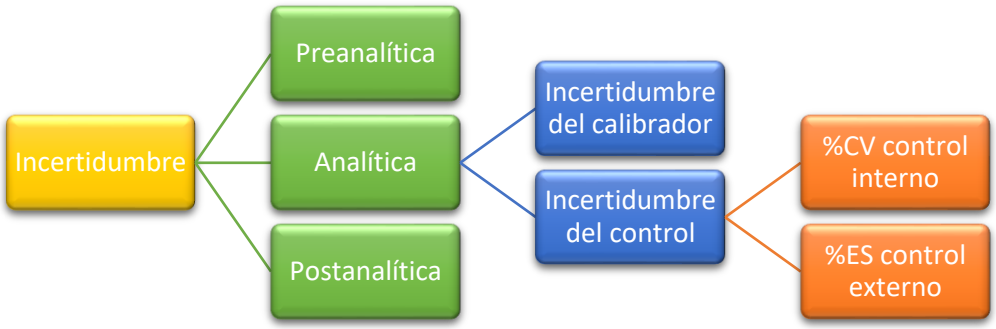


Figura 2. Tipos de incertidumbre.

- Intervalos de referencia biológicos o valores de decisión clínica

Los intervalos de referencia biológicos deben estar debidamente fundamentados y documentados. Debe quedar registro de la fuente de la que han sido obtenidos y en el caso de que la fuente sea un enlace se debe revisar periódicamente para comprobar que sigue en activo.
La revisión de los intervalos de referencia o valores de decisión clínica se debe realizar periódicamente y siempre que se vaya a realizar cualquier cambio de equipo o procedimiento.
Los cambios en estos valores deberán ser debidamente comunicados a todo el personal al que pueda afectar. La comunicación se puede realizar, por ejemplo, mediante reuniones y cambios tanto en la cartera de servicios como en el informe.

<u>Posibles no conformidades:</u>
Valores de referencia inadecuados en el caso del colesterol <200mg/dl.
El laboratorio es el responsable de gestionar esta no conformidad con el objetivo de superar la auditoría.
En este caso se realizaron reuniones con los clínicos especialistas en la Unidad de Lípidos y se revisó la bibliografía relacionada.

Se decidió añadir un comentario en el informe indicando que no se trata de un valor de referencia biológico sino de una recomendación, se cambió también el protocolo y se realizó la correspondiente actualización de la cartera de servicios.

No existen evidencias de las fuentes bibliográficas.
En este caso la no conformidad indica que no queda constancia del fundamento en el se basa el laboratorio para definir los valores de referencia. Se realiza una revisión de la bibliografía y se incorpora a los procedimientos y a la cartera de servicios la fuente de la cual se obtuvieron estos valores de referencia.

- Documentación de los procesos analíticos

La norma tiene un apartado en el que trata en detalle sobre este tema, pero en el caso de los procesos analíticos también se trata brevemente.
Se incide sobre la importancia de tener documentos normalizados y controlados que nos permitan llevar registros de todos los procesos que se realizan en el laboratorio (personal en cada puesto, reconstitución de controles, realización de calibraciones, mantenimientos…).
Son necesarios también protocolos que expliquen de forma detallada todos los procedimientos que se llevan a cabo en el laboratorio, se permite realizar fichas-resumen. Las fichas-resumen deberán indicar el protocolo al cuál hacen referencia y tendrán que estar incluidas dentro de los documentos controlados por el laboratorio, es decir, no está permitido el uso de "chuletas" no controladas.
Todos los documentos deberán mantenerse actualizados, estar accesibles a todo el personal del laboratorio y ser simples.
Estos documentos se tendrán que revisar periódicamente para realizar los cambios pertinentes en caso de ser necesario y la documentación obsoleta deberá ser retirada.

Aseguramiento de la calidad de los resultados del análisis

Figura 3. Resumen de los puntos más importantes para el aseguramiento de la calidad

El laboratorio deberá diseñar procedimientos para el control de la calidad (Figura 3), en los que se deberán definir aspectos como las condiciones y criterios de calidad. Existirán también registros de los procesamientos de controles, las calibraciones, las reconstituciones de los mismos y el personal responsable de su procesamiento y revisión.

Los controles se deberán elegir considerando que su comportamiento deberá ser lo más parecido posible a las muestras de pacientes y sus valores próximos a los valores de decisión clínica. Es interesante la utilización de controles de calidad independientes a los de la casa comercial.
Se tiene que definir una frecuencia para el procesamiento de los controles que se ajuste a la estabilidad del procedimiento.
Los controles de calidad se tienen que revisar de forma periódica para poder detectar tendencias y tomar las medidas que correspondan.
En el procedimiento deberá reflejarse la forma de actuar ante fallos en el control de calidad y las medidas a tomar cuando hay resultados de muestras de pacientes que puedan verse afectados por estos fallos.

- Controles internos

Es recomendable emplear sistemas de transmisión de controles automatizados para evitar errores humanos, tener sistematizado el seguimiento del control de calidad y tenerlo documentado.
Los controles se configurarán según criterios definidos por el propio laboratorio y siguiendo las recomendaciones de alguna asociación.
Las especificaciones de calidad se tendrán que revisar periódicamente para mantenerlas actualizadas.
La utilización de reglas de control de calidad como, por ejemplo, las reglas de Westgard nos permiten evaluar las tendencias y llevar un mejor seguimiento del error sistemático.
Para asegurar que ningún resultado de muestras de pacientes se informa si hay un fallo en el control de calidad cada laboratorio tendrá que definir un sistema de actuación.
Algunas opciones son no procesar muestras hasta la aceptación de los controles o utilizar un sistema de bloqueo de transmisión de resultados ante un fallo en el control de calidad. Estas opciones no tienen en cuenta que las muestras que se han procesado entre el último control de calidad correcto y el primer control fallido puede haber sido informadas con resultados no fiables. Para comprobarlo se puede establecer dentro del protocolo que se revisarán los resultados de las muestras que han sido procesadas en este periodo de tiempo y se realizarán las correcciones oportunas.

Posible no conformidad: *No se lleva a cabo la evaluación de los resultados de los controles, no se están tomando acciones ante resultados inaceptables o no se están registrando.*

Este es un ejemplo real de no conformidad relativa a los controles internos. Para la resolución de la no conformidad se realizó un documento para el registro de la revisión de los controles donde queda constancia de la fecha, el equipo y la persona responsable de dicha revisión.
En cuanto a las acciones que se toman cuando hay resultados inaceptables se comienzan a registrar en el sistema utilizado para la revisión de controles (técnicas calibradas, técnicas enmascaradas, cambios de lote de reactivos…).
Se actualiza el procedimiento del control de calidad para incluir estos cambios.

- Comparaciones entre laboratorios

Se deberá participar en programas que cumplan la norma ISO/IEC 17043.
Es importante participar en programas que tengan un número adecuado de participantes ya que en función de esto nos podremos comparar o no con nuestro grupo par.
El objetivo del control de calidad es verificar el proceso completo del análisis y se deberán buscar programas de intercambiabilidad que tengan relevancia clínica.
Los controles externos se deberán procesar como parte del flujo normal de trabajo.
Se registrarán las acciones correctivas que se tomen ante resultados inadecuados.
La elección del programa de intercomparación es muy importante: hay programas que utilizan muestras valoradas y otros que no, algunos emplean controles con valores dentro de la normalidad y otros valores poco habituales… Cada programa tiene sus pros y sus contras y debe ser el propio laboratorio el que decida cuál es el que mejor se adapta a sus necesidades.
En el caso de que no exista un programa de comparación interlaboratorios habrá que buscar alternativas:

- Materiales de referencia certificados
- Muestras examinadas previamente
- Material proveniente de repositorios de células o tejidos

- Intercambio de muestras con otros laboratorios
- Materiales de control que se analizan diariamente en programas de comparación interlaboratorio

Posible no conformidad: *No se dispone de participación en programas de intercomparación para el CD25 soluble.*
En este caso no se participa en un programa de intercomparación porque no existe, pero la Norma dice que si no existe se deben buscar alternativas. Para la resolución de la no conformidad se crea un taller de intercomparación entre varios laboratorios que se encuentran ante el mismo problema.
La creación de este taller de intercomparación puso de manifiesto la necesidad de un programa de intercomparación oficial para el CD25 y en la actualidad ya existe.

A continuación se exponen un par de ejemplos para incidir sobre la importancia de la adecuada revisión de los resultados de los programas de intercomparación:

Caso 1
A través de la participación en un programa de intercomparación el laboratorio observó que cuando el parámetro analizado estaba en rangos normales la respuesta del laboratorio era adecuada, sin embargo, cuando los valores eran elevados el laboratorio daba resultados más bajos que el resto de los participantes.
Tras revisar todos los pasos que se seguían en el tratamiento y procesamiento de la muestra se llegó a la conclusión de que cuando la intercomparación no daba los valores esperados era cuando las muestras se diluían.
Se realizaron pruebas de dilución manual y automáticas en el equipo y se comprobó que la dilución en el equipo daba resultados inferiores a la manual y que con la dilución manual los resultados concordaban con los del resto de participantes en el programa.
El programa de intercomparación puso de manifiesto un fallo que no se había detectado antes al no ser habitual la necesidad de diluir la muestra, se detectó un fallo en la dilución automática del equipo que se puso en conocimiento de la casa comercial.

Caso 2
El laboratorio participa en un programa de intercomparación en el que las muestras son valoradas y te puedes comparar con los participantes que usan tu misma tecnología o no.
Se detecta que en todos los controles elevados el laboratorio da resultados por encima del resto de participantes. Ninguno de los participantes emplea la misma tecnología.
Se revisa el equipo, el procedimiento, el tratamiento de la muestra y no se encuentra ninguna explicación.
Al tratarse de un control valorado, al finalizar el programa se obtienen los resultados de todo el periodo, así como los valores reales de las muestras.
Comparando los valores reales con los que había dado el laboratorio se comprueba que el error es menor que el del resto de laboratorios. La conclusión a la que se llega es que el equipo del laboratorio tiene un límite de linealidad superior bien definido mientras que otros equipos tendrían un límite de linealidad superior menor al descrito en sus especificaciones.

- Intercambiabilidad de equipos

Cuando existen diferentes equipos que se utilizan indistintamente para realizar las mismas determinaciones el laboratorio debe asegurar la intercambiabilidad de los resultados. Se deberá realizar una intercambiabilidad entre los equipos que debe quedar registrada y basarse en un procedimiento establecido por el laboratorio para estos casos. El objetivo de esta intercambiabilidad es la seguridad del paciente.
Puede darse el caso de que se implante un equipo nuevo para realizar determinaciones que ya se están realizando en otros equipos. En este caso podremos emplear muestras o controles que se procesarán por todos los equipos que vayan a realizar las mismas determinaciones y cuyos resultados serán estudiados estadísticamente después.
Cuando se trata de equipos que ya han sido implantados en el laboratorio y tiene la intercambiabilidad realizada se tendrá que revisar periódicamente para asegurar que se mantiene la equivalencia entre los equipos y que se pueden considerar un equipo virtual único. En esta situación se podrá realizar un estudio menos exhaustivo ya que la intercambiabilidad completa está realizada y simplemente se trata de una revisión de la misma.

Hay que tener en cuenta que la intercambiabilidad no solo hace referencia a equipos y técnicas automatizadas, en el laboratorio se realizan actividades como la revisión de frotis y sedimentos de orinas que también tienen que ser sometidas a estudios de intercambiabilidad.

Posible no conformidad: *En el frotis de sangre periférica no se realizan actividades de aseguramiento de calidad-intercomparaciones en las que participen todos los facultativos y residentes que realizan guardias y pueden informar de resultados.*

Se establece un sistema en el que todas las personas que desarrollen esta actividad participen para demostrar la intercambiabilidad de resultados. Se crea un procedimiento que refleja la periodicidad y la sistemática a seguir.
En este caso cada tres meses todo el personal tendrá que revisar una serie de frotis, describir los hallazgos morfológicos y establecer un diagnóstico de sospecha. Los resultados serán revisados por un responsable y quedarán registrados.

Conclusión

El objetivo de los dos puntos de la norma que se han tratado en estos temas es asegurar la selección de métodos adecuados para la utilización prevista y asegurar la calidad requerida en los procesos y la validez de los resultados.

UNE-EN ISO 15189: PROCESOS POSTANALÍTICOS

Autores: David Melero López, Daniel Párraga García

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Introducción

La fase postanalítica en el laboratorio engloba los procesos incluidos desde que tenemos un resultado hasta que el mismo llega al facultativo peticionario, pasando por la validación, notificación y comunicación, si procede, del resultado. También se incluye el almacenamiento, retención y desecho de muestras.

El laboratorio debe documentar un procedimiento donde desarrolle la sistemática de todo este proceso. En el mismo, debe primar la claridad, veracidad y confidencialidad, con un acceso protegido a toda esta información.

Se pueden diferenciar tres puntos principales en esta fase: Revisión de resultados, comunicación de resultados y, por último, su notificación.

Revisión de resultados (Apartado 5.7.1 de la Norma ISO 15189:2013)

La Norma indica la necesidad por parte del laboratorio de disponer de procedimientos que aseguren que personal autorizado revisa los resultados de los análisis antes de comunicarlos y que se evalúan bajo el control de calidad interno y, si procede, teniendo en cuenta la información clínica disponible y los resultados de análisis precedentes. Para ello, en nuestro laboratorio se incluye en el procedimiento de cada técnica los criterios de validación de estas.

Un tema que genera controversia en muchos laboratorios es la elección de validación técnica y/o facultativa de los resultados. No está definido en la Norma cual es la opción adecuada; lo que sí se hace referencia es que la validación tiene que ser realizada por parte de personal capacitado y autorizado para ello, por lo que dependerá de cada centro y sección la elección del tipo de validación.

Por ejemplo, en el caso del urianálisis en nuestro centro tenemos ambos tipos de validación de manera secuencial:

- Validación técnica: El técnico responsable valida el análisis tras confirmar que las condiciones analíticas son correctas y hay ausencia de interferentes conocidos, informando y validando lo que observa en el sedimento urinario.
- Validación facultativa: El facultativo responsable valida el análisis anterior a partir de la información clínica del paciente y con la posibilidad de comunicarse con el facultativo peticionario en caso de tener dudas sobre la muestra.

Actualmente la mayor parte de sistemas informáticos de laboratorio (SIL) permiten la selección y notificación automatizada de los resultados de los análisis. Este proceso está recogido en la Norma (Apartado 5.9.2) donde indica que hay que asegurar que los criterios para esta selección y notificación automática estén definidos, aprobados y son entendidos por el personal (en nuestro caso se encuentran tanto en los procedimientos de cada técnica como en el propio SIL).

En todo caso, debe comprobarse que todo este proceso funciona correctamente, que posibles interferencias (por ejemplo, hemólisis, ictericia o lipemia) también son informadas y que la validación automática puede ser suspendida de manera sencilla y rápida.

Sea como sea, la validación tiene que presentar una traza que incluya quién y cuándo ha validado ese resultado, ya sea en formato papel o digital a través del SIL.

Comunicación de resultados (Apartado 5.8 de la Norma ISO 15189:2013)

En la Norma se detallan los atributos necesarios del informe de laboratorio en la claridad, veracidad y confidencialidad para el envío de resultados a los destinatarios una vez validados. El laboratorio debe definir el tipo de informe (papel o electrónico), asegurándose que contiene la información necesaria para su interpretación, por lo que han de evitarse ambigüedades y seguir la línea marcada por los protocolos de trabajo.

En el informe de laboratorio se deben incluir, entre otras, la siguiente información (Figura 1):

a) Identificación del laboratorio que emite el informe.

b) Identificación del paciente.

c) Fecha y hora del registro de la petición. En la versión de la Norma de 2007 era requisito la hora de recepción de la muestra, no siendo ya requisito en la versión de 2013.

d) Tipo de muestra primaria (Sangre total, LCR, etcétera).

e) Identificación clara y sin ambigüedad del análisis y su resultado en unidades del Sistema Internacional o con trazabilidad a ellas. Cuando proceda, se añadirá el procedimiento analítico (por ejemplo en técnicas con sensibilidades diferentes, habituales en Biología Molecular). También hay que identificar si el análisis ha sido realizado por un laboratorio subcontratista donde se haya derivado la muestra.

f) Identificación del solicitante (con información para su contacto).

g) Identificación de quien ha validado los resultados (o si ha sido de manera automática).

h) Intervalos de referencia biológicos o valores de decisión clínica.

i) Interpretación de resultados, cuando proceda (por ejemplo en pruebas funcionales de estimulación/supresión hormonal).

j) Número de página respecto al total de páginas.

Figura 1. Ejemplo de informe de laboratorio.

Además, el informe debe incluir comentarios sobre la calidad de la muestra primaria que puedan comprometer el análisis (demora en análisis de gasometrías, muestras hemolizadas, etcétera) y asegurar la comunicación de manera eficaz de resultados alarmantes, utilizando símbolos como asteriscos o rasgos llamativos que destacan estos resultados dentro del informe (letra mayúscula o negrita).

Sobre el uso de la marca ENAC en los informes, es requisito que solo aparezca en aquellos donde las pruebas están acreditadas. En caso de que no sea posible, habría que indicar claramente que pruebas están acreditadas dentro de todas las presentes en el informe.

En la última versión de la Norma también aparece un apartado específico sobre los informes de laboratorio corregidos (apartado 5.9.3 de la Norma) donde se indica la necesidad de tener instrucciones técnicas sobre estas correcciones de forma que en el informe esté claramente identificado que hay una corrección, que el usuario peticionario sea informado de la misma y que quede registro y traza de ambos resultados, cuándo y quién lo ha corregido.

Notificación de resultados (Apartado 5.9 de la Norma ISO 15189:2013)

En este apartado se indican las condiciones que debe incluir el procedimiento de comunicación de los resultados, tanto los canales y medios por los que se notifican, quién puede comunicarlos y a quién.

Un punto fundamental de esta notificación es la que afecta a los valores críticos (referidos como valores alarmantes en la Norma). Hay que destacar que no existe una política de valores críticos universalmente aceptada, por lo que dependerá de la logística y organización de cada centro el protocolo de comunicación de estos resultados, siendo fundamental la coordinación con los clínicos para la elaboración de este, con una lista propia de valores críticos dependiendo de las propiedades de cada centro.

Los requisitos que sí indica la Norma es la necesidad de avisar lo antes posible a un clínico u otro profesional autorizado por los canales estipulados, una vez confirmado que el proceso analítico se ha realizado correctamente y no hay ninguna interferencia. Esta comunicación tiene que ser registrada, indicando quién y cuándo informa este resultado, la persona a la que se avisa y cualquier dificultad en la comunicación. Por último, estos resultados proporcionados oralmente deben ser refrendados por un informe de laboratorio escrito.

En nuestro centro tenemos tres protocolos de comunicación de valores críticos distintos según la procedencia de la petición, ya que los canales de comunicación son distintos (siendo el SIL en todos los casos donde queda registro de todos los datos necesarios de quien, cuando y a quien se avisa este resultado).

Por último, se deben establecer tiempos de respuesta para cada magnitud analítica en consenso con los peticionarios; estos tiempos tienen que ser fácilmente accesibles (por ejemplo, en la cartera de servicios del laboratorio). Su cumplimiento debe ser revisado de manera periódica para su posible modificación en caso de un no cumplimiento mantenido (dentro de las posibilidades de cada laboratorio), debiendo ser también comunicado a los peticionarios.

UNE-EN ISO 15189: RESOLUCIÓN DE RECLAMACIONES. NO CONFORMIDADES. EVALUACIÓN Y AUDITORIAS

Autores: Ilenia Liria González, Daniel Párraga García

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

1. Sistema de acreditación

La acreditación es una declaración de la competencia técnica de un laboratorio para realizar las actividades incluidas en el alcance de acreditación. Dicha competencia se establece mediante la demostración del cumplimiento por parte del laboratorio de requisitos de carácter público establecidos a tal efecto en normas internacionales de acreditación. La norma UNE-EN-ISO 15189:2013 establece los requisitos generales que son usados por ENAC como criterios de acreditación. Por otra parte, ENAC de acuerdo con las directrices de organizaciones internacionales de acreditación como EA, ILAC o IAF redacta los criterios generales de acreditación (CGA-ENAC) con el fin de facilitar la interpretación de alguno de los apartados de la norma. Además existen criterios específicos de acreditación (CEA-ENAC) en los que se precisan los criterios generales de manera específica para cada actividad o servicios específicos.

2. ¿Qué pasos debe seguir un Laboratorio Clínico para acreditarse según la ISO 15189:2013?

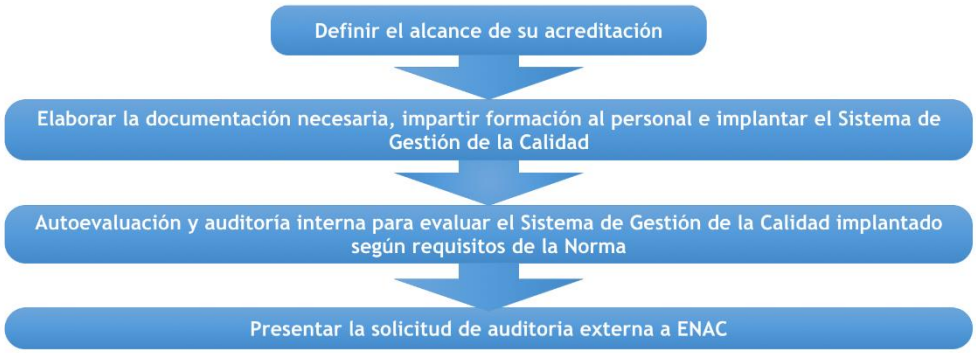


Figura 1. Pasos a seguir por un laboratorio para acreditarse según la norma UNE-EN-ISO 15189:2013.

3. Alcances. Definición y tipos: Alcance fijo y Alcance flexible.

El alcance de acreditación es un documento que describe de forma clara y precisa las actividades para las que un laboratorio clínico pretende acreditarse o para las que está acreditado. Por tanto, aporta información a todos los potenciales usuarios sobre la competencia técnica demostrada por ese laboratorio. La descripción detallada de las pruebas en el alcance facilita el proceso de acreditación debido a que este se circunscribe a las actividades incluidas en el mismo. Es público y acompaña al certificado de acreditación del laboratorio y puede estar sujeto a ampliaciones o modificaciones.

Los alcances de acreditación pueden ser de dos tipos:

- Alcance fijo: El alcance incluye una descripción específica de las pruebas, tipos de muestras, técnicas o métodos empleados. Cuando un laboratorio opta por este tipo de alcance puede incorporar nuevas pruebas, tipos de muestras o técnicas a su alcance solicitando a ENAC una ampliación de la acreditación que conlleva una evaluación (Figura 2).

- Alcance flexible: El laboratorio define el alcance a partir de los mismos elementos descritos en los alcances fijos pero expresados en forma genérica y de forma que los límites de flexibilidad queden

claramente reflejados. Este tipo de alcance surge debido a la constante evolución de los laboratorios clínicos que conlleva a la inclusión de nuevas magnitudes biológicas en su cartera de servicios o la actualizaciónn de métodos y equipos. De esta manera, se facilita que los laboratorios pueden llevar a cabo estos cambios sin requerir la evaluación previa de ENAC (Figura 3).

Figura 2. Descripción de un alcance fijo.
Figura 3. Descripción de un alcance flexible.

Espécimen/Muestra	Análisis	Procedimiento
Suero	**Inmunoensayo quimioluminiscente** CA 19.9, CA 15.3, CEA, PSA total y fracciones. TSH, FT4,FT3, Progesterona, Prolactina, Estradiol	PNT-55 PNT-56

Espécimen/Muestra	Análisis	Procedimiento
Suero	**Inmunoensayo** Marcadores tumorales Hormonas	PNT-40

4. Proceso de Evaluación: Auditorias

Una auditoria es un proceso sistemático e independiente para obtener evidencias que permitan evaluar de forma objetiva que se cumplen determinados criterios. Durante una auditoria se pretende:

1. Revisar el cumplimiento de los requisitos de la Norma UNE-EN-ISO 15189:2013. Para ello, el laboratorio tendrá que demostrar que:
    - Posee un Sistema de Gestión de la Calidad.
    - Es técnicamente competente.
    - Es capaz de producir resultados técnicamente válidos.
2. Comprobar que el sistema está implantado, es eficaz y se mantiene.
3. Comprobar la eficacia de determinadas acciones correctivas.

4.1. Tipos de auditorias

A) En función del cliente

- Auditorías internas: Realizada por miembros de la organización o por otras personas que actúan de parte de ésta. Se realizan para fines internos y proporcionan información acerca de la efectividad de las acciones correctivas, preventivas o de mejora llevada a cabo.
- Auditorías externas: Realizada por miembros ajenos e independientes a la organización normalmente organismos de certificación o acreditación.

B) En función del tiempo

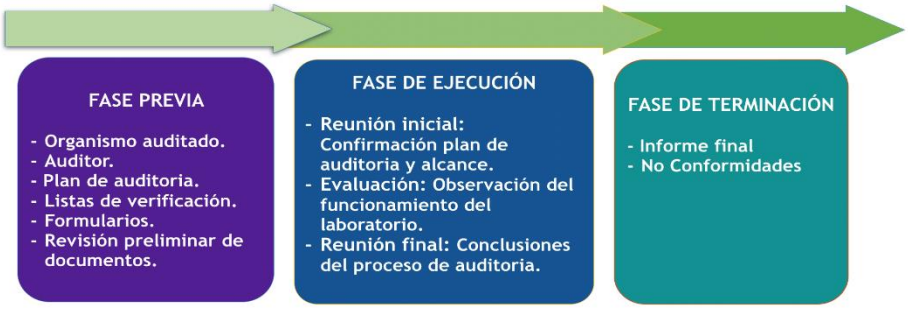
- Inicial: Por primera vez sobre una entidad o una parte de la misma.
- De seguimiento: Comprobar la implantación de acciones correctoras o verificar que se siguen cumpliendo las condiciones.
- De reevaluación: Renovación de un reconocimiento expirado.
- Ampliación: Ampliar el alcance de un reconocimiento aún vigente.

C) En función del ámbito

- Auditoria horizontal: Evaluación de documentos y registros. Evaluación de cada uno de los elementos específicos del sistema del laboratorio como el personal, equipos o informes, entre otros. En este tipo de auditoria se evalúa la sistemática (contenido de los documentos) y la implantación (registros).
- Auditoria vertical: Evaluación de los registros. Comprobar que se cumplen los requisitos de acreditación solicitando todos los registros de una petición o muestra desde su llegada al laboratorio hasta la emisión del informe.

4.2. Fases de una auditoria

Figura 4. Esquema resumen de las fases de una auditoria



A) Fase previa

En esta fase laboratorio debe establecer los elementos que constituyen el Sistema de Gestión de la Calidad. En base a los objetivos que se establecen define el alcance de la auditoria seleccionando aquellas actividades que serán examinadas en la auditoria, establece las normas y documentos sobre los que se llevará a cabo la evaluación y designa los interlocutores que formarán parte del proceso.

Figura 5. Ejemplo de Plan de Auditoria Interna.

Por su parte, el equipo de auditores elabora el plan de auditoria (Figura 5) y la documentación necesaria

PLAN DE AUDITORÍA INTERNA: DEPLECIÓN MITOCONDRIAL

DATOS DEL SERVICIO/UNIDAD A AUDITAR
UNIDAD: Laboratorio de Enfermedades Raras, Mitocondriales y Neuromusculares.
RESPONSABLES DE LA UNIDAD
PRINCIPALES ACTIVIDADES incluidas en el alcance:
Biología Molecular: Depleción mitocondrial

DATOS DEL EQUIPO AUDITOR

DATOS DE LA AUDITORÍA
FECHA: 28 de Mayo de 2018.
OBJETIVO: Confirmar que el sistema de gestión de la Unidad, se mantiene y aplica de acuerdo a los requisitos de la norma ISO15189:2013 vigente, a los establecidos en el sistema y a los legales aplicables. Detectar oportunidades de mejora.
ALCANCE: Requisitos Técnicos del Laboratorio de Biología Molecular, en concreto, de la técnica de PCR a tiempo real para la depleción mitocondrial.
CRITERIOS: Requisitos de la Norma UNE-EN-ISO 15189:2013 vigente, del sistema de gestión de la calidad y legales aplicables.

- 9:00 Reunión inicial
- 9:15-14:00 Evaluación de los aspectos del Sistema de Gestión de la Calidad especificados a continuación:
  - Instalaciones y condiciones ambientales.
  - Equipos de laboratorio, reactivos y material fungible.
  - Procesos preanalíticos, analíticos y posanalíticos.
  - Aseguramiento de la calidad de los resultados de los análisis.
- 14:00-14:30 Elaboración de conclusiones.
- 14:30-14:45 Reunión final.

para llevarla a cabo elaborando listas de verificación y formularios que serán complementados durante la auditoria. Así mismo, durante esta etapa los auditores revisan de manera preliminar los documentos que

han sido aportados por el laboratorio entre los que se incluyen el Manual de Calidad y los Procedimientos e Instrucciones Técnicas. En esta etapa se decide si será necesario llevar a cabo algún ensayo durante la auditoria.

B) Fase de ejecución

El objetivo de esta fase es evaluar el cumplimiento de los requisitos de acreditación por parte del laboratorio. De esta forma, se verifica que existen procedimientos y que estos están implantados en la práctica. Esta fase puede dividirse en varias etapas. La primera de ellas conlleva una reunión inicial en la que se confirma el plan de auditoria y alcance, así como la sistemática que se seguirá durante la misma. Tras esta reunión inicial comienza la etapa de evaluación en la que se procede a observar la actividad normal del laboratorio, al mayor número de personas involucradas, a las actividades más representativas de la competencia del laboratorio, las más complejas o las de mayor demanda, entrevistándose con el personal y solicitando registros. La observación de la actividad del laboratorio puede englobar funciones como:

- Recepción de las muestras y solicitudes: identificación, registro y distribución.
- Equipos: puesta a punto, mantenimientos y utilización.
- Realización de los análisis: pretratamiento y procesamiento de muestras, observación al microscopio…
- Revisión de los resultados: validación técnica, facultativa y parámetros de autovalidación.
- Tiempos de respuesta y actividades de aseguramiento de la calidad.

Tras este proceso se exponen en una reunión final las conclusiones obtenidas de la auditoria y que posteriormente se plasmarán en el informe final de la auditoria.

INFORME DE AUDITORÍA

Identidad legal: HOSPITAL UNIVERSITARIO 12 DE OCTUBRE. LABORATORIO DE BIOQUÍMICA, HEMATOLOGÍA E INMUNOLOGÍA.

1. Datos Generales
   - Organización: Hospital Universitario 12 de Octubre.
   - Unidad auditada: Laboratorio de Bioquímica, Hematología e Inmunología
     - Área de competencia
   - Tipo de auditoria: Inicial
   - Participantes y Equipo auditor
   - Fecha de auditoria: 11/07/2017
2. Actividades presenciadas durante la auditoría
3. Alcance de acreditación
4. Documentación de referencia. Plan de auditoría
5. Características de la entidad auditada
6. Conclusiones de la evaluación sobre la competencia
7. No Conformidades
8. Comentarios
9. Continuación del proceso de acreditación

Nombre Auditor Jefe
Fecha de emisión

Figura 6. Elementos fundamentales de un informe de auditoría.

C) Fase de terminación

Esta fase comprende la elaboración del informe final en el que se recogen las No Conformidades y las conclusiones de la auditoría realizada (Figura 6). Este informe se redacta por el auditor jefe a partir de la información aportada por los distintos auditores técnicos que han participado en el proceso y no debe contener recomendaciones para eliminar las desviaciones observadas.

5. No Conformidades.

Una No Conformidad es un incumplimiento de alguno de los requisitos de la norma. Estos incumplimientos pueden hacer referencia a los requisitos de gestión o a los requisitos técnicos de la norma (Figura 7).
Las No Conformidades deben identificar claramente el requisito que se incumple, identificando el problema y su gravedad. Así mismo, debe incluir la evidencia que la soporta, es decir, una descripción de la situación detectada, de forma que el laboratorio pueda llevar a cabo un análisis de las causas y de la extensión del problema.

Figura 7. Ejemplos de puntos de la norma que pueden verse implicados en No Conformidades, tanto requisitos de gestión como de requisitos técnicos.

REQUISITOS DE GESTIÓN
Ejemplos de puntos de la norma que pueden verse implicados

4.2. Sistema de gestión de la calidad.
Fallos en el funcionamiento del Sistema de Gestión.
4.3. Control de la documentación.
Actividades no documentadas.
4.13. Control de los registros.
Ausencia de registros que demuestren el cumplimiento de los requisitos de acreditación.

REQUISITOS TÉCNICOS
Ejemplos de puntos de la norma que pueden verse implicados

5.1. Personal
Ausencia de registros de capacitación del personal que realiza determinada actividad.
5.3. Equipos de laboratorio, reactivos y material fungible
Ausencia de registros de lotes de reactivo, controles y calibradores, de mantenimiento de analizadores…
5.5. Procesos analíticos
Ausencia de registros de verificación y validación de procedimientos analíticos.
Control inadecuado de la documentación.
5.6. Aseguramiento de la calidad de los resultados del análisis
Ausencia de evaluación de los resultados obtenidos en el programa de intercomparación.
5.9. Comunicación de los resultados
No estar documentado el procedimiento de actuación ante valores críticos.

Las No Conformidades pueden ser de dos tipos:

No Conformidades Mayores (NCM): desviaciones graves en las que se pone en riesgo el Sistema de Gestión. Estas pueden deberse al desarrollo de una actividad sin control, a la ausencia de registros o a la repetición permanente y prolongada en el tiempo de incumplimientos asociados a un mismo proceso o actividad (Figura 8).

Figura 8. Ejemplo de una No Conformidad Mayor detectada en nuestro laboratorio durante una auditoria.

NO CONFORMIDAD MAYOR

No se ha establecido cuál es el criterio para no informar un resultado en función del grado de hemólisis quedando a criterio del facultativo.

Además, el comentario que acompaña a estos resultados no es claro y aparece en todos los informes en los que hay un índice alterado aunque no haya pruebas en el informe en las que interfiere.

Por otra parte, la inclusión de los índices de hemólisis, lipemia, e ictericia en los informes disminuye la claridad de los mismos pudiendo generar confusión al clínico en la interpretación de los resultados.

Área Técnica: Análisis Clínicos-Bioquímica/ Hematología	**Expediente/s:** LE/2398I1	**Afecta a actividades acreditadas?** No
Proceso Afectado: Informes y certificados **Requisito/s:** UNE-EN-ISO 15189 5.8		

No Conformidades Menores (NCm): Desviación mínima en uno o más requisitos de la norma pero que no afectan en gran medida a la eficiencia e integridad del Sistema de Gestión. Suelen ser situaciones esporádicas que por sus características no llegan a la gravedad de una No Conformidad Mayor (Figura 9).

NO CONFORMIDAD MENOR

El laboratorio no dispone de un procedimiento documentado para definir las responsabilidades y los requisitos para planificar y efectuar las auditorias internas, comunicar los resultados y mantener los registros.

Área Técnica:	**Expediente/s:**	**Afecta a actividades acreditadas?**
Bioquímica. Hematimetría y Coagulación. Citometría de flujo. Microbiología e Inmunología.	LE/2398I1	Si
Proceso Afectado: Evaluación y auditorias. **Requisito/s:**UNE-EN-ISO 15189:2012 4.14		

Figura 9. Ejemplo de una No Conformidad Menor detectada en nuestro laboratorio durante una auditoría.

6. Mantenimiento de la acreditación.

Para mantener la acreditación el laboratorio debe seguir cumpliendo con los requisitos de acreditación y con las obligaciones que surgen de la misma. El mantenimiento de la acreditación está estructurado en un primer ciclo de cuatro años y ciclos posteriores de cinco. Durante cada ciclo se evalúa que el laboratorio sigue cumpliendo los requisitos que le concedieron la acreditación, la eficacia del Sistema de Gestión de Calidad y la competencia técnica de laboratorio para las actividades acreditadas.

Las auditorias de mantenimiento de la acreditación se realizan de forma periódica dentro de cada ciclo y se clasifican en:

A) Auditorias de seguimiento: Dentro del ciclo de acreditación. La primera se realiza a los 12-15 meses desde la acreditación, la segunda a los 18 meses y la tercera a los 24 meses. La finalidad de esta auditoría es:

- Comprobar que el Sistema de Gestión de Calidad sigue siendo eficaz y se mantiene, así como, evaluar los cambios que se hayan producido en el mismo y que puedan afectar a actividades acreditadas.
- Evaluar la ejecución del Plan de Acciones Correctivas.

B) Auditorias de reevaluación: Después de terminar cada ciclo. La finalidad de esta auditoria es revaluar el Sistema de Gestión de Calidad siendo equivalente a la auditoria inicial.

C) Visitas de control: Determinadas por ENAC según necesidad. Se realizan con la finalidad de evaluar el cierre de determinadas No Conformidades o ante cambios importantes por ejemplo de organización, personal o equipos.

UNE-EN ISO 15189: ACCIONES CORRECTIVAS Y ACCIONES PREVENTIVAS. OBJETIVOS DE CALIDAD Y MEJORA CONTINUA. CONTROL DE LOS REGISTROS

Autores: María Victoria Huertas García, Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Acciones correctivas y acciones preventivas

En la práctica normal del laboratorio, es común encontrarse con lo que llamamos no conformidad o incumplimiento de un requisito.

Para comprender mejor las acciones que vamos a describir a continuación, hemos de añadir que esta no conformidad puede ser real y que estemos incumpliendo los requisitos de la norma, o, por el contrario, puede ser potencial y aún no hemos incurrido en el incumplimiento, pero, si seguimos trabajando en las mismas condiciones, pronto lo haremos.

La Norma define en el punto 4.10 como acción correctiva a las acciones llevadas a cabo para eliminar la o las causas de una no conformidad. Dentro de este punto también nos habla de las acciones inmediatas o correcciones, que son aquellas tomadas en el momento de la no conformidad para mitigar sus efectos inmediatos (no actúa sobre la causa raíz del problema, solo evita sus consecuencias).

En el 4.11 nos habla de las acciones preventivas, como aquellas llevadas a cabo en el laboratorio para eliminar las causas de las no conformidades potenciales para así evitar que se produzcan.

El laboratorio debe disponer de un procedimiento documentado que indique como determinar e implementar las acciones correctivas y preventivas (Figura 1).

UNIDAD DE CALIDAD DEL LABORATORIO	**INSTRUCCIÓN TÉCNICA PARA EL REGISTRO Y GESTIÓN DE ACCIONES CORRECTIVAS Y PREVENTIVAS** **IT-LAB-11**	**Realizado por:** **Revisado y aprobado por: Jefe de Servicio**	Edición 1 Hoja 1 of 4 Fecha: 14/03/2017

Figura 1. Ejemplo de instrucción técnica para registro de acciones correctivas y preventivas

En este documento se nos indica qué debemos de realizar ante la necesidad de implementar una acción correctiva o preventiva:

1- Tenemos que llevar a cabo un análisis de la situación no deseada y de las posibles causas tanto reales como potenciales que nos han llevado hasta ella.
2- Definir la acción correspondiente, designar un responsable de llevarla a cabo, plazo de actuación y, si fuera necesario, asignar recursos.
3- Ejecutar las acciones.
4- Por último, el responsable de calidad debe revisar las medidas implantadas y evaluar si son efectivas o no. En caso de que sí que lo fueran, solo quedaría archivar la documentación generada. Pero si, por el contario no lo son, hay que comenzar otra vez desde el primer paso.

Un método para realizar este análisis previo a llevar a cabo una acción preventiva es el análisis modal de fallos y efectos (AMFE). Este nos permite no solo identificar los posibles fallos, sino evaluar el impacto de los fallos potenciales sobre los resultados del análisis teniendo en cuenta la seguridad del paciente y modificar los procesos para eliminar los riesgos identificados y evitar que se produzcan no conformidades.

Toda acción correctiva/preventiva realizada, debe registrarse y el servicio debe disponer de un procedimiento de registro interno para hacerlo. Este registro debe contener de manera detallada todos los pasos que se han descrito anteriormente y la verificación de la ejecución de la acción correctiva.

A continuación, se exponen situaciones reales que han ocurrido en nuestro servicio y en las que, tras seguir la instrucción técnica, se tomaron las siguientes medidas.

Ejemplo 1: *falta de suministro de reactivo de carbamazepina por la casa comercial por cambio del número de referencia del reactivo.*

- Acciones inmediatas:
  - Enmascarar la técnica para evitar el gasto en controles.
  - Procesamiento de las muestras en grupos para solo gastar dos determinaciones en controles para muchas peticiones.
  - Se asigna un hospital para enviar las muestras urgentes en caso de que se agote el reactivo.
  - Las muestras de rutina se guardan para su procesamiento una vez enviado el nuevo reactivo.
- Acción correctiva:
  - Reclamación al Servicio de compras de nuestro hospital para que transmita la No Conformidad a la casa comercial, de manera que, si cambia el número de referencia de un reactivo, se avise tanto al Laboratorio como al Servicio de compras y no se cursen pedidos erróneos.
- Acción preventiva:
  - Se solicita que en los próximos cambios o novedades en lo que respecta a los reactivos, controles o calibradores, envíen la información no solo a la coordinadora del Core 24 horas, sino también a los facultativos, para que haya más gente informada y se evite llegar a esta situación otra vez.

Ejemplo 2: *número de petición asociado a paciente incorrecto (número de historia clínica equivocado).*

- Acciones inmediatas:
  - Proceder a la eliminación de la analítica en la historia clínica del paciente.
- Acción correctiva:
  - Al tratarse de un error humano, no se puede actuar sobre la causa raíz de la no conformidad y aquí solo tendríamos una acción inmediata.

En este último ejemplo vemos como no siempre es posible realizar una acción correctiva al no poder actuar sobre la causa de la no conformidad.

Mejora continua

El concepto de mejora continua es habitual en todos los sistemas de gestión de la calidad y se basa, sobre todo, en la necesidad de ir avanzando en la solución y prevención de problemas.

La Norma lo redacta en el apartado 4.12, en el que recalca que se debe trabajar para mejorar de forma continua la eficacia del sistema de gestión de la calidad, mediante revisiones en que se compare el desempeño actual del laboratorio con sus intenciones, según se indica en la política y los objetivos de calidad.

En este concepto, la dirección del laboratorio tiene un papel muy importante y debe asegurar que se participe en actividades de mejora continua, que cuando se identifiquen oportunidades para hacerlo, se realicen y que esté al tanto todo el personal de estos planes de mejora y de los objetivos relacionados con estos.

Una de las herramientas más utilizadas en el laboratorio hoy en día es el *ciclo de Deming* o, como también se le conoce, *ciclo PDCA*, debido a sus siglas en inglés (Figura 2). Este ciclo que se divide en cuatro pasos: planificar, implementar, analizar y ajustar, nos permite identificar las posibles fuentes de debilidad o error en el sistema, elaborar planes para mejorar, implementar el plan, revisar la eficacia de la acción a través del proceso de revisión y auditoría focalizado y, con los resultados de estos, ajustar el plan de acción y modificar el sistema.

Figura 2. Ciclo PDCA.

Aquí también el servicio debe disponer de un procedimiento de registro interno para registrar toda actividad de mejora, que debe de incluir ítems como una descripción de la mejora, el responsable de la implantación y el plazo que tiene, el seguimiento posterior y el cierre de la actividad de mejora.

Un ejemplo en nuestro Centro fue que derivado de un análisis de riesgos llevado a cabo en la sección de Preanalítica, se propuso mejorar la preparación del paciente previa a la toma de muestras incorporando la hoja de condiciones de preparación del paciente al volante que se le entrega. Para ello se revisaron y actualizaron los documentos de preparación del paciente y se incorporaron al SIL. Además, se pidió la colaboración de los profesionales de enfermería en el momento de extracción preguntando al paciente si estas instrucciones le habían sido útiles.

Objetivos de calidad

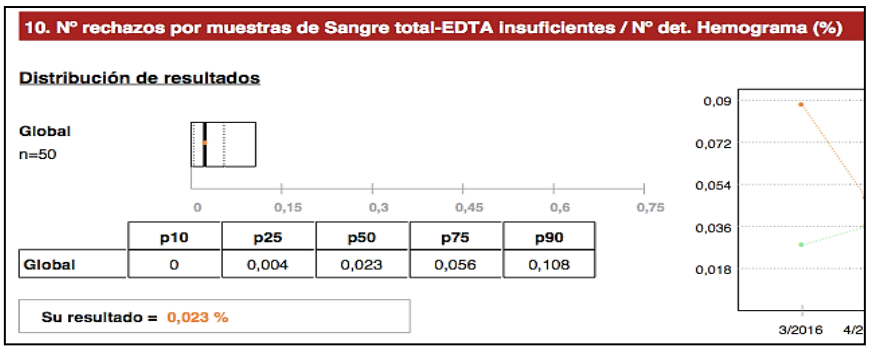
Dentro del apartado 4.1.2.4 se definen los objetivos y la planificación de la calidad, como aquellos objetivos establecidos por la dirección del laboratorio para cumplir las necesidades y los requisitos de los usuarios. Algo muy importante, y que la norma recalca, es que estos objetivos tienen que ser medibles, para poder ver que se han alcanzado, y coherentes con los recursos y limitaciones del laboratorio.

Como hemos expuesto en los temas anteriores, aquí también se debe registrar toda la actividad llevada a cabo para obtener los objetivos de calidad, que incluye la cuantificación de estos, así como una planificación detallada del seguimiento.

Los seguimientos efectuados van a generar también documentación que tenemos que archivar y mantener. Se llegan a unas conclusiones que hay que comunicar al personal, que, si son satisfactorias y se ha alcanzado el objetivo, se tiene que mantener en el tiempo y, sobre todo, hay que revisar y actualizar en función de las necesidades del servicio.

Ejemplo:

El laboratorio trabaja dentro del programa de garantía externa de la calidad preanalítica cada año y, ante las nuevas especificaciones de calidad para la fase preanalítica establecidos por la SEQC tras el análisis de varios años de controles externos, se marcó como objetivo pasar de estar dentro del p50 (deseable) a estar en el p25 (óptimo) en el número de muestras de sangre total-EDTA insuficientes / Número de determinaciones de hemograma.



	p10	p25	p50	p75	p90
Global	0	0,004	0,023	0,056	0,108

Figura 3. Resultados dentro del programa de garantía externa de la calidad preanalítica del 2018

Especificaciones de la Calidad

Indicador	p25 (óptima)	p50 (deseable)	p75 (mínima)
Nº de rechazos por muestras de Sangre total-EDTA insuficientes / Nº det. Hemograma (%)	0.005	0.026	0.068

Figura 4. Extracto de las nuevas especificaciones de calidad para la fase preanalítica de la SEQC

Como vemos en la figura 3, el laboratorio presentaba un resultado de 0.023%, que le situaba dentro un p50 según las nuevas especificaciones (figura 4) y, para conseguir cumplir su objetivo, debía presentar un resultado de 0.005% o menor.

Hemos de recalcar que este es un objetivo medible y que podemos analizar mediante el análisis de los próximos controles externos para ver dentro de que percentil nos encontramos. También es coherente con los recursos del laboratorio y se va a intentar alcanzar mediante una formación más exhaustiva del personal responsable de la extracción.

Control de los registros

Con tanta acción y tanto registro, hemos generado una cantidad importante de documentos y, ahora, la pregunta es ¿qué hacemos con ellos?

La Norma nos dice en su punto 4.13 que el laboratorio debe disponer de un procedimiento documentado para la identificación, recopilación, indexación, acceso, almacenamiento, mantenimiento, modificación y desecho seguro de los registros de la calidad y los registros técnicos. Además, estos se deberán de crear simultáneamente con la realización de cada actividad que influya sobre la calidad del análisis.

También detalla una lista de lo que se debe incluir en un registro (hasta 23 puntos), entre los que se encuentran:

- Registros de la capacitación, formación y competencia del personal.
- Registros de control de calidad.
- Reclamaciones y acciones tomadas.
- Registros de las revisiones por parte de la Dirección.

Es decir, todo documento o registro de actividad que evidencie que estamos haciendo lo que decimos que hacemos.

Pero aún se nos plantean más preguntas:

¿Y estos registros, cómo son?

- Pueden adoptar cualquier forma o estar en cualquier tipo de medio, pero se prefiere el digital.
- Tienen que ser fácilmente accesibles para la persona que controla los registros.
- Protegidos contra alteraciones no autorizadas.
- Deben contener la fecha y, cuando sea pertinente, la hora de las modificaciones, así como la identidad de la persona que las realiza.

¿Y estos registros, cuanto tiempo los guardamos?

- El laboratorio es el que define el periodo de retención. Este puede variar, pero los resultados indicados en el informe de laboratorio deben ser recuperables tanto tiempo como sea clínicamente pertinente o según lo requiera le reglamentación.
-

¿Y estos registros, donde los almacenamos?

- Siempre en un entorno adecuado, con el papel debidamente custodiado. En un lugar donde se impida el daño, deterioro, pérdida o acceso no autorizado. El almacenamiento más seguro puede ser en medios protegidos y en un lugar fuera de la instalación.

Como viene siendo la tónica habitual, el Servicio debe de crear un procedimiento documentado para describir que hay que hacer con los registros. En nuestro caso está incluido dentro del manual de calidad de los laboratorios e indica cosas como que sólo se conservarán en papel aquellos registros que no

dispongan de archivo informático o que el acceso es restringido, con identificación de usuario y contraseña para saber en todo momento quién accede a los mismos.

UNE-EN ISO 15189: BIBLIOGRAFÍA GENERAL

1. Norma Europea EN ISO 15189:2013. Laboratorios Clínicos. Requisitos particulares para la calidad y la competencia. Madrid: Asociación Española de Normalización; 2013.
2. Entidad Nacional de Acreditación. CGA-ENAC-LCL Criterios generales de acreditación de Laboratorios Clínicos. Madrid: ENAC; 2018.
3. Entidad Nacional de Acreditación. NT-47. Política de trazabilidad metrológica de ENAC. Madrid: ENAC; 2018.
4. Izquierdo Álvarez S, directora. Guía para el profesional del Laboratorio Clínico en la acreditación por la Norma UNE-EN ISO 15189:2013. Sociedad Española de Medicina de Laboratorio; 2015. (Cap. 3, pp. 183-208).
5. Ricós Agulló C, Álvarez V, Perich C, Ramón F, Salas Á. Laboratorio clínico y calidad. Nuevas Perspectivas. Barcelona: Fundació pel Control de la Qualitat dels Laboratoris Clinics; 2017. pp. 306-7.
6. Entidad Nacional de Acreditación. G-ENAC-14 Guía sobre la participación en programas de intercomparaciones. Madrid: ENAC; 2018.
7. Pineda-Tenor D, Prada de Medio E, Prieto Menchero S. Especificaciones de calidad analítica. El Consenso de Milán 2014. LabMedGlance. 2017;5:3-7.
8. Prada de Medio E, Blázquez Sánchez R, Perich Alsina C, Gutiérrez Bassini G, Pineda Tenor D, Álvarez Ríos AI, et al. Verificación de la intercambiabilidad de resultados entre equipos duplicados. Rev Lab Clin. 2014;7(1):17-24.
9. Entidad Nacional de Acreditación. NT-48 Laboratorios clínicos: Alcances de acreditación. Madrid: ENAC; 2018.
10. Entidad Nacional de Acreditación. NO-11 No conforrmidades y toma de decisión. Madrid: ENAC; 2018.
11. Entidad Nacional de Acreditación. PAC-ENAC Procedimiento de Acreditación de Laboratorios. Madrid: ENAC; 2019.

H120

JUNTOS CONSTRUIMOS, JUNTOS AVANZAMOS