



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**TESINA DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO  
DE LICENCIADOS EN CIENCIAS DE LA SALUD MENCIÓN  
LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

**TÍTULO DE TESINA:**

“DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD EN LA FASE PRE-ANALÍTICA DE ACUERDO AL TIPO DE MUESTRA (SUERO Y PLASMA CON EDTA TRIPOTÁSICO) EN LA MEDICIÓN DE LA PARATHORMONA EN LOS PACIENTES DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN EN EL PERIODO DE JULIO DEL 2012 A ENERO DEL 2013”

**AUTORES:**

Ana Lucía Valverde López

Borys Patricio Meza Armijos

**TUTOR**

Dr. VÍCTOR ENRIQUE ORTEGA SALVADOR

**RIOBAMBA – ECUADOR**





**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**TEMA**

“DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD EN LA FASE PRE-ANALÍTICA DE ACUERDO AL TIPO DE MUESTRA (SUERO Y PLASMA CON EDTA TRIPOTÁSICO) EN LA MEDICIÓN DE LA PARATHORMONA EN LOS PACIENTES DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN EN EL PERIODO DE JULIO DEL 2012 A ENERO DEL 2013”

**AUTORES**

Ana Lucía Valverde López

Borys Patricio Meza Armijos

**TUTOR**

Dr. VÍCTOR ENRIQUE ORTEGA SALVADOR

**RIOBAMBA – ECUADOR**

## **ACEPTACIÓN DEL TUTOR**

Por la presente, hago constar que he leído el protocolo del Proyecto de Grado Presentado por la Srta. Ana Lucia Valverde López y el Sr. Borys Patricio Meza Armijos para optar al título de Licenciado en Laboratorio Clínico e Histopatológico, y que acepto asesorar a los estudiantes en calidad de tutor, durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

Riobamba, 17 de Abril del 2013.

-----  
**Dr. Víctor Enrique Ortega Salvador**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

Tesis de grado previo a la obtención del título de  
Licenciados presentado y aprobado ante el tribunal  
conformado por:

.....

**PRESIDENTE**

.....

**CALIFICACIÓN**

.....

**MIEMBRO**

.....

**CALIFICACIÓN**

.....

**MIEMBRO**

.....

**CALIFICACIÓN**

**NOTA:.....**

## **DERECHO DE AUTORÍA**

Nosotros Ana Valverde y Borys Meza nos hacemos responsables de los párrafos, ideas, criterios y datos concluyentes expuestos y plasmados en el presente trabajo de investigación y los derechos de autoría son de expresa y única pertenencia de la UNACH

## **AGRADECIMIENTO**

Muchas gracias:

A los profesores, licenciados y doctores de la Facultad de Ciencias de la Salud, a la Universidad Nacional de Chimborazo por abrir las puertas para que nuevas personas y sin experiencia, puedan adquirir nuevos conocimientos sobre carreras a elegir. Gracias a todos los profesionales: los de ayer, los de ahora, los de mañana y siempre a todos ellos generadores de estímulos, por haberme permitido compartir momentos inolvidables, perdurables de aprendizaje, valor y honestidad de camaradería inagotable entre compañeros. Por erigirse en el reto permanente para lograr conquistar cada una de mis metas anheladas.

A la señora Lucila López y Wilson Valverde, cuyo apoyo fue decisivo en mi formación y por su valioso apoyo en todo mi estudio y al niño Ariel Valverde por no dejarme derrotar ante cualquier adversidad y al señor Borys Meza por todo su apoyo incondicional y por su valioso tiempo.

“La gratitud ennoblece al corazón”

Ana V.

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar agradezco a la Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ciencias de la Salud, carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico por haberme permitido cumplir con mis aspiraciones en esta etapa de mi vida y haberme formado como un profesional en Laboratorio Clínico e Histopatológico con ética y grandes valores.

A los docentes de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico quienes con sabiduría y paciencia, supieron guiarme en esta etapa transmitiéndome sus experiencias y sus conocimientos y finalmente, agradezco a mi familia, por su amor y apoyo, quienes son el pilar de este gran logro en mi vida.

Borys P.

## **DEDICATORIA**

Por tal motivo y con infinita gratitud quiero dedicar este logro en primer lugar a Dios, que con su presencia guía cada uno de mis pasos y permite mi existencia, a mi familia que con amor, confianza, humildad, paciencia, y sobre todo, el valor que me han enseñado cada una de estas personas y constante apoyo incondicional por el cual pude llegar al término de una de mis metas.

Quiero dedicar este logro a muchas personas importantes en mi vida a quienes sin ellas no hubiera podido llegar hasta aquí: a mi madre Lucila ya que ella es el pilar importante y en un inesperado me dio la vida y su apoyo constante jamás dio su brazo a torcer y al cual quiero dedicar también este logro a mi hijo Ariel quien es la razón esencial que necesité para nunca rendirme jamás ante todo reto de superación y ser razón de orgullo y amor para él, también a una persona muy especial e importante en mi vida Borys por no dejarme derrotar nunca, a mi padre Wilson por su valor a la moral y a la ética.

Ana L.

## **DEDICATORIA**

Este gran logro no hubiese sido posible sin el apoyo de mi Padre quien con su seriedad, dureza y claro ejemplo de superación, me enseñó que la vida nunca será fácil que no hay que esperar nada de los demás, que si quieres conquistar el mundo no lo harás sentado; sal y lucha por ti y tus amados y a mi Madre quien con su amor, su gran paciencia, comprensión, apoyo incondicional y la gran confianza de verme superado me hizo el hombre que soy ahora.

Las metas que me impuse a seguir la comencé solo, pero al final no fue un logro solo mío; fue de aquellos que me apoyaron de corazón y jamás me abandonaron en este camino por eso este logro se los dedico con todo mi corazón a Anita y Ariel que son los grandes pilares de mi vida que con su amor y apoyo seguiré adelante por siempre.

Borys P.

## RESUMEN

El sistema endocrino, nervioso e inmune, se encarga de la interrelación entre las diferentes células constituyendo una compleja red. Esta red puede tener efectos importantes sobre la liberación de hormonas conocidas como sustancias secretadas, en un limitado número de tejidos puestos en circulación que son capaces de actuar como mediadores en otros tejidos que no se producen solamente en tejidos endocrinos. Las alteraciones del metabolismo Óseo-Mineral que presentan en mayor prevalencia los pacientes con extirpación de la glándula Tiroides y en pacientes con Enfermedad Renal Crónica, el diagnóstico de las alteraciones, se basa fundamentalmente en la determinación de los niveles de Paratohormona que es liberada de la glándula Paratiroides, la cual nivela el calcio y fósforo en el cuerpo. Sin embargo, la determinación de esta hormona no es sencilla y está sometida a gran variabilidad. Los métodos para determinar los niveles de PTH en las muestras no están estandarizados; hecho que, podría ser una fuente importante de variabilidad pre-analítica. La presente investigación es del tipo descriptiva y de campo, apoyada en informaciones que provienen de los ensayos, cuestionarios, observaciones y comparaciones. Es un estudio prospectivo, el cual tiene la característica de iniciarse con la exposición de una supuesta causa hasta determinar la aparición del efecto. Se realizó a 100 pacientes, dos determinaciones por cada paciente -una en suero y otra en plasma-, se buscó la variabilidad biológica entre las dos y cada muestra cumplió con el protocolo para método de extracción, transporte, conservación y análisis. Los resultados obtenidos fueron de +/-11% en la diferenciación entre las dos.

## SUMMARY

Endocrine, nervous and immune systems are responsible for the interrelationship between the different cells constituting a complex network. This network can have important effects on the release of hormones known as substances secreted in a limited number of tissues put into circulation which are able to act as mediators in other tissues that do not occur only in endocrine tissues. An alteration of bone-mineral metabolism are present in a greater prevalence on patients with thyroid gland extirpation and in patients with chronic kidney disease, the diagnosis of disorders, is largely based on the determination of the levels of parathyroid hormone that is released from the Parathyroid gland, which evens out the levels of calcium and phosphorus in the body. However, the determination of this hormone is not simple and is subject to great variability. The methods for processing PTH samples are not standardized; a fact which could be an important source of pre-analytic variability. This is a descriptive and field research, based on information coming from the tests, questionnaires, observations and comparisons. It is a prospective study, which has the characteristic initiated by exposure to a suspected cause determining the occurrence of the effect. The research was performed in 100 patients, two determinations for each patient -one in serum and the other one on plasma-, sought biological variability between the two and each sample met the protocol for extraction method, transportation, storage and analysis. The results obtained were of +/- 11% in the differentiation between them.

## ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN .....	1
CAPITULO I.....	3
1.    PROBLEMATIZACIÓN. ....	3
1.1.    PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.2.    FORMULACIÓN DEL PROBLEMA. ....	3
1.3.    OBJETIVOS.....	4
1.3.1.    OBJETIVO GENERAL:.....	4
1.3.2.    OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	4
1.4.    JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA:.....	4
CAPITULO II .....	6
2.    MARCO TEÓRICO. ....	6
2.1.    ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN .....	6
2.2.    POSICIONAMIENTO TEÓRICO PERSONAL: .....	6
2.3.    FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	6
2.3.1.    SISTEMA ENDOCRINO.....	6
2.3.1.1.    HORMONAS.....	8
2.3.2.    CARACTERÍSTICAS.....	9
2.3.2.1.    ALMACENAMIENTO. ....	9
2.3.2.2.    LIBERACIÓN.....	9
2.3.2.3.    TRANSPORTE. ....	10
2.3.2.4.    DEGRADACIÓN.....	11
2.3.3.    EFECTOS.....	11
2.3.3.1.    DEFICIENCIA HORMONAL. ....	11
2.3.3.2.    EXCESO HORMONAL.....	12
2.3.3.3.    PRODUCCIÓN ANORMAL DE HORMONAS.....	12

2.3.3.4.	RESISTENCIA HORMONAL.....	12
2.3.4.	TIROIDES.....	13
2.3.4.1.	TRİYODOTIRONINA.....	15
2.3.4.2.	TIROXINA.....	15
2.3.4.3.	TIROGLOBULINA.....	16
2.3.5.	GLÁNDULA PARATIROIDES.....	17
2.3.5.1.	FORMA, COLOR Y CONSISTENCIA.....	17
2.3.5.2.	DIMENSIONES, PESO Y NÚMERO.....	17
2.3.5.3.	TOPOGRAFÍA DE LAS GLÁNDULAS PARATIROIDES.....	18
2.3.5.4.	VASOS DE LAS GLÁNDULAS PARATIROIDES.....	19
2.3.5.5.	PARATOHORMONA (PTH).....	20
2.3.5.5.1.	SÍNTESIS.....	20
2.3.5.5.2.	SECRECIÓN.....	21
2.3.5.5.3.	FUNCIÓN.....	22
2.3.5.5.4.	HETEROGENEIDAD.....	22
2.3.5.5.5.	PÉPTIDO RELACIONADO CON LA PARATOHORMONA.....	23
2.3.5.6.	CALCITONINA.....	24
2.3.5.6.1.	SÍNTESIS Y METABOLISMO.....	24
2.3.5.6.2.	PAPEL FISIOLÓGICO.....	25
2.3.6.	METABOLISMO MINERAL DE PARATOHORMONA.....	25
2.3.6.1.	CALCIO.....	27
2.3.6.1.1.	DISTRIBUCIÓN.....	27
2.3.6.1.2.	FUNCIÓN.....	27
2.3.6.1.3.	HOMEÓSTASIS DEL CALCIO.....	29
2.3.6.2.	FÓSFORO.....	30
2.3.6.2.1.	DISTRIBUCIÓN.....	30

2.3.6.2.2.	<b>FUNCIÓN.....</b>	<b>31</b>
2.3.6.2.3.	<b>HOMEÓSTASIS DEL FÓSFORO.....</b>	<b>31</b>
2.3.7.	<b>TRASTORNOS.....</b>	<b>32</b>
2.3.7.1.	<b>HIPERCALCEMIA.....</b>	<b>32</b>
2.3.7.2.	<b>HIPOCALCEMIA.....</b>	<b>36</b>
2.3.7.3.	<b>HIPERFOSFATEMIA.....</b>	<b>38</b>
2.3.7.4.	<b>HIPOFOSFATEMIA.....</b>	<b>39</b>
2.3.8.	<b>ENFERMEDAD ÓSEA METABÓLICA.....</b>	<b>40</b>
2.3.8.1.	<b>OSTEOPOROSIS.....</b>	<b>40</b>
2.3.8.2.	<b>OSTEOMALACIA Y RAQUITISMO.....</b>	<b>41</b>
2.3.8.3.	<b>ENFERMEDAD DE PAGET.....</b>	<b>43</b>
2.3.8.4.	<b>OSTEODISTROFIA RENAL.....</b>	<b>44</b>
2.3.9.	<b>PRUEBAS DE DIAGNOSTICO SEROLÓGICO.....</b>	<b>44</b>
2.3.9.1.	<b>REACCIÓN ANTÍGENO-ANTICUERPO.....</b>	<b>45</b>
2.3.9.2.	<b>ESPECIFICIDAD.....</b>	<b>46</b>
2.3.9.3.	<b>TEST SEROLÓGICOS.....</b>	<b>46</b>
2.3.10.	<b>TIPOS DE INMUNOENSAYOS.....</b>	<b>47</b>
2.3.11.	<b>RADIOINMUNOENSAYO.....</b>	<b>47</b>
2.3.11.1.	<b>RADIOINMUNOENSAYOS.....</b>	<b>48</b>
2.3.11.1.1.	<b>RIA DIRECTO.....</b>	<b>48</b>
2.3.11.1.2.	<b>RIA DE INHIBICIÓN.....</b>	<b>49</b>
2.3.11.1.3.	<b>RIA DE SÁNDWICH (IRMA).....</b>	<b>50</b>
2.3.12.	<b>FASE PRE-ANALÍTICA PARA REALIZAR UN ENSAYO CON MUESTRA DE SANGRE.....</b>	<b>51</b>
2.3.12.1.	<b>SOLICITUD DE ANÁLISIS.....</b>	<b>51</b>
2.3.12.2.	<b>PREPARACIÓN DEL PACIENTE.....</b>	<b>52</b>

2.3.12.3.	ANTES DE LA RECOGIDA DE LA MUESTRA. ....	52
2.3.12.4.	RECOGIDA DE LA MUESTRA Y PROCEDIMIENTO.....	54
2.3.12.5.	PUNCIÓN VENOSA. ....	54
2.3.12.6.	TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS.....	57
2.3.12.7.	CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS DE SANGRE. ....	58
2.3.12.8.	FASE DE PRECENTRIFUGACIÓN.....	59
2.3.12.9.	FASE DE CENTRIFUGACIÓN. ....	60
2.3.12.10.	EQUIPOS DE CENTRIFUGACIÓN.....	61
2.3.13.	DOSIFICACIÓN DE PTH MÉTODO DE EIA (FASE ANALÍTICA). ..	61
2.3.13.1.	PRINCIPIOS DEL MÉTODO.....	61
2.3.13.2.	REACTIVOS.....	62
2.3.13.3.	MATERIALES.....	63
2.3.13.4.	PROCEDIMIENTO. ....	64
2.4.	DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS. ....	66
2.5.	HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	70
2.4.1.	HIPÓTESIS.....	70
2.4.2.	VARIABLES. ....	71
2.4.2.1.	VARIABLE INDEPENDIENTE. ....	71
2.4.2.2.	VARIABLE DEPENDIENTE.....	71
2.5.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES. ....	71
	CAPITULO III.....	73
3.	MARCO METODOLÓGICO. ....	73
3.1.	MÉTODO. ....	73
3.1.1.	TIPO DE INVESTIGACIÓN. ....	73
3.1.2.	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN. ....	74
3.1.3.	TIPO DE ESTUDIO. ....	74

<b>3.2.</b>	<b>POBLACIÓN Y MUESTRA.....</b>	<b>74</b>
<b>3.2.1.</b>	<b>POBLACIÓN. ....</b>	<b>74</b>
<b>3.2.2.</b>	<b>MUESTRA.....</b>	<b>75</b>
<b>3.3.</b>	<b>TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS....</b>	<b>75</b>
<b>3.4.</b>	<b>TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>77</b>
<b>3.4.1.</b>	<b>COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS.....</b>	<b>91</b>
	<b>CAPITULO IV .....</b>	<b>92</b>
<b>4.</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>92</b>
<b>4.1.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>92</b>
<b>4.2.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>93</b>
<b>4.3.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>95</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>. ....</b>	<b>97</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura N° 1: GLÁNDULAS ENDÓCRINAS.....</b>	<b>7</b>
<b>Figura N° 2: UBICACIÓN DE LA TIROIDES.....</b>	<b>14</b>
<b>Figura N° 3: UBICACIÓN DE LA PARATIROIDES.....</b>	<b>18</b>
<b>Figura N° 4: RADIOINMUNOENSAYO DIRECTO. ....</b>	<b>48</b>
<b>Figura N° 5: IRMA ENSAYO DE INHIBICIÓN.....</b>	<b>49</b>
<b>Figura N° 6: IRMA ENSAYO NO COMPETITIVO.....</b>	<b>50</b>
<b>Figura N° 7: TUBOS DE RECOLECCIÓN DE SANGRE. ....</b>	<b>53</b>
<b>Figura N° 8: FOSA ANTE CUBITAL.....</b>	<b>55</b>
<b>Figura N° 9: PUNCIÓN VENOSA. ....</b>	<b>56</b>
<b>Figura N° 10: POCILLOS DE MICRO VALORACIÓN.....</b>	<b>62</b>

## ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS

<b>Tabla y gráfico N° 1: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA POR GÉNERO.....</b>	<b>78</b>
<b>Tabla y gráfico N° 2: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA POR EDAD.....</b>	<b>80</b>
<b>Tabla y gráfico N° 3: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA POR MES. ....</b>	<b>82</b>
<b>Tabla y gráfico N° 4: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA DE LOS DATOS QUE AUMENTARON SU VALOR EN PLASMA .....</b>	<b>84</b>
<b>Tabla y gráfico N° 5: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA DE LOS DATOS QUE DISMINUYERON SU VALOR EN PLASMA.....</b>	<b>86</b>
<b>Tabla y gráfico N° 6: PORCENTAJE DE PACIENTES CON VALORES NORMALES Y ALTERADOS EN LOS RESULTADOS DE PARATOHORMONA. ....</b>	<b>87</b>
<b>Tabla y gráfico N° 7: INCIDENCIA POR GENERO DE VALORES NORMALES Y ALTERADOS EN LA DETERMINACIÓN DE PARATOHORMONA .....</b>	<b>89</b>

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO N° 1: GLÁNDULA TIROIDES. ....</b>	<b>97</b>
<b>ANEXO N° 2: ORIGEN EMBRIONARIO DE LA GLÁNDULA HIPÓFISIS.....</b>	<b>97</b>
<b>ANEXO N° 3: PARTES DE LA GLÁNDULA HIPÓFISIS.....</b>	<b>98</b>
<b>ANEXO N° 4: TABLA CON DATOS DE LOS PACIENTES POR GÉNERO.....</b>	<b>98</b>
<b>ANEXO N° 5: TABLA CON DATOS DE LOS PACIENTES POR EDAD. ....</b>	<b>100</b>
<b>ANEXO N° 6: TABLA DE LOS ENSAYOS POR MES.....</b>	<b>101</b>
<b>ANEXO N° 7: TABLA DE RESULTADOS DE PTH.....</b>	<b>101</b>
<b>ANEXO N° 8: VALORES DE REFERENCIA DE PTH.....</b>	<b>103</b>
<b>ANEXO N° 9: RESUMEN DE PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO DE PTH.....</b>	<b>104</b>

## INTRODUCCIÓN

Como se conoce, la Hormona Paratiroides, es liberada por la Glándula Paratiroides la cual cumple el papel importante de regular los niveles de Calcio y Fósforo en el cuerpo.

Cuando la Paratohormona es liberada, ésta es controlada por el nivel de Calcio en la sangre. Cuando se presenta un nivel bajo de Calcio, esto provoca un aumento de la liberación de esta hormona, mientras que en niveles altos de Calcio inhiben su liberación.

La determinación de Paratohormona es de gran importancia clínica en el diagnóstico de alteraciones tales como: alteración en la producción de Paratohormona, reacción post tratamientos hormonales, extirpación de glándula tiroides y Enfermedad Renal Crónica que son las responsables de alterar el metabolismo óseo-mineral.

Comúnmente se realiza la determinación de Paratohormona en muestras de suero en la cual no se procesa teniendo en cuenta ningún tipo de cuidado específico, lo que nos lleva a la pregunta si al procesar la muestra con plasma para determinar Paratohormona con el mismo método, nos presentará una variabilidad que pueda ser o no, usada como valor en el diagnóstico de dichas alteraciones.

Es responsabilidad del laboratorio garantizar la calidad de la información que proporciona sobre el estado de salud de una persona, y para ello debe controlar todos los procedimientos desde que el médico solicita el análisis hasta que éste recibe el informe final.

El tiempo que transcurre entre la petición de las determinaciones analíticas por parte del clínico y el análisis de la muestra, es lo que se conoce como fase pre analítica.

Una preparación correcta del paciente, así como una correcta extracción del espécimen, cumplimiento de peticiones, transporte, identificación, preparación para su análisis, son aspectos fundamentales en esta fase.

Las magnitudes biológicas están sometidas a dos tipos de variabilidad; la variabilidad biológica y la analítica, responsables éstas, de que los valores de un determinado parámetro, sean desiguales entre diferentes individuos y de que incluso, en una misma persona, difieran en el tiempo.

## **CAPITULO I**

### **1. PROBLEMATIZACIÓN.**

#### **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

Las pruebas de laboratorio en el área de Inmunología son una poderosa herramienta para la toma de decisiones al tratarse en el caso de alteraciones en la actividad hormonal.

Recordemos que el manejo de las muestras es de vital importancia en el proceso de medición biológica, pero en consecuencia de no poseer un estándar se suele cometer errores al descartar resultados sin tener conocimiento de estándar del mismo.

El trabajo en el laboratorio es eminentemente objetivo, se trata de medir, de comparar una escala de todos los procesos y fenómenos que se presentan en los pacientes. Se busca reproducir “in vitro” lo que ocurre “in vivo”. En consecuencia, es necesario que reconozcamos la importancia de la medición de los procesos biológicos, entender los fenómenos inherentes a la variabilidad, las bases estadísticas de lo normal y de lo patológico, así como la forma en la que el cálculo de probabilidades afecta la interpretación de los resultados.

#### **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.**

La importancia e interés de la seguridad del paciente en el laboratorio ha llevado a la creación de revistas especializadas y publicaciones en la internet, que intentan crear una cultura de conocimiento de los errores y proponer estrategias para su control y disminución, es la razón por la cual esta investigación pretende determinar cómo influye la variabilidad biológica en la determinación de Paratohormona entre

muestras de suero y plasma para ayudar a crear una estandarización en el manejo de estas muestras en el Hospital Carlos Andrade Marín en el período Julio de 2012 a Enero de 2013, en Quito, provincia Pichincha.

### **1.3. OBJETIVOS.**

#### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL:**

Determinar la variabilidad biológica en la medición de Paratohormona en la fase pre analítica entre muestras de suero y plasma, proceso que ha mostrado una falta de estándar.

#### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Buscar la incidencia por género en la determinación de Paratohormona.
- Realizar una tabla por rangos de edad y localizar el rango que tiene mayor incidencia en la determinación de Paratohormona.
- Organizar los ensayos mensualmente e identificar el mes donde se ha realizado el mayor número de determinaciones de Paratohormona.
- Comprobar la variabilidad biológica de acuerdo al tipo de muestra en la determinación de Paratohormona.

### **1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA:**

Al determinar la variabilidad en la fase pre-analítica de acuerdo al tipo de muestra en la medición de la Paratohormona en el laboratorio, los médicos tendrían la oportunidad de valorar el grado de cada uno de los pacientes.

Optimizando los recursos como ser: Los insumos, el lugar de estudio, la afluencia de pacientes al Hospital y el apoyo que brinda el laboratorio, se realizará la investigación sobre el total de la población de pacientes y los datos obtenidos en esta investigación, servirán como un aporte científico para los médicos así como también para el personal de laboratorio y personal de salud en general resaltando puntos importantes en el manejo diferencial de las muestra de suero y plasma.

En el personal de laboratorio usar un protocolo o estándar en la fase pre-analítica es vital importancia para evitar la entrega errónea de resultados, encontrarnos en la situación de repetir el ensayo y la necesidad de la recolección de una nueva muestra en la que el paciente debería acercarse nuevamente al área de flebotomía cumpliendo nuevamente con las condiciones generales de toma de muestra (ayuno, antes de las 9 a.m., etc.).

## **CAPITULO II**

### **2. MARCO TEÓRICO.**

#### **2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN**

Luego de hacer una investigación e indagación minuciosa en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Chimborazo; se ha llegado a la conclusión de que no existe un trabajo similar o igual al planteado.

#### **2.2. POSICIONAMIENTO TEÓRICO PERSONAL:**

La teoría del conocimiento e indagación y creencia con la que vamos a trabajar la presente investigación que se realiza obteniendo datos valederos, es partiendo del conocimiento del pragmatismo ya que este nunca se puede separar la teoría de la práctica.

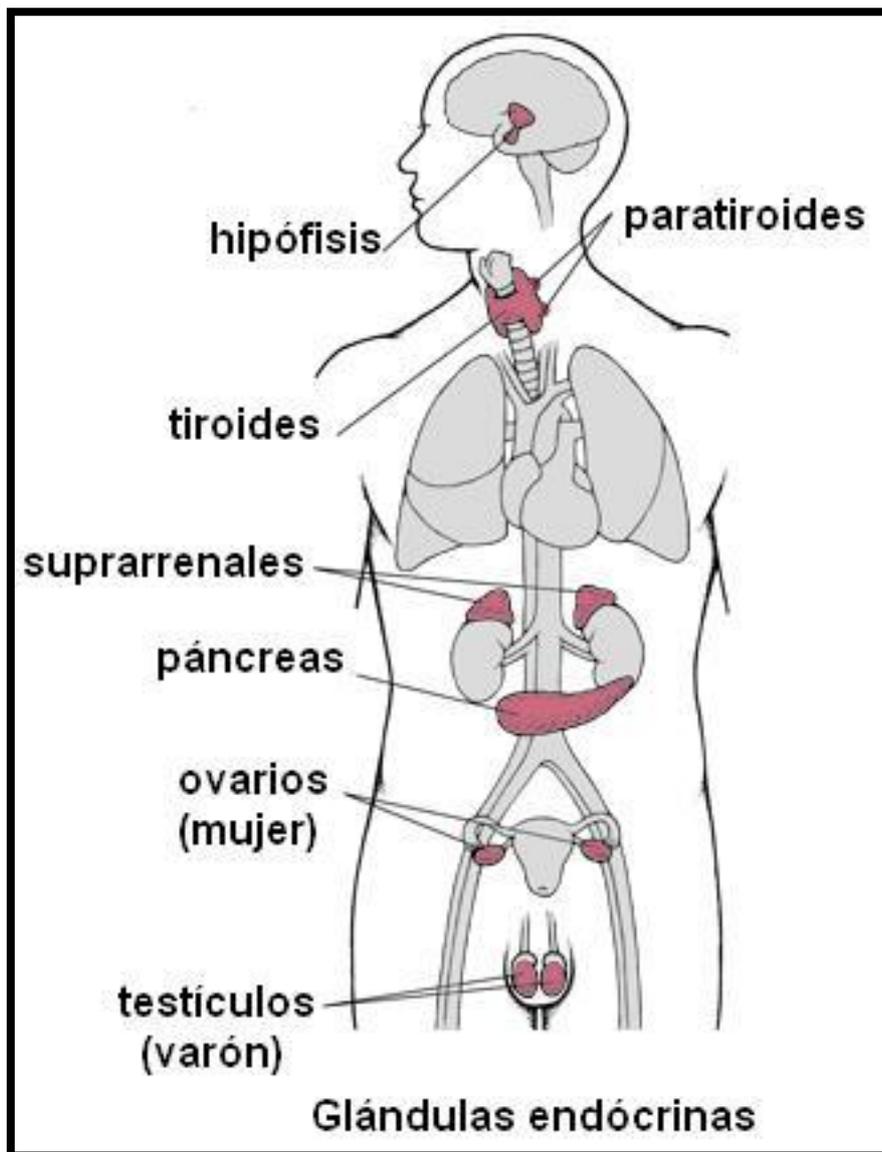
#### **2.3. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA**

##### **2.3.1. SISTEMA ENDOCRINO.**

De acuerdo a Orrego 2012 el sistema endocrino o también llamado sistema de glándulas de secreción interna es el conjunto de órganos que segregan un tipo de sustancias llamadas hormonas, que son liberadas al torrente sanguíneo y regulan algunas de las funciones del cuerpo. Es un sistema de señales similar al del sistema nervioso, pero en este caso, en lugar de utilizar impulsos eléctricos a distancia, funciona exclusivamente por medio de sustancias. Actúa como una red de

comunicación celular que responde a los estímulos liberando hormonas y es el encargado de diversas funciones metabólicas del organismo.

La interrelación entre las diferentes células se produce a través de los sistemas endocrino, nervioso e inmune, los cuales constituyen entre si una red compleja.



*Figura N° 1: GLÁNDULAS ENDÓCRINAS.*

Fuente: <sup>1</sup><http://www.cepvi.com/medicina/fisiologia/endocrino.shtml>

Además de los neurotransmisores como las catecolaminas, que actúan como hormonas a través de la sangre, los impulsos neurales pueden tener efectos importantes sobre la liberación de ciertos mediadores químicos como la insulina o la testosterona.

Del mismo modo el sistema inmune está sometido a la acción neural y hormonal, modulación que estimula la formación de las citosinas por los linfocitos, productos capaces de influenciar las funciones endocrinas.

Las intrincadas conexiones de esta red se pueden apreciar mejor en toda su extensión en el hipotálamo, donde la correlación -de los sistemas neuroendocrinos e inmunológicos-, es capaz de integrar y coordinar las actividades metabólicas en los organismos superiores.<sup>(1p.1-2).</sup>

#### **2.3.1.1. HORMONAS.**

De acuerdo a Orrego 2012 una hormona se considera aquella sustancia secretada, en un limitado número de tejidos, a la circulación y que es capaz de actuar como mediador químico en otros tejidos.

Pero es de anotar que estas sustancias tan específicas no solamente se producen en los tejidos denominados endocrinos. Algunas hormonas como la angiotensina II y III lo hacen en la corriente sanguínea.

Las hormonas regulan muchas funciones en los organismos, incluyendo entre otras el estado de ánimo, el crecimiento, la función de los tejidos y el metabolismo, por células especializadas y glándulas endocrinas.

Otras hormonas circulan únicamente en ciertos compartimientos restringidos, como en el sistema portal hipofisiario - hipotalámico y no alcanzan la circulación general en cantidades apreciables.

Algunas como la insulina tienen un efecto autocrino en las células que las producen, un efecto paracrino sobre las células de los mismos tejidos donde se secretan, una acción yuxtacrina sobre las células adyacentes y una acción endocrina a distancia.<sup>(1p.2)</sup>

### **2.3.2. CARACTERÍSTICAS.**

#### **2.3.2.1. ALMACENAMIENTO.**

De acuerdo a Orrego 2012 la mayoría de los órganos endocrinos tienen una capacidad limitada para almacenar las hormonas que ellos sintetizan.

El testículo adulto, contiene una cantidad mínima de testosterona que es capaz de producir diariamente.

A pesar de que los tejidos tengan orgánulos capaces de almacenar hormonas, la cantidad de estas sustancias almacenadas es limitada.

Los gránulos de insulina en las células beta del páncreas generalmente contienen muy poca insulina.

El almacenamiento limitado de las hormonas en los tejidos se debe a que estas sustancias no son capaces de incorporarse adecuadamente en los tres compartimientos capaces de almacenar sustancia, lípidos, el glucógeno y las proteínas. La excepción a esta regla son las hormonas tiroideas.

#### **2.3.2.2. LIBERACIÓN.**

La liberación de las hormonas dentro de la sangre puede requerir conversión de sustancias insolubles a solubles (proteólisis de la tiroglobulina a hormonas tiroideas),

exocitosis de gránulos de almacenamiento (insulina, glucagón, prolactina, etc.), o la difusión pasiva de las nuevas moléculas sintetizadas como las hormonas esteroideas.

La liberación de las hormonas puede ser periódica o rítmica; los ciclos varían de minutos a horas, pueden ser diarios (circadianos) o de meses a años (infradianos).

La liberación de la hormona luteinizante y la hormona folículo estimulante es pulsátil; la liberación de la ACTH y el cortisol es circadiana; las hormonas tiroideas se liberan durante ciclos más largos.

### **2.3.2.3. TRANSPORTE.**

La vía linfática, la sangre y los líquidos extracelulares transportan las hormonas a los sitios de acción o degradación.

La vida media tan corta de la mayoría de las hormonas peptídicas o amínicas pudiera explicarse porque el plasma es probablemente un diluyente pasivo de la mayoría de las hormonas peptídicas no glucosiladas.

Mientras más insoluble en agua sea la hormona, la mayor necesidad de ser transportado por las proteínas, (p.ej. Las hormonas tiroideas). Las hormonas pueden transportarse por proteínas específicas, p.ej. La testosterona por la SHBG.

La distribución de la hormona entre hormona libre y unida a transportadores en plasma, puede estar determinada por la cantidad de la hormona, la cantidad de las proteínas unidoras y la afinidad de las hormonas por las proteínas. La relación entre la hormona libre y la unida es compleja

La hormona libre (dializable) in vitro no se relaciona con la existente in vivo; la distribución de las hormonas entre el plasma y el tejido está en función de las proteínas unidoras del plasma y los tejidos; únicamente las hormonas libres

interactúan con los receptores en las células efectoras y son las únicas capaces de regular la secreción y liberación de las hormonas.

Se puede resumir, que un cambio en el nivel de las proteínas transportadoras de hormonas puede traer consigo un cambio importante en la concentración de las hormonas en plasma pero no causa una deficiencia o exceso de hormonas si los mecanismos de regulación de la secreción están intactos.

#### **2.3.2.4. DEGRADACIÓN.**

La concentración plasmática de una hormona depende de su secreción y la depuración metabólica de esa sustancia.

En la depuración metabólica de las hormonas están comprometidos varios mecanismos. Una porción se elimina intacta por la orina o la bilis.

La mayor porción se degrada o inactiva en los órganos efectores en el hígado y riñón. Las hormonas proteínicas son degradadas por proteasas. En cada capítulo habrá referencia a la degradación de cada hormona.

Los cambios de degradación de las hormonas, como único hecho, no causan enfermedad endocrina, siempre y cuando los mecanismos de retroalimentación estén intactos.

#### **2.3.3. EFECTOS.**

##### **2.3.3.1. DEFICIENCIA HORMONAL.**

Con pocas excepciones como la calcitonina, la deficiencia hormonal trae consigo manifestaciones clínicas.

#### **2.3.3.2. EXCESO HORMONAL.**

Con algunas excepciones como la testosterona en el hombre y la progesterona en la mujer, el exceso de secreción hormonal causa patología.

#### **2.3.3.3. PRODUCCIÓN ANORMAL DE HORMONAS.**

En algunos casos la secreción de hormonas anormales causa enfermedades endocrinas. Existe una forma de diabetes mellitus que resulta de la mutación de un solo gen, dando origen a una molécula de insulina anormal, incapaz de unirse a los receptores de insulina.

En otros casos, se liberan a la sangre precursores de la hormona, subunidades o péptidos hormonales procesados incompletamente, como ocurre en los síndromes de secreción ectópica.

#### **2.3.3.4. RESISTENCIA HORMONAL.**

Se conocen varias enfermedades que pueden resultar de la resistencia a la mayoría de las hormonas. La resistencia a la acción hormonal con frecuencia resulta de una mutación genética que dificulta la acción de las hormonas, pero también pueden originarse en defectos adquiridos en el receptor y pos receptor de las hormonas, o deberse del desarrollo de anticuerpos que bloquean los receptores hormonales o a una ausencia de las células efectoras.

La resistencia a las hormonas no siempre ocurre en todos los tejidos; la resistencia a las hormonas tiroideas puede estar confinada únicamente a nivel de la hipófisis; la

resistencia a los andrógenos puede ser más severa en los testículos que en otros órganos efectores.

Como un hecho característico en los resultados de resistencia hormonal, se encuentra una concentración normal o elevada en la circulación de la hormona afectada a pesar de la presencia de una deficiencia en la acción hormonal.

Gracias a la identificación de la estructura de los receptores de las hormonas y al clonaje de las ADN<sub>c</sub>, para estas proteínas, ha sido posible definir los defectos moleculares en muchos de los estados de resistencia hormonal.<sup>(1p.2-4).</sup>

#### **2.3.4. TIROIDES.**

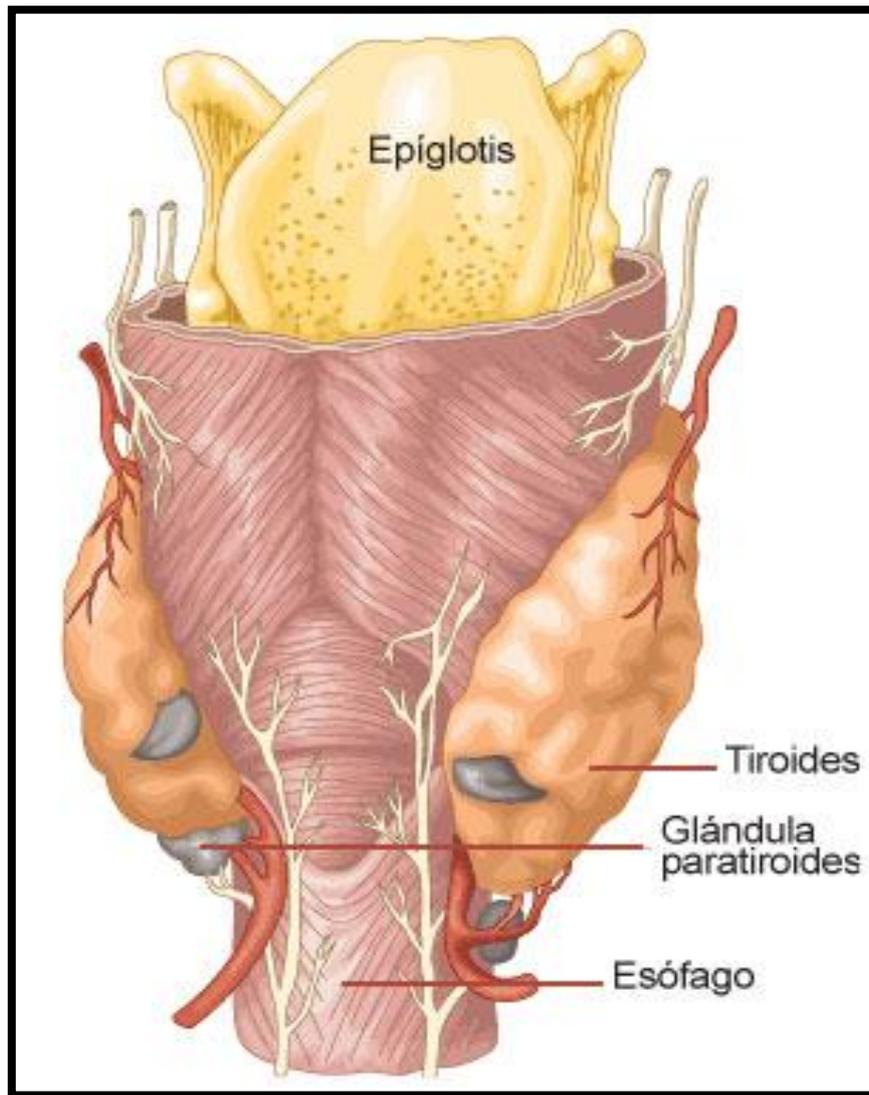
La tiroides tiene el perfil de una mariposa, de color gris rosada y está compuesta por dos lóbulos que asemejan las alas de una mariposa, un lóbulo derecho y un lóbulo izquierdo conectados por el istmo.

La glándula está situada en la parte frontal del cuello a la altura de las vértebras C5 y T1, junto al cartílago tiroides, yace sobre la tráquea que rodea hasta alcanzar posteriormente al esófago y está cubierta por la musculatura pre tiroidea, el músculo platisma (antiguamente llamado músculo cutáneo) del cuello, el tejido subcutáneo y la piel. Durante el proceso de la ingestión, la glándula tiroides se mueve, perdiendo su relación con las vértebras.<sup>2</sup>[http://es.wikipedia.org/wiki/Gl%C3%A1ndula\\_tiroides](http://es.wikipedia.org/wiki/Gl%C3%A1ndula_tiroides).

La tiroides está recubierta por una vaina aponeurótica denominada cápsula de la glándula tiroides que ayuda a mantener la glándula en su posición. La porción más externa de la cápsula de la tiroides se continúa con la aponeurosis cervical y hacia atrás con la vaina carotídea.

La glándula tiroides es recubierta en su cara anterior por los músculos infra hioidea y lateralmente por el músculo esternocleidomastoideo. Por su cara posterior, la glándula está fijada a los cartílagos tiroides y traqueal y el músculo cricofaríngeo por

medio de un engrosamiento de la aponeurosis que forma el ligamento suspensorio de Berry.



*Figura N° 2: UBICACIÓN DE LA TIROIDES.*

*Fuente: <sup>3</sup><http://anatomiaunam.blogspot.com/2010/10/irrigacion-de-la-glandula-tiroides.html>*

#### **2.3.4.1. TRIYODOTIRONINA.**

De acuerdo a Henry 2005 diariamente se produce menos del 50% de T3 que de T4, lo que corresponde a  $\approx 50$  nmol ( $\approx 33$  ug). De ellos, el 80%- 85% es derivado de la 5' deiodinación extratiroidea de la T4 por las deiodinasas D1 y D2, y el 20% restante proviene de la secreción tiroidea directa. El mayor porcentaje de producción es vía D2, ya que solo el 20%-25% su producción es inhibida por el PTU. La concentración sérica normal de la T3 es de 1,8 nmol/L (120 ng/dL), lo que es  $\approx 50$  veces menor que de la T4. La T3 circula en un 0.3%-0.5% de su concentración sérica en forma libre, el resto lo hace unida a proteínas plasmáticas como la T4; este mayor porcentaje de forma libre comparativamente con la T4, tiene una alta tasa de recambio diario, entre el 60%-75%; en parte porque tiene una vida media de solo 0.75 días.<sup>(*p311-312*)</sup>.

#### **2.3.4.2. TIROXINA.**

De acuerdo a Henry 2005 tras la liberación de sus proteínas de unión, la tiroxina sérica (T4 total) es medida mediante inmunoensayo. El intervalo de referencia está alrededor de 5.0 ug/dl a 12.5 mg/dl en adultos, con resultados ligeramente inferiores para determinados rangos de edad pediátricos.

Aunque la TSH es la prueba más importante de función tiroidea, las mediciones de tiroxina se utilizan habitualmente junto a las de TSH y pueden ser importantes para interpretar el resultado de la TSH.

La combinación de una T4 baja y una TSH aumentada indica hipotiroidismo primario, mientras que la elevación de los valores de T3 y T4 séricas con TSH disminuida es característica de hipertiroidismo.

No obstante, se han descrito pacientes con hipertiroidismo con T4 sérica elevada pero con valores de T3 sérica dentro del rango normal o bajos. Esta afección

denominada tirotoxicosis por T4, puede ocurrir en pacientes con hipertiroidismo inducido por yoduro y en pacientes hipertiroideos con NTI. La enfermedad no tiroidea grave se asocia a T4 baja y T3 baja: se denomina síndrome de T3 y T4 bajas y se asocia a mal pronóstico.

Los niveles elevados de T4 en individuos eutiroideos, lo que se denomina hipertiroidemia eutiroidea, pueden deberse a una amplia variedad de causas que incluyen el aumento de TBG y otras anomalías de las proteínas ligadoras.

Cuando fármacos u otras causas producen aumento de la unión a proteínas hay un aumento del nivel de T4 sérica, y cuando disminuye la capacidad de unión, hay un descenso de la T4 sérica. Estos efectos, no obstante, no se manifiestan a nivel fisiológico y, en estas situaciones, la T4 libre se correlaciona mejor con el estado funcional de la tiroides que la T4 total sérica.<sup>(2p.311)</sup>.

#### **2.3.4.3. TIROGLOBULINA.**

De acuerdo a Henry 2005 la tiroglobulina está presente en el suero de la mayor parte de los individuos sanos en concentraciones de hasta 30 ng/ml (45 pmol/l).

La determinación de tiroglobulina no se recomienda para detección preoperatoria de tumores malignos de tiroides, pero es útil para monitorizar el curso de la enfermedad o la respuesta al tratamiento.

Es útil en pacientes con carcinoma de tiroides bien diferenciado, pero no en pacientes con tumores indiferenciados o con carcinoma medular de tiroides.

De todos modos, el valor clínico de la determinación de tiroglobulina sérica es limitado por una serie de problemas técnicos como la presencia de anticuerpos antitiroglobulina, presentes hasta en el 20% de los pacientes con carcinoma de tiroides.

Tiroglobulina se eleva en diversas enfermedades, como la enfermedad de Graves, las tiroiditis o el bocio nodular.

Los pacientes con tirotoxicosis facticia, tienen niveles indetectables de tiroglobulina, en contraste con los niveles elevados hallados en pacientes con otras enfermedades causantes de hipertiroidismo.<sup>(2p.312)</sup>.

### **2.3.5. GLÁNDULA PARATIROIDES.**

De acuerdo a Rouvière 2004 la glándula paratiroides son pequeñas glándulas de secreción interna, situadas en la cara posterior de los lóbulos de la glándula tiroides.

#### **2.3.5.1. FORMA, COLOR Y CONSISTENCIA.**

Las glándulas paratiroides son oblongas y aplanadas. Su color varía de beige café con leche al sepia.

#### **2.3.5.2. DIMENSIONES, PESO Y NÚMERO.**

Miden de 8 a 9 mm de longitud aproximadamente, de 4 a 5 mm de anchura y de 3 a 4 mm de grosor; 8,3 mm de longitud, 4,4 mm de anchura y 1,8 mm de grosor; en definitiva, el promedio de sus dimensiones según Grisoli, en cifras redondas en milímetros, están determinadas por la progresión geométrica 2, 4, 8. Pesan aproximadamente 40 mg.

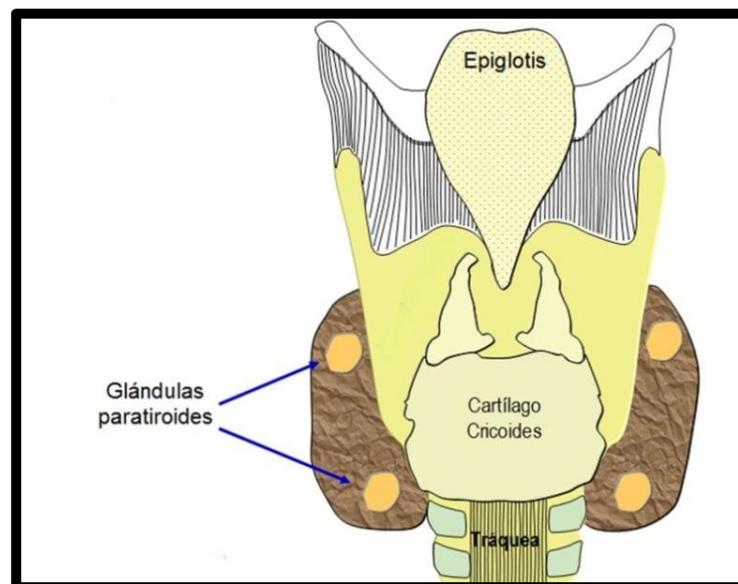
La glándula paratiroides son cuatro y se dividen a cada lado, según su situación recíproca, en glándulas paratiroides superior e inferior. Es clásico decir que ciertas glándulas paratiroides, en particular las superiores, pueden hallarse ausentes.

Las investigaciones de Grisoli tendían a mostrar que el número de cuatro es constante, y que la ausencia de una glándula paratiroides se debía a un error de disección.

### 2.3.5.3. TOPOGRAFÍA DE LAS GLÁNDULAS PARATIROIDES.

Las glándulas paratiroides están situadas ordinariamente a lo largo o en las cercanías del borde posteromedial de la glándula tiroides.

Welti y Da Silveira distinguen en este borde tres segmentos en los cuales pueden encontrarse las glándulas paratiroides: un segmento superior, oblicuo inferoposteriormente, en relación con el cartílago tiroides; un segmento medio, vertical, contiguo al cartílago cricoides y a los primeros cartílagos de la tráquea; finalmente, un segmento inferior, oblicuo inferoanteriormente, que va hasta el polo inferior del lóbulo.



*Figura N° 3: UBICACIÓN DE LA PARATIROIDES.*

Fuente: <sup>4</sup><http://www.onmeda.es/enciclopedia/anatomia/tiroides-las-glandulas-paratiroides-1363-4.html>

A la altura del ángulo formado por la unión de los segmentos medio e inferior, termina la arteria tiroidea inferior, y en las cercanías de este ángulo se sitúan con mayor frecuencia las glándulas paratiroides. Las glándulas paratiroides superiores se encuentran en el borde posteromedial de los lóbulos de la glándula tiroides, superiormente al punto de penetración de la arteria tiroidea inferior y en contacto con el cartílago cricoides.

Las glándulas paratiroides inferiores se localizan sobre el mismo borde posteromedial de la glándula tiroides, lateralmente a los laríngeos recurrentes e inferiormente a la terminación de la arteria tiroidea inferior, contra los primeros cartílagos traqueales. Muy frecuentemente, las glándulas paratiroides inferiores, y algunas veces las superiores, están situadas en posición baja, sobre la cara posterior del polo inferior de la glándula, a la altura de los cartílagos cuarto o quinto de la tráquea. Es raro observar que aparezca una glándula paratiroides en el segmento superior de la glándula tiroides. En el supuesto de que así sea se trata siempre de una glándula paratiroides superior.

Sin importar su localización, las glándulas paratiroides superiores e inferiores están envueltas en la grasa que infiltra esta parte de la región tiroidea y se hallan situadas o bien en la superficie exterior o bien en el espesor de la vaina tiroidea, ya sea en la superficie interna de dicha vaina o en el espacio tiroideo comprendido entre la vaina y la capsula tiroidea. Algunas veces, están sumergidas en una depresión de la glándula tiroides.

#### **2.3.5.4. VASOS DE LAS GLÁNDULAS PARATIROIDES.**

La arteria de las glándulas paratiroides inferiores nacen de la tiroidea inferior o de una de sus ramas terminales; las arterias de las glándulas paratiroides superiores proceden de las ramas terminales de la tiroidea inferior o de la anastomosis que une a

cada lado de las ramas posteriores de las arterias tiroideas superior e inferior; mas raramente, proceden de la arteria tiroidea superior.

Los linfáticos de las glándulas paratiroides son independientes de los de la glándula tiroidea y tributarios de un nódulo linfático cervical lateral profundo. Los nervios acompañan a las arterias. Anatómicamente la glándula paratiroides está formada por tres tipos de células: Las células principales encargadas de la producción de la Paratohormona o hormona paratiroidea, las células oxífilas y, las células acuosas de las que se desconoce su función.

La Paratohormona participa en el control de la homeostasis del calcio y fósforo, así como la fisiología del hueso. Mencionando a la hormona que cumple el papel opuesto a la Paratohormona, se ha tomado en cuenta a la Calcitonina que es secretada en las células parafoliculares en la tiroidea.<sup>(*p.458-459*)</sup>.

#### **2.3.5.5. PARATOHORMONA (PTH).**

##### **2.3.5.5.1. SÍNTESIS.**

De acuerdo a Henry 2005 las células principales de la glándula paratiroidea se encargan de la síntesis y secreción de la Paratohormona; la Paratohormona intacta es un polipéptido de cadena simple de 84 aminoácidos que tiene una masa molecular de 9,500 Da.

Es derivada de un precursor mayor, Pre-Pro-PTH, de 115 aminoácidos, la cual sufre dos cortes sucesivos en las secuencias aminoterminales para dar un precursor intermediario, Pro-PTH, y después la hormona en sí misma. Al llegar a la circulación cualquier Pro-PTH es convertido en Paratohormona y otros productos.

#### **2.3.5.5.2. SECRECIÓN.**

La secreción de la Paratohormona por la glándula paratiroidea está controlada por varios factores, pero desde el punto de vista fisiológico solo un pequeño número tienen importancia.

La regulación de la secreción de Paratohormona se encuentra en una escala de segundos por el calcio ionizado y representa un feed-back negativo simple.

Las señales extracelulares se detectan por un receptor calciosensible, que se encuentra localizado en la membrana plasmática de la célula paratiroidea. La estimulación del receptor lleva a la supresión de la tasa de secreción de Paratohormona mediante señales intracelulares (inositol trifosfato y diacilglicerol) generado por el receptor activo.

El receptor ha sido clonado y ha resultado ser del supergrupo de receptores asociados a la proteína G que se caracterizan por un gran complejo transmembranoso que es capaz de atrapar las pequeñas moléculas secretoras de calcitonina de la tiroides, cerebro y riñón. Cuando el receptor se encuentra ligado a la proteína G muta en varias enfermedades como la hipercalcemia, hipocalciúrica, la hipocalcemia autosómica dominante y el hipoparatiroidismo neonatal severo.

La secreción de Paratohormona ha mostrado influencia en el magnesio ionizado. Antes de que la concentración de calcio sérico pueda ser restaurada al intervalo deseado los pacientes con bajo nivel de magnesio sérico a menudo requieren magnesio sérico para incrementar los niveles de Paratohormona. La hipomagnesemia severa la cual se observa en pacientes con problemas de alcoholismo, se encuentra asociado a dificultades para la secreción de Paratohormona, mientras que en un descenso agudo del magnesio sérico puede llevar a Paratohormona elevada. Las células principales de la paratiroides por la vitamina D, el calcio extracelular y el gen transcriptor de Paratohormona son otros de los niveles de control de Paratohormona.

La 1,25-dihidroxicolecalciferol suprime crónicamente la secreción de Paratohormona interactuado con los receptores de la vitamina D en la glándula paratiroidea.

#### **2.3.5.5.3. FUNCIÓN.**

Mantener la concentración de calcio iónico en el líquido extracelular es la función principal de la hormona Paratiroidea, lo que se consigue por los siguientes mecanismos: Estimulación de la resorción ósea con salida de calcio y fósforo del hueso, estimulación de la reabsorción de calcio e inhibición de la reabsorción de fosfato desde los túbulos renales y la estimulación de la producción renal de 1,25-(OH)<sub>2</sub> Vitamina D<sub>3</sub>, que incrementa la absorción intestinal de calcio y fosfato.

La Paratohormona actúa a través de un receptor serpentina con proteína G acoplada, un péptido de siete dominios transmembrana. El extremo aminoterminal de la hormona paratiroidea se une al receptor PTH lo que modula la adenilato-ciclasa y fosfolipasa C. Las mutaciones activadoras de este receptor causan la condrodisplasia de Jantzen (hipercalcemia y desorganización epifisaria). El efecto neto de PTH sobre hueso, riñón e indirectamente intestino incluye un incremento total de las concentraciones de calcio y calcio ionizado y disminución de fosfato. En la orina la PTH incrementa el fosfato y la adenosina monofosfato cíclica (AMPc) y, a menudo, la excreción de calcio. En ausencia de enfermedad, el calcio sérico aumentado reduce la secreción de Paratohormona a través de un feed-back negativo, manteniendo así la homeostasis del calcio.

#### **2.3.5.5.4. HETEROGENEIDAD.**

El metabolismo de la PTH es complejo y produce diversos fragmentos con distinta actividad biológica e inmunológica. La Paratohormona intacta es la forma biológicamente activa y tiene una vida media en circulación menor a cuatro minutos. La PTH intacta es rápidamente aclarada por el riñón y el hígado.

En el hígado, la hormona Paratiroidea intacta se divide en fragmentos discretos y péptidos más pequeños que pasan a la circulación. Los fragmentos liberados carboxiterminales inactivos duran bastante más que la forma intacta, posiblemente porque solo son aclarados en el glomérulo.

#### **2.3.5.5. PÉPTIDO RELACIONADO CON LA PARATOHORMONA.**

El péptido relacionado con la Paratohormona (pr-PTH) fue inicialmente descubierto en tumores derivados del pulmón, mama, riñón y otros tejidos sólidos. Sin embargo, la expresión de estos péptidos se ha visto en otros tumores de células epiteliales así como en linfomas T.

El pr-PTH está compuesto por 141 aminoácidos y muestra una extraordinaria homología con la PTH en sus 13 primeros aminoácidos. Es el producto de un gen del cromosoma 12, singénico al de la Paratohormona en el 11.

Sus acciones incluyen la unión y activación del receptor de la hormona Paratiroidea estimulando los efectos biológicos de la Paratohormona en el hueso, riñones e intestino. El pr-PTH incrementa resorción ósea por la estimulación de osteoclastos y promueve la reabsorción renal tubular del calcio.

Se sabe que el pr-PTH está producido por el 50% de los tumores primarios de mama y su producción puede estar incrementada por factores derivados del hueso como el factor transformante de crecimiento  $\beta$ .

El papel fisiológico de la pr-PTH no se aclarado. Probablemente no tiene un efecto regulador en la homeostasis del calcio en condiciones fisiológicas.

Se produce en células cutáneas normales y en amnióticas y puede tener algún efecto en la replicación cutáneas normales y en el musculo liso durante el parto.

También se expresa en la mama lactante y se encuentra en suficientes cantidades en la leche materna. Además, recientes experimentos en el ratón privado (knock-out) de la pr-PTH muestran que la pr-PTH se presenta naturalmente y desempeña un papel en inhibir la diferenciación del cartílago.

Su ausencia se lleva a anormalidades en la región de crecimiento. Su sobreexpresión se ha relacionado con retraso en la osificación endocondral y anormalidades cartilaginosas.

La elevación de la pr-PTH se ha visto en aproximadamente 50% al 90% de los pacientes con hipercalcemia asociados a malignidad.

El pr-PTH se ha visto incrementado en los carcinomas epidermoides del pulmón, esófago, cuello uterino, piel y otras regiones, así como en otro tipo de cánceres, sin relación a su histología o localización.

Los niveles de pr-PTH son normales en pacientes con hiperparatiroidismo primario, hiperparatiroidismo, insuficiencia renal crónica y otras enfermedades con hipercalcemia.<sup>(2p.198-199).</sup>

#### **2.3.5.6. CALCITONINA.**

##### **2.3.5.6.1. SÍNTESIS Y METABOLISMO.**

De acuerdo a Henry la calcitonina es sintetizada y secretada por las células especializadas C (parafoliculares) de la glándula tiroides. La calcitonina circulante inmunorreactiva se deriva de un precursor mayor, y la forma monomérica es la única activa biológicamente. El monómero es un péptido de 32 aminoácidos con una masa molecular de 3,500 Da. La concentración ionizada de calcio es el regulador más importante de la secreción de calcitonina.

Los incrementos de calcio ionizado llevan a un incremento en la secreción de calcitonina. Otros potentes secretogogos de la calcitonina son el péptido gastrointestinal y la gastrina en particular. Esto último puede explicar una subida postprandial que se observa en la calcitonina.

El receptor de la calcitonina ha sido clonado y es similar estructuralmente al de la PTH/pr-PTH y los receptores de secretinas. El receptor de la calcitonina existe en varias isoformas y su expresión parece estar influenciada por las concentraciones en el ambiente de la propia calcitonina. La calcitonina se metaboliza fundamentalmente en el riñón en cuestión de minutos.

#### **2.3.5.6.2. PAPEL FISIOLÓGICO.**

Aunque la calcitonina se ha considerado un potente regulador del metabolismo cálcico por su capacidad de disminuir los niveles de calcio y fosforo, su papel propio no está claro. La calcitonina inhibe directamente la reabsorción de hueso por los osteoclastos, lo que se observa apenas minutos después de su administración.

Esta inhibición es transitoria y posiblemente no sea de gran importancia para el metabolismo calcio-fosforo aunque pueda ser importante en el control a corto plazo de las sobrecargas cálcicas.

Aunque muchos estudios clínicos sugieren que los niveles plasmáticos de calcio no se ven afectados en los pacientes con tiroidectomía total, otros señalan que el tumor medular de tiroides y el exceso de calcitonina puede dar lugar a hipocalcemia.*(p<sup>2</sup>.199)*.

#### **2.3.6. METABOLISMO MINERAL DE PARATOHORMONA.**

De acuerdo a Henry 2005 el esqueleto es un órgano metabólicamente activo que está expuesto a remodelación a lo largo de la vida. Esta remodelación es necesaria

para mantener tanto su estructura integral como para ayudar a las funciones metabólicas como almacenamiento del fósforo y el calcio. La remodelación esquelética puede ser estimulada por cambios en las fuerzas mecánicas o daño microscópico, así también como por la respuesta hormonal a cambios minerales del calcio y el fósforo. El órgano esquelético funciona como segunda defensa frente a la acidosis.

Básicamente se conoce que existen dos clases de hueso: cortical o compacto y trabecular o poroso. El hueso cortical cumple el papel importante de funcionar como soporte, protector y mecanizar el esqueleto. El hueso cortical conforma los pilares de los huesos largos y la capa externa de todos los huesos, y constituye aproximadamente el 80% de la masa ósea. El hueso trabecular tiene una forma que se asemeja a un panal de abejas, en haces y sirve como lugar para la formación de osteoblastos y osteoclastos (formación ósea), sirve como almacenamiento y reserva de minerales como son el calcio y el fósforo. El hueso trabecular forma la parte interna de vertebras y pelvis, así como los extremos de los huesos largos.

Ambos tipos de huesos están compuestos principalmente de minerales inorgánicos tales como calcio, fósforo, y de una matriz orgánica. La mayor parte de esta matriz orgánica está compuesta aproximadamente del 90% al 95% por colágeno tipo I y el resto, del 5% al 10%, de proteínas no colágenas como son la osteocalcina, osteopontina, osteonectina, trombospondina, sialoproteínas y otras menos caracterizadas.

Los osteoclastos reabsorben al hueso produciendo así iones de hidrógeno para movilizar los minerales y enzimas proteolíticos para hidrolizar la matriz orgánica. Los osteoblastos se encargan de sintetizar la matriz orgánica y controlan también mineralización de la matriz nueva sintetizada. La concentración de los minerales como son el calcio, fosfato y el magnesio en el plasma dependen del efecto neto de la información y reabsorción ósea, la absorción mineral y la pérdida renal. Las hormonas encargadas de la regulación son la PTH, la calcitonina y el 1,25-dihidroxicolecalciferol.<sup>(2p.194-195)</sup>.

### **2.3.6.1. CALCIO.**

#### **2.3.6.1.1. DISTRIBUCIÓN.**

De acuerdo a Henry 2005 el calcio se encuentra en el quinto elemento más común y el catión más prevalente del cuerpo humano. Un individuo sano contiene de 1kg a 1,3kg de calcio, el 99% en forma de hidroxapatita en el esqueleto. El resto (1%) está en el líquido extracelular y los tejidos blandos. Además, menos del 1% del contenido esquelético está en forma fluida y se intercambia libremente con el líquido extracelular.

En el plasma sérico encontramos al calcio de tres diferentes formas: 1° libre o ionizado, que fisiológicamente se encuentra en su forma activa, y supone el 50% del calcio sérico; 2° el calcio se encuentra unido a una serie de aniones como el bicarbonato, lactato, fosfato o citrato, todos estos aproximadamente en un 10%; 3° aproximadamente el 40% restante del calcio, está unido a proteínas plasmáticas.

Tanto como el calcio ionizado como el unido a otras moléculas son dializables. El calcio que se encuentra unido a proteínas, aproximadamente el 80% de este calcio se encuentra unido a la albúmina. Ya que el calcio se une a sitios con carga negativa en las proteínas, su unión es pH dependiente. Así las distribuciones relativas de las tres formas se alteran como resultado de los cambios en el pH del líquido en el espacio extracelular o la concentración de una proteína dada. La alcalosis (pH básico) favorece a la unión, con una unión subsiguiente del calcio libre, mientras que la alcalosis (pH ácido) produce el incremento correspondiente.

#### **2.3.6.1.2. FUNCIÓN.**

La mineralización en el hueso es de vital importancia, y el calcio en este caso tiene el importante papel en los procesos fisiológicos básicos como la transmisión neuronal,

la actividad enzimática, la coagulación sanguínea, el mantenimiento del tono normal y la excitabilidad del músculo esquelético y el miocardio.

El calcio también está implicado en la síntesis glandular y la regulación de las glándulas exocrinas y endocrinas, así como la preservación de la membrana en permeabilidad y integridad, especialmente en el intercambio de potasio (K) y sodio (Na). Tomando en consideración la toma media de calcio en la mayoría de adultos en países desarrollados es aproximadamente de 15 mmol/día a 20 mmol/día (600 mg/día a 800 mg/día), la mayoría de la cual procede de la leche y derivados.

Habitualmente se debería realizar una dieta de 1200 mg de calcio en el embarazo y la lactancia y de 800 mg a 1200 mg de calcio durante la infancia. Actualmente, se pone mayor énfasis en el suplemento del calcio para las personas mayores, particularmente mujeres posmenopáusicas para prevenir o por lo menos retrasar, las manifestaciones de la osteoporosis.

Muchos médicos recomiendan por lo menos 1000 mg de calcio suplementario diario. El calcio es absorbido por mecanismos de transporte activo y que es producida en su mayoría en el duodeno y el yeyuno. Menos de la mitad del calcio de la dieta se absorbe en el adulto.

Sin embargo, la absorción de calcio se incrementa en periodos de rápido crecimiento en los niños, en el embarazo y la lactancia y disminuye con la edad avanzada. El mayor estímulo para la absorción de calcio es la vitamina D. Esta absorción también aumenta junto con la hormona del crecimiento, un medio ácido en el intestino, y aumento de la dieta diaria proteínica. La relación que existe entre calcio y fósforo en los contenidos intestinales también es importante ya que una relación mayor de dos tienen a inhibir la absorción de calcio.

El ácido fítico, derivado de varios granos de cereales, puede formar compuestos insolubles con el calcio, como también el oxalato y los ácidos grasos.

El cortisol y la excesiva alcalinidad de los contenidos intestinales también impiden su absorción. A través del sudor se estima una pérdida de calcio de aproximadamente desde 15 mg a más de 100 mg. La pérdida de calcio puede sobrepasar este valor al encontrarse el individuo en condiciones ambientales extremas. La mayor pérdida de calcio se produce en la orina, y varía entre 2,5 mmol/día y 10 mmol/día (100mg/día a 200 mg/día). En individuos normales existen grandes variaciones en la toma de calcio tienen pocos efectos en las pérdidas urinarias. La pérdida urinaria de calcio viene favorecida de hipercalcemia, la de privación del fosfato, acidosis y glucocorticoides.

La hormona paratiroidea (PTH), ciertos diuréticos y probablemente la vitamina D disminuye la pérdida de calcio por vía urinaria. La fisiología del calcio, sus hormonas reguladoras y alteración de la homeostasis en la situación de enfermedad han sido revisadas extensamente.

### **2.3.6.1.3. HOMEÓSTASIS DEL CALCIO.**

En el líquido del espacio extracelular la concentración ionizada del calcio se mantiene constante dentro de un estrecho margen en torno a 1.25 umol/l. Esto se consigue fundamentalmente por las acciones del PTH y la vitamina D<sub>2</sub> activa, 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>.

Las principales funciones que deben cumplir estas hormonas se encuentran en el hueso, el intestino y el riñón. Cuando la concentración de calcio ionizado cae, la PTH nota el cambio por medio de un sensor en la membrana para el calcio y se secreta la PTH inmediatamente. La PTH libera calcio al líquido extracelular que actúa sobre el hueso. La PTH actúa al mismo tiempo en el riñón e incrementa la secreción de fosfato y en la nefrona distal se produce algo de reabsorción de calcio, logrando así la concentración normal de calcio.

Para que estos tres actos funcionen correctamente, necesita una acción suficiente del 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Por otra parte, la vitamina D es activada exclusivamente por el riñón.

La calcitonina posiblemente cuente con un proceso regulatorio, pero su significación en el cuerpo humano es controvertida.

Las hormonas tiroideas, hormona de crecimiento, glucocorticoides suprarrenales y esteroides gonadales afectan al metabolismo del calcio pero cuya secreción no está afectada primariamente por cambios de calcio del plasma y el fosfato. (<sup>2</sup>p.195).

### **2.3.6.2. FÓSFORO.**

#### **2.3.6.2.1. DISTRIBUCIÓN.**

De acuerdo a Henry 2005 en el cuerpo de individuos normales el contenido total de fósforo es aproximadamente de 700 g, y de esta concentración de fósforo en el cuerpo, el 85% se encuentra en el esqueleto, y el 15% se encuentra en líquido extracelular y en tejidos blandos. El esqueleto contiene fundamentalmente fósforo inorgánico, mientras que en los tejidos blandos es orgánico.

En la sangre el fosfato orgánico se encuentra principalmente en las células, el plasma contiene fundamentalmente fósforo inorgánico.

El fosfato inorgánico del suero existe de dos formas aniónicas: divalente ( $\text{PO}_4\text{H}^{2-}$ ) y monovalente ( $\text{PO}_4\text{H}^-$ ). El cociente ( $\text{PO}_4\text{H}^-$ ): ( $\text{PO}_4\text{H}^{2-}$ ) es pH dependiente y varía de 1:1 en acidosis; 1:4 con pH 7.4 y 1:9 en alcalosis.

El fósforo del suero se encuentra unido a proteínas aproximadamente en un 10%; un 35% se encuentra unido a calcio, magnesio y sodio; y los restante, aproximadamente hablamos de 55% está libre. Solamente el fósforo inorgánico es el que se mide de forma habitual.

#### **2.3.6.2.2. FUNCIÓN.**

Después de su función en el órgano esquelético, el fósforo tiene como importancia para ayudar en funciones intracelulares y extracelulares. El fósforo sirve como constituyente de fosfolípidos, ácidos nucleicos y fosfoproteínas.

El fósforo forma compuestos altamente energéticos (ATP) y cofactores (NADP) y participa en el metabolismo intermediario y en varios sistemas enzimáticos (adenilato ciclasa). En las contracciones musculares, funciones neurobiológica, transporte eléctrico y transporte de oxígeno con la hemoglobina el fósforo es necesario para todas estas vitales funciones.

#### **2.3.6.2.3. HOMEÓSTASIS DEL FÓSFORO.**

En casi todas las comidas el fósforo está presente. Hablando de una dosis media diaria en el adulto está entre los 800 mg y 1400 mg, la mayoría de este fósforo se encontrara en la leche y sus derivados, cereales, huevos y carne. El fósforo es absorbido aproximadamente de un 60% a 80% en el intestino, fundamentalmente por transporte pasivo. Sin embargo, existe un proceso activo dependiente de la energía que se estimula por la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ .

El fósforo es filtrado libremente en el glomérulo. Aproximadamente más de un 80% del fósforo que ha sido filtrado por el glomérulo será reabsorbido en el túbulo proximal y una muy pequeña cantidad en el distal. La reabsorción proximal se produce por el transporte pasivo acoplado al sodio (cotransporte Na-P). Este cotransporte es regulado fundamentalmente por la toma de PTH y del fósforo.

Al pedir una restricción dietética del fósforo se logra aumentar la reabsorción y la ingesta de fósforo la frena. La PTH induce fosfaturia por inhibición del cotransporte Na-P. El efecto es producido fundamentalmente en el túbulo proximal.

La PTH se une a receptores específicos en la membrana basal lateral dando lugar a la activación de dos vías (la adenilato-ciclasa/AMP cíclico/proteína-cinasa A y la de la fosfolipasa C/calcio/proteína-cinasa C) ambas están implicadas en la inhibición del cotransporte Na-P. (<sup>2</sup>p.196-197).

### **2.3.7. TRASTORNOS.**

#### **2.3.7.1. HIPERCALCEMIA.**

De acuerdo a Henry 2005 en un individuo el aumento de calcio sérico se encuentra asociado con náusea, vómitos, estreñimiento, anorexia, hipotonía, depresión, T de alto voltaje en electrocardiograma y ocasionalmente letargia en coma. Se puede dar deposiciones de calcio ectópicas en los tejidos (como por ejemplo en vasos sanguíneos, mucosa gástrica, riñones, tejido conectivo y articulaciones), este proceso el cual se da por presencia de una Hipercalcemia persistente. La principal causa de Hipercalcemia es el Hiperparatiroidismo primario y las neoplasias, que suman del 80% al 90% de todos los casos de Hipercalcemia. Por casos menos frecuentes se encuentran: insuficiencia renal, diuréticos, enfermedades endocrinas, tratamiento con litio, intoxicación por vitamina A y D, síndrome leche-alcalinos, inmovilización y la Hipercalcemia hiper calciúrica familiar.

Una secreción excesiva de PTH en ausencia de un estímulo apropiado se lo conoce como hiperparatiroidismo primario (PHPT), lo cual provoca una alteración generalizada en el metabolismo del calcio, fósforo y huesos. Aproximadamente se dan unos 100.000 casos al año en países desarrollados, esta incidencia aumenta con la edad. La incidencia en mujeres se dobla con respecto a los hombres. La mayor parte de los casos se dan por un adenoma solitario hiperparatiroideo. Otras causas son los adenomas múltiples, la hiperplasia y más raramente el carcinoma.

La hipercalcemia del (PHPT) se caracteriza típicamente por ser hiperfosfatemica debida a la diuresis aumentada del fosforo por la PTH y se acompaña frecuentemente por una acidosis leve por la disminución de la absorción de bicarbonato por el riñón.

La hipercalcemia se atribuye a: La acción directa de la PTH sobre el hueso, causando aumento de reabsorción; a la absorción renal activada por la PTH y, al incremento de la biosíntesis renal de  $1,25(OH)_2D_3$ , que incrementa la absorción intestinal del calcio. Más de la mitad de los pacientes con PHPT están asintomáticos.

Los pacientes sintomáticos suelen presentar inicialmente: nefrolitiasis recurrente, estreñimiento mantenido, depresión, difusión neuromuscular, pancreatitis crónica recurrente, ulcera péptica y, menos frecuentemente, osteopenia prematura. La única manifestación ósea de la PHPT es la osteítis fibrosa quística, caracterizada por la disminución de las trabéculas óseas, incremento de osteoclastos gigantes multinucleados en la superficie del hueso y reemplazo de los elementos normales de la medula ósea por tejido fibroso.

La osteítis fibrosa cística es poco común hoy en día por la mejoría en las técnicas de densitometría ósea. La PHPT puede ser heredada y se presenta como un defecto autosómico dominante como la parte de la neoplasia endocrina múltiple (MEN).

El MEN1 consiste en hiperparatiroidismo y tumores del páncreas y la hipófisis, a menudo asociados a síndrome de Zollinger-Ellison, que está caracterizado por hipersecreción de ulcera gástrica y gastrina. El MEN2A es hiperparatiroidismo, feocromocitoma y carcinoma medular de la tiroides. Estudios realizados han demostrado alteraciones moleculares en el hiperparatiroidismo.

Un locus genético en el cromosoma 11 se ha asociado al MEN1. Este mismo locus parece perderse en un 25% de los adenomas solitarios paratiroides, implicando al mismo mecanismo responsable del MEN1 pero de forma esporádica. En el MEN2A hay una mutación en el proto-oncogén tipo tirosina-cinasa que tienen todas las células como defecto de línea germinal y puede diagnosticarse por técnicas de genética molecular.

El hiperparatiroidismo secundario se produce cuando existe resistencia a la acción de la PTH, como en pacientes con insuficiencia renal, déficit de vitamina D y pseudohipoparatiroidismo. Esto lleva a la hiperplasia de la glándula paratiroidea y a una producción excesiva de PTH. Las relaciones del hipertiroidismo secundario con la insuficiencia renal crónica (IRC) son muy complejas. La patogénesis varía más o menos, dependiendo de la naturaleza y la gravedad de la enfermedad renal.

Sin embargo, es crucial la disminución de excreción del fosfato por la dificultad en la filtración glomerular. Estos pacientes presentan una tendencia inicial a la hipercalcemia secundaria a la retención del fosforo, así como a una disminución en la producción de  $1,25(OH)_2D$  en el riñón. El descenso de  $1,25(OH)_2D$  causa una respuesta disminuida del esqueleto a la PTH, disminución a la absorción de calcio del intestino y eventualmente hiperplasia de la glándula paratiroidea.

En estos pacientes se incluyen un calcio bajo a normal e hiperfosfatemia. Más tarde, en casos de hiperparatiroidismo secundario grave hay hipercalcemia e hiperfosfatemia. Además el dolor óseo, la calcificación ectópica y el punto pueden verse. La enfermedad ósea existente en el hiperparatiroidismo secundario y la insuficiencia renal se llama habitualmente osteodistrofia renal.

En pacientes hospitalizados la causa más frecuente de hipercalcemia, es la enfermedad maligna. Una hipercalcemia que se encuentra asociada con una malignidad puede encontrarse dividida en casos con o sin metástasis óseas.

En enfermedades hematológicas, cáncer de mama, cáncer de pulmón y otros, las lesiones óseas son más frecuentes.

Otros mecanismos se han implicado en el desarrollo de la hipercalcemia, incluyendo desnutrición directa del hueso, secreción de factores activadores del osteoclasto por células tumorales, secreción de linfocinas con actividad absorbente de hueso como interleucina-1 y factor de necrosis tumoral.

La intoxicación por vitamina D es otra causa de hipercalcemia y habitualmente es el resultado de la ingesta excesiva de suplementos vitamínicos durante un periodo prolongado de tiempo. El calcio es absorbido mayormente cuando existe una ingesta excesiva de vitamina D, aumento de reabsorción ósea e hipercalciuria. La PTH está suprimida, pero el desarrollo conjunto de insuficiencia renal puede hacer difícil el excluir el hiperparatiroidismo; se ha implicado con el mayor responsable de este síndrome al 25(OH) D.

Apoyado por una buena historia clínica se obtiene el diagnóstico, la medición de 25(OH) D y la respuesta temprana a la instauración del tratamiento con corticosteroides. Clínicamente, la causa principal de intoxicación por vitamina D es la debilidad, irritabilidad, náuseas, vómitos y diarrea.

Es un hecho común la calcificación de los tejidos blandos, dado que el fósforo sérico tiene a estar elevado. La intoxicación puede persistir durante meses por los depósitos en la grasa de la vitamina D.

Para el diagnóstico diferencial de hipercalcemia las pruebas de laboratorio incluyen la medida del calcio total e ionizado, calcio urinario, fósforo urinario y sérico, fosfatasa alcalina, PTH intacta, pr-PTH y AMPc urinario.

En varios casos la determinación de otros elementos son de valiosa importancia como por ejemplo son: la hormona de crecimiento, cortisol, test de supresión de cortisona, caracterización venosa selectiva y determinación del PTH local y medición de metabolitos de la vitamina D.

Para una interpretación coherente de los datos se requiere a menudo de pruebas especiales para así completar la historia clínica y la exploración física.

Los estudios de función renal y del balance ácido-base pueden estar indicados. En sitios apropiados el examen histopatológico de biopsia puede ser de incalculable valor en algunos casos.

### **2.3.7.2. HIPOCALCEMIA.**

Hablando de una hipocalcemia crónica esta se manifiesta con presentaciones neuromusculares y neurológicas que incluyen espasmos musculares, espasmos carpopedades, arritmias cardíacas, parestesias periféricas y periorales, alargamiento del intervalo QT y ondas T de bajo voltaje en el electrocardiograma y, en casos severos, espasmos laríngeos y convulsiones.

En estos casos se pueden presentar paradas respiratorias. La tetania a la larga es producida por una hipocalcemia grave.

La hipocalcemia puede ser producida por muchas razones que pueden ser divididas en grandes categorías: La existencia de una deficiencia en la producción de PTH o su secreción; la existencia de una resistencia a la acción de la PTH; un déficit de vitamina D o de sus metabolitos y, el déficit en la mineralización ósea con metabolismo de la vitamina D y PTH normales.

La hipocalcemia se puede presentar por las siguientes razones: hipomagnesemia, hipoparatiroidismo, déficit de la vitamina D, pancreatitis aguda, insuficiencia renal crónica y pseudohipoparatiroidismo.

Menos frecuente la cifra baja de calcio se ve en pacientes graves por sepsis, heridas e insuficiencia renal aguda.

Se puede presentar una hipocalcemia tras la administración de fármacos como heparina, protamina, glucagón, así como tras transfusión masiva de productos sanguíneos.

El hipoparatiroidismo hereditario o adquirido se caracteriza por una producción de PTH por las glándulas paratiroides disminuida o ausente, lo que lleva a una caída del calcio plasmático y la correspondiente hiperfosfatemia.

Estos pacientes tienen bajos niveles de  $1,25(OH)_2D$  o ausentes. En el pasado, hipoparatiroidismos secundarios a cirugía del cuello y tiroidectomías, en particular, eran más comunes que la forma hereditaria. Con la mejoría de las técnicas quirúrgicas, sin embargo, su incidencia ha disminuido enormemente.

El hiperparatiroidismo hereditario puede darse como una forma aislada con un patrón de herencia variable (hipoparatiroidismo idiopático) o en asociación a un trastorno del desarrollo tanto del timo como de las glándulas paratiroides (síndrome de Di George o disgenesia braquial), o como parte de un complejo síndrome hereditario autoinmune que afecta a varias glándulas: suprarrenales, ovarios y paratiroides, conocido como síndrome de deficiencia poliglandular autoinmune.

El hipoparatiroidismo hereditario se manifiesta, a menudo, en la primera década de la vida, y además de la PTH baja o ausente y la hipocalcemia se dan ciertas manifestaciones cutáneas, como alopecia y candidiasis.

Una enfermedad causada por la inefectividad de la PTH más que por un fallo en su producción se la conoce como el pseudohipoparatiroidismo (PNP).

Clínicamente, la PNP tiene características las cuales son comunes con el hipoparatiroidismo como clasificación extraósea, papiledema, aumento de la presión intracraneal, síntomas extrapiramidales como los movimientos coreoatetósicos y distonía, cambios crónicos en el pelo y en las uñas y cataratas.

A pesar de que la concentración de PTH está aumentada el calcio sérico se encuentra disminuido. Más aun, mientras que la infusión de PTH a los pacientes con hipoparatiroidismo suele producir un incremento de AMPc.

Debido a un defecto de la proteína estimuladora G de la adenilato ciclasa que es necesaria para la acción de la Paratohormona.

La hipocalcemia asociada a hipomagnesemia se asocia tanto a una liberación deficiente de PTH de las glándulas paratiroideas como a una falta de respuesta biológica a la acción de la Paratohormona.

La hipovitaminosis D puede ser originada por una insuficiente toma en la dieta, incapacidad del intestino delgado para absorber cantidades suficientes de vitamina, por una inadecuada producción de vitamina D<sub>3</sub> en la piel y resistencia a los efectos de la vitamina D (se puede dar por un número insuficiente o a receptores defectuosos para la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D o el uso de drogas que antagonizan la acción de la vitamina D.

La hipovitaminosis D se encuentra asociada con alteraciones en el metabolismo mineral y defectos en la secreción de Paratohormona y la mineralización en el esqueleto como raquitismo en los niños y osteomalacia en los adultos.

Una insuficiente absorción de calcio intestinal e hipopotasemia son producidos por niveles disminuidos de vitamina D, seguido del incremento en la producción de la hormona Paratiroidea (hiperparatiroidismo secundario).

El aumento de Paratohormona estimula la salida de calcio en el hueso y disminuye su aclaramiento renal, por lo que se aumenta sus niveles sanguíneos.

Si la hipovitaminosis persiste puede producir una hipocalcemia grave.

### **2.3.7.3. HIPERFOSFATEMIA.**

Habitualmente es causada por un descenso en la excreción renal del fosforo en la insuficiencia renal aguda o crónica; toma exacerbada oral, renal o intravenosa; o una carga extracelular excesiva por un transporte entre células por acidosis.

Se encuentran de forma menos comunes son la reabsorción tubular aumentada del hiperparatiroidismo; pseudohipoparatiroidismo; etiodronato de sodio y acromegalia;

y carga extracelular por lisis celular como la rabdmiólisis, la hemolisis intravascular, leucemia, linfoma y tratamiento citotóxico.

Además, la hiperfosfatemia puede producirse secundaria a sobremedicación con vitamina D o producción de vitamina D por tejido de granulación en enfermedades como tuberculosis o sarcoidosis. Una hiperfosfatemia no produce síntomas directos.

Cuando existen valores altos y estos se mantienen por largos períodos, sin embargo, se aumenta la mineralización y se pueden producir depósitos anormales de fosfato cálcico. La calcificación ectópica es una complicación frecuente de los pacientes con insuficiencia renal crónica que reciben suplementos de vitamina D para corregir su hiperfosfatemia y resulta insuficiente.

#### **2.3.7.4. HIPOFOSFATEMIA.**

De todos los ingresos hospitalarios la frecuencia de hipofosfatemia se ve en un 0,25% a 2,15%. La causa más frecuente de hipofosfatemia grave es el abuso de alcohol, probablemente por escasez de ingesta alimentaria, vómitos, uso de antiácidos y fosfaturia marcada.

Se produce también por la ingesta de antiácidos no absorbibles que se unen al fosfato. La hipofosfatemia puede ser inducida por algunos mecanismos, incluyendo la excreción urinaria aumentada, la redistribución interna, disminución de la absorción intestinal o la combinación de todas.

La forma más común es el intercambio de fósforo del exterior al interior de las células, lo que se puede ver en alcalosis respiratoria asociada a sepsis, la intoxicación por salicilatos, la abstinencia alcohólica, la insolación y el coma hepático, incremento de la insulina al administrar glucosa, recuperación tras cetoacidosis diabética y alimentación de pacientes malnutridos.

La pérdida urinaria mayor es secundaria a hiperparatiroidismo, trastornos tubulares renales como en el síndrome de Fanconi y la hipofosfatemia familiar, el raquitismo ligado al cromosoma X resistente a la vitamina D, aldosteronismo, administración de glucocorticoides y mineralcorticoides, y tratamiento diurético.

La hipofosfatemia por pérdidas urinarias se observa hasta un 30% de los pacientes con neoplasias como ciertas leucemias y linfomas, la diuresis osmótica, y la expansión del volumen aguda. La disminución de la absorción intestinal se ve en la malabsorción, el déficit de vitamina D y la esteatorrea. La hipofosfatemia sintomática se observa cuando el fosforo urinario cae por debajo de 0,32 mmol/l.

Las manifestaciones clínicas incluyen anorexia proximal, mareos, miopatía, disfagia, íleo, insuficiencia respiratoria por debilidad de la musculatura respiratoria, dificultades en la contractilidad cardíaca por depleción de ATP en las células miocárdicas y encefalopatía metabólica. (<sup>2</sup>p.200-203).

## **2.3.8. ENFERMEDAD ÓSEA METABÓLICA.**

### **2.3.8.1. OSTEOPOROSIS.**

De acuerdo a Henry 2005 la osteoporosis es una enfermedad esquelética sistémica caracterizada por la baja masa ósea y el deterioro microestructural del tejido óseo, con el consiguiente incremento de la fragilidad y susceptibilidad a fracturas. Esta es enfermedad metabólica ósea más frecuente.

La masa metabólica y su fortaleza vienen determinados por factores como la densidad volumétrica, el tamaño óseo, la microarquitectura y la calidad intrínseca del tejido. Estos factores expresan probablemente la diferencia entre el proceso de crecimiento óseo y su pérdida, con modificaciones selectivas según el sitio afectado.

La más expuesta a riesgo de osteoporosis son las mujeres blancas postmenopáusicas y las mujeres asiáticas delgadas o pequeñas y que tengan antecedentes familiares.

Hay una serie de factores en el estilo de vida que acrecientan la posibilidad de osteoporosis: fumar, abusar del alcohol, sedentarismo y el bajo consumo de calcio.

Pruebas importantes señalan que los factores genéticos y de estilo de vida son importantes determinaciones del pico de masa ósea.

Estudios recientes han identificado varios genes que intervienen en la ganancia del hueso en la infancia y la pérdida posterior, como los alelos del extremo final 3' del receptor de la vitamina D, el gen del receptor estrogénico, y el colágeno tipo  $\alpha 1$ .

Además la osteoporosis puede partir de otras enfermedades, contacto con ciertos fármacos y procedimientos quirúrgicos. La apariencia radiológica de disminución difusa de la densidad ósea se refleja en los hallazgos de anatomía patológica con corticales adelgazadas y finas trabéculas. Las deformaciones esqueléticas, el dolor óseo y las fracturas son las secuelas comunes. La forma más común abrumadoramente es la posmenopáusica.

Como es más metabólicamente activo, el hueso trabecular se ve afectado más que el cortical en este tipo de osteoporosis. La pérdida de hueso postmenopáusico parece asociarse a una actividad osteoclástica excesiva.

De forma opuesta, la osteoporosis senil se asocia a un declinar progresivo en la aportación de osteoblastos según la demanda y afecta más al cortical.

### **2.3.8.2. OSTEOMALACIA Y RAQUITISMO.**

La osteomalacia y el raquitismo son trastornos de mineralización. La osteomalacia es la incapacidad de mineralizar la nueva matriz orgánica formada. La formación del hueso se produce pero con hueso "blando".

La debilidad, la deformidad esquelética y el dolor, así como las fracturas pueden darse cuando la enfermedad progresa. Los rayos X revelan rarefacción generalizada del esqueleto con un patrón trabecular acentuado. El raquitismo en los niños es la denominación de la osteomalacia cuando el crecimiento no ha finalizado, es decir, el cierre de la epífisis de los huesos.

Las deformaciones esqueléticas en el raquitismo se acentúan como consecuencia del crecimiento compensatorio del cartílago epifisario. Bandas amplias de dicho cartílago permanecen no mineralizadas e irresorbibles.

En los casos graves de raquitismo, la disminución del crecimiento puede asociarse con deformaciones tan evidentes como hinchazón de las articulaciones costocondrales de las costillas, esternón protuberante, agrandamiento frontal y retraso en el cierre de la fontanela anterior.

La mineralización óptima requiere: 1) un aporte adecuado de calcio e iones de fosfato del líquido extracelular; 2) un PH adecuado (~7,6); 3) una matriz ósea con componentes equilibrados y una tasa normal de formación, y 4) controles de inhibidores de formación ósea. Las más importantes enfermedades que producen osteomalacia o raquitismo son: déficit de vitamina D, depleción de fosfato, acidosis sistémica y los inhibidores de la mineralización.

El déficit de la vitamina D es particularmente importante en la infancia y puede ser causado por una dieta incorrecta, malabsorción intestinal, disminución en la síntesis de los metabolitos activos, catabolismo acelerado o resistencia periférica a la acción de la vitamina D. el déficit dietético es poco frecuente en los EE.UU. debido a lo extendido del consumo de leche reforzada, pan y los suplementos vitamínicos. Cuando se produce el déficit en adultos es habitualmente por malabsorción. Dado que la vitamina D es una vitamina lipoabsorbible, su absorción es debilitada por el esprué, la enfermedad biliar o pancreática, o la esteatorrea y otras causas, la resistencia sistémica a la vitamina D puede ser de gran importancia en la osteomalacia que acompaña la insuficiencia renal crónica.

Por otra parte, la resistencia hereditaria al  $1,25 (OH)_2D_3$ , conocida como raquitismo dependiente de la vitamina D tipo II, es una enfermedad rara causada por varios defectos en el receptor de la vitamina D.

La hipofosfatemia puede deberse a déficit dietético, pérdidas excesivas en orina y en heces, o paso a las células. Dado que el fósforo está presente en muchos alimentos es difícil crear un déficit selectivo al fósforo solo por medios dietéticos. El abuso de alcohol es la causa más frecuente de déficit de fósforo, debido probablemente a la escasa ingesta alimenticia, vómitos antiácidos y fosfaturia marcada.

La hipofosfatemia también puede deberse a la ingesta de grandes cantidades de antiácidos no absorbibles, defectos selectivos en la reabsorción de fósforo renal y trastornos generalizados tubulares (síndrome de Fanconi).

### **2.3.8.3. ENFERMEDAD DE PAGET.**

La osteítis deformante, o enfermedad ósea de Paget, es una enfermedad crónica del hueso que puede ser focal o afectar a áreas extensas del esqueleto. La reabsorción de hueso, la producción abundante de osteoide pobremente mineralizado y anormal, y la formación de tejido fibrótico da lugar a un hueso estructuralmente débil y tendiente a las fracturas y deformidades.

La causa del Paget es actualmente desconocida. La historia familiar o infecciones víricas han sido señaladas en la patogénesis de la enfermedad. El sarcoma osteogénico es la complicación tardía en un bajo porcentaje de casos. Los niveles séricos de calcio y fósforo inorgánico son normales aunque ocasionalmente son elevados.

De interés particular es lo elevado de la FA en el plasma, que refleja la actividad osteosintética, aunque patológica. La excreción urinaria de calcio y fósforo es normal o elevada, mientras que la hidroxiprolina es habitualmente y significativamente

elevada. La enfermedad de Paget suele responder clínicamente a la administración de calcitronina terapéutica.

#### **2.3.8.4. OSTEODISTROFIA RENAL.**

Los cambios de la vitamina D y la PTH en el metabolismo de los pacientes con insuficiencia renal crónica tienen efectos profundos en la actividad de los osteoclastos y osteoblastos. En general predomina la destrucción ósea y la formación ósea esta disminuida. Aunque las manifestaciones de laboratorio y las manifestaciones clínicas de los pacientes con insuficiencia renal terminal pueden variar sensiblemente, el desarrollo de enfermedad ósea -osteodistrofia renal o urémica- es universal.

La enfermedad metabólica de la insuficiencia renal terminal se asocia a hiperplasia paratiroidea. A principios de los 70 se sugirió que la razón por la que se estimulaba la secreción de PTH en la uremia era la hipocalcemia causada por la retención de fosfato (teoría del intercambio). El alto recambio celular es debido al resultado de dicha hipersecreción de PTH que a menudo progresa a osteítis fibrosa.<sup>(2p.205-206).</sup>

#### **2.3.9. PRUEBAS DE DIAGNOSTICO SEROLÓGICO.**

Es un examen del líquido seroso de la sangre (suero, el líquido transparente que se separa cuando la sangre se coagula) que se utiliza para detectar la presencia de anticuerpos contra un microorganismo.

En otras palabras, la serología se refiere al estudio del contenido de anticuerpos en el suero. Ciertos microorganismos estimulan al cuerpo para producir estos anticuerpos durante una infección activa.

En el laboratorio, los anticuerpos reaccionan con los antígenos de formas específicas, de tal manera que se pueden utilizar para confirmar la identidad del microorganismo en particular.

Existen varias técnicas serológicas que se utilizan dependiendo de los anticuerpos de los cuales se sospecha entre las que se pueden mencionar aglutinación, precipitación, fijación del complemento, anticuerpos fluorescentes y otras.

Los laboratorios de inmunología y serología se concentran en lo siguiente: Identificar anticuerpos (proteínas hechas por una clase de glóbulo blanco como respuesta a un antígeno, una proteína extraña en el cuerpo).

Investigar los problemas del sistema inmunológico, como las enfermedades autoinmunológicas (cuando el sistema inmunológico del cuerpo ataca a sus propios tejidos) y los trastornos de inmunodeficiencia (cuando el sistema inmunológico del cuerpo no está lo suficientemente activo).

Determinar la compatibilidad de la sangre para transfusiones.<sup>5</sup><http://es.wikipedia.org/wiki/Serolog%C3%Ada>

### **2.3.9.1. REACCIÓN ANTÍGENO-ANTICUERPO.**

La reacción antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) es una de las piedras angulares en la respuesta inmunitaria del cuerpo humano. El concepto se refiere a la unión específica de un anticuerpo con un antígeno para inhibir o ralentizar su toxicidad.

El acoplamiento estructural entre las macromoléculas se realiza gracias a varias fuerzas débiles que disminuyen con la distancia, como los puentes de hidrógeno, las fuerzas de Van Der Waals, las interacciones electrostáticas y las hidrofóbicas. El reconocimiento Ag-Ac es una reacción de complementariedad, por lo que se efectúa a través de múltiples enlaces no covalentes entre una parte del antígeno y los aminoácidos del sitio de unión del anticuerpo. La reacción se caracteriza por su especificidad, rapidez, espontaneidad y reversibilidad.

### **2.3.9.2. ESPECIFICIDAD.**

Capacidad del anticuerpo de unirse al antígeno que lo estimuló a través del epítipo o determinante antigénico mediante uniones intermoleculares débiles. La unión dada por la especificidad es muy precisa y permite distinguir entre grupos químicos con diferencias mínimas a pesar de su similitud; además, permite la detención de un sólo antígeno en cuestión.

### **2.3.9.3. TEST SEROLÓGICOS.**

Elección de los test serológicos a utilizar.

Como ya expuesto, existen hoy en día tres técnicas serológicas que atienden a las necesidades del control serológico pos-terapéutico: la HAI, IFI y el test inmunoenzimático de ELISA.

Son los llamados test convencionales, utilizados ampliamente en todo el mundo, fácilmente obtenibles en el mercado, y con los cuales hay experiencia acumulada, en todos los países, por más de dos décadas. Es decir, sus resultados son indiscutibles y reproducibles. Si bien hay excepciones, es posible hacer un diagnóstico correcto en más del 98% de los infectados.

Cuando existen reacciones dudosas (en el 2%) debemos recorrer a un laboratorio especializado. Es evidente que no vamos a intentar tratar a un caso con serología dudosa. Es deseable tener la seguridad del diagnóstico serológico, lo que se obtiene utilizando por lo menos dos test serológicos de principios diferentes, o sea, ELISA y HAI, por ejemplo. En el seguimiento, se recomienda utilizar los mismos test inicialmente empleados, para permitir la comparación de resultados.<sup>6</sup>[http://es.wikipedia.org/wiki/Reacci%C3%B3n\\_ant%C3%ADgeno-anticuerpo](http://es.wikipedia.org/wiki/Reacci%C3%B3n_ant%C3%ADgeno-anticuerpo)

### 2.3.10. TIPOS DE INMUNOENSAYOS.

**RADIOINMUNOENSAYO (RIA):** el marcador es un isótopo radioactivo.

**ENZIMOINMUNOANÁLISIS (EIA):** el marcador es una enzima como por ejemplo la técnica de enzimoimmunoensayo conocido por su abreviatura ELISA.

**FLUOROINMUNOANÁLISIS:** el marcador es una molécula fluorescente, por ejemplo FIA.

**ENSAYO INMUNOQUIMIOLUMINISCENTE:** la marca es en general una enzima capaz de catalizar una reacción quimioluminiscente. Son tanto o más sensibles que los radioinmunoensayos, y no presentan riesgos de manipulación de sustancias radioactivas. En contraposición están poco desarrollados y no siempre es posible aplicarlos.<sup>7</sup><http://es.wikipedia.org/wiki/Inmunoensayo>

### 2.3.11. RADIOINMUNOENSAYO.

El Radioinmunoensayo es un tipo de inmunoensayo o método radioinmunométrico que se basa en la formación específica de los complejos Antígeno-Anticuerpo (Ag-Ac) lo que le dota de una gran especificidad unido a la sensibilidad de los métodos radiológicos. La técnica ha sido prácticamente reemplazada por el método ELISA el cual mide la unión Ag-Ac mediante colorimetrías en lugar de radiometrías. Casi todas las moléculas pueden ser antigénicas y esto se usa para que los anticuerpos puedan unirse a esa molécula y marcarla radiactivamente. Una buena manera de provocar que una molécula sea antigénica está basada en que un hapteno combinado con un coadyugante da respuesta inmune.

Un coadyuvante muy usado es la albúmina de suero bovino o BSA, por lo que al conjugar un hapteno con BSA e introducirlo en otra especie aparecerán anticuerpos contra el hapteno.

### 2.3.11.1. RADIOINMUNOENSAYOS.

#### 2.3.11.1.1. RIA DIRECTO.

El RIA se basa en la competencia existente entre el antígeno no marcado y una cantidad conocida del antígeno marcado para formar los complejos AgAc o Ag\*Ac. Con estos tres componentes (Ag, Ag\* y Ac) puede realizarse el ensayo en el que manteniendo constante la cantidad de Ag\* y Ac se observará que a mayor cantidad de Ag menos Ag\* queda unido a la cantidad fija de Ac (y por tanto menos radiactividad), lo que permitirá relacionar la radiactividad con la concentración de Ag.

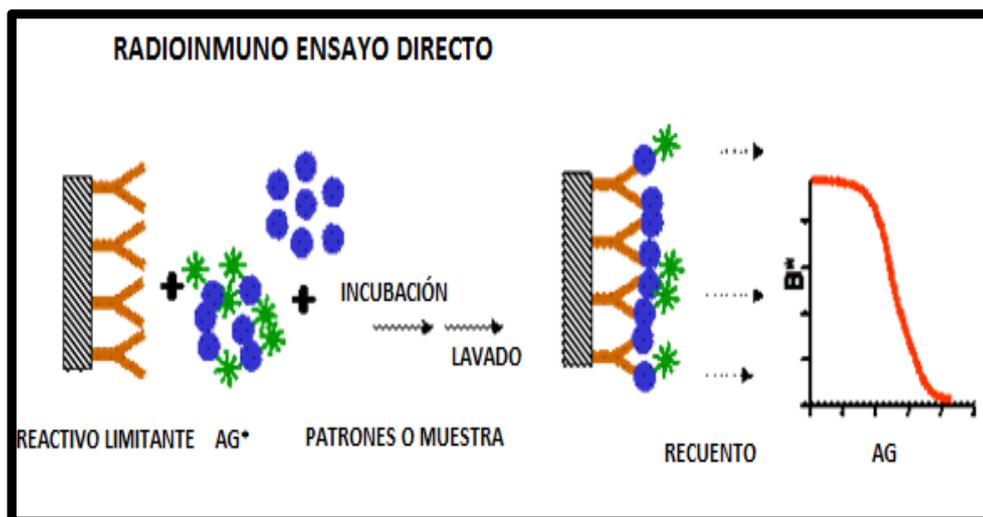


Figura N° 4: RADIOINMUNOENSAYO DIRECTO.

Fuente: <sup>8</sup><http://epidemiologiamolecular.com/reacciones-inmunoenzimaticas-ii/>

Se obtienen anticuerpos específicos, para ello se inyectan en un animal pequeñas cantidades en varias dosis del antígeno muy purificado. El animal generará anticuerpos que podrán ser recogidos del plasma sanguíneo. Se marca el antígeno radiactivamente. El antígeno marcado debe seguir siendo reconocible por el anticuerpo. Se añaden Ac a una placa de titulación y quedan unidos al soporte sólido, tras lo que se agrega el Ag\* en cantidad conocida y el Ag de la muestra problema. Se elimina el antígeno no unido por decantación y lavado, y se determina la cantidad de marcaje unido. Se interpola el valor obtenido en la recta de calibración que debe

haberse realizado con anterioridad. Para la realización del calibrado se dispone de varios tubos en los que se añaden una cantidad fija de Ac y de Ag\* y una cantidad variable de Ag a la que se añade suero normal para enrasar al mismo volumen. Así obtendríamos una tabla como la adjunta. En el tubo 1 Ac no se une a Ag. En el tubo 2 la mayoría se une a Ag\*, la competencia se va desplazando poco a poco a Ag por lo que la radiactividad de la muestra va disminuyendo (disminuyen los complejos Ac-Ag\*). Se crea una recta R vs. Ag.

### 2.3.11.1.2. RIA DE INHIBICIÓN.

Usado cuando no se puede marcar el antígeno. Se inmoviliza una cantidad constante de antígeno en un soporte sólido. Se suele saturar con BSA, leche en polvo o caseína para que no se una nada más al soporte. Se añade una cantidad constante de Anticuerpo marcado y el antígeno frío a medir (o de calibrado). En este paso se establece una competencia en la que el Ac se une al Ag fijo al soporte o al problema.

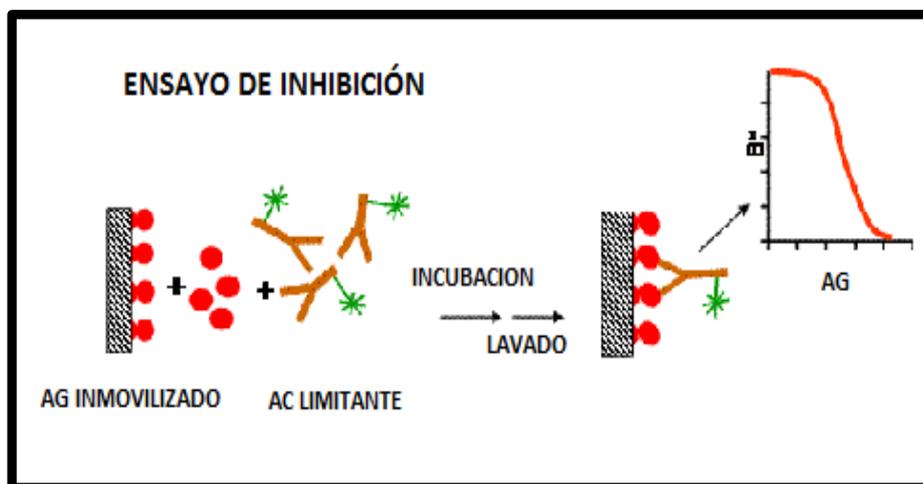


Figura N° 5: IRMA ENSAYO DE INHIBICIÓN.

Fuente: <sup>8</sup><http://epidemiologiamolecular.com/reacciones-immunoenzimaticas-ii/>

Se eliminan el anticuerpo no inmovilizado y el antígeno soluble y se determina la cantidad de anticuerpo marcado que se ha inmovilizado.

Se construye una curva de calibrado representando la cantidad de anticuerpo marcado inmovilizado frente a la concentración de antígeno soluble añadida o bien se interpola la radiactividad medida en esta curva de calibrado.

### 2.3.11.1.3. RIA DE SÁNDWICH (IRMA).

Se inmoviliza una concentración fija del  $Ac_1$  (no marcado) en un soporte sólido. Tras lo que se satura el soporte.

Se añade la muestra problema (o de calibrado) de Ag.

Se añade  $Ac^*_2$  (marcado) que se una a otro epítopo del Ag.

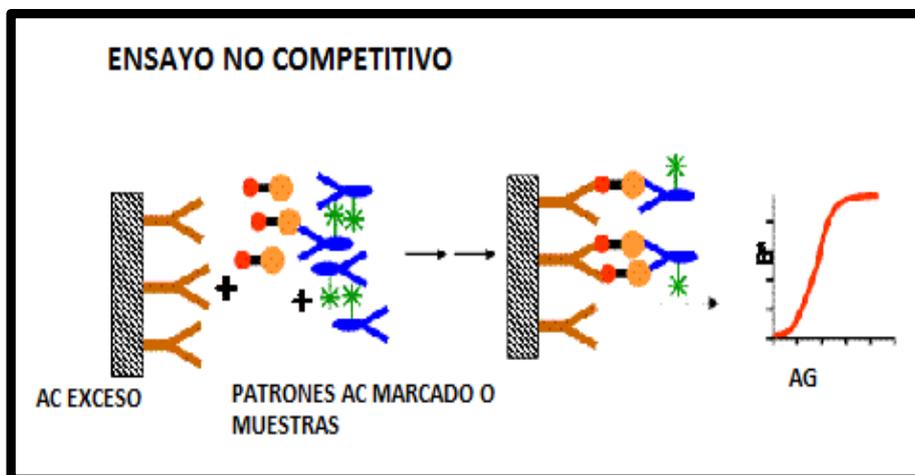


Figura N° 6: IRMA ENSAYO NO COMPETITIVO.

Fuente: <sup>8</sup><http://epidemiologiamolecular.com/reacciones-inmunoenzimaticas-ii/>

Eliminación del  $Ac^*_2$  no unido. Se determina la cantidad de anticuerpo marcado unido. A partir de una recta patrón se interpola el valor obtenido para saber la concentración de Ag presente o bien se realiza la recta de calibrado.

### **Unión no específica.**

Normalmente se suelen obtener valores de radiactividad por encima del 0 cuando  $[Ag]=0$ , esto se debe a la unión no específica (NSB). Se suelen usar algunos pocillos para calcular el NSB que existe (haciendo un blanco de calibrado).

Para ello se añade a un pocillo 1mL de suero+1mL de  $Ag^*$ +XmL de  $Ag+(1-X)$ mL de suero y al no añadir Ac se realiza el mismo proceso y al lavar se mide la unión no específica.<sup>9</sup><http://es.wikipedia.org/wiki/Radioinmunoensayo>

## **2.3.12. FASE PRE-ANALÍTICA PARA REALIZAR UN ENSAYO CON MUESTRA DE SANGRE.**

### **2.3.12.1. SOLICITUD DE ANÁLISIS.**

De acuerdo a Henry 2005 el médico inicia la petición para un análisis o medición de laboratorio complementando una orden por escrito de los análisis y mediciones del laboratorio que desea en la historia clínica o en la gráfica del paciente.

Esta información se envía por medio de una orden de entrada escrita o por ordenador. Debe contar con los siguientes datos demográficos del paciente:

- Nombre del paciente.
- El sexo, la edad, fecha de nacimiento.
- La fecha de admisión, la fecha que se realizó la orden de análisis y mediciones.
- El número de hospital, número de habitación y nombre del médico.

**Nota: las etiquetas generadas por ordenadores deben constar los datos del paciente (número de acceso, tiempo de extracción, tipo de tubo y nombre de la prueba o del área a la que pertenece la muestra).**

### **2.3.12.2. PREPARACIÓN DEL PACIENTE.**

Cuando se prepara a un paciente para una flebotomía o extracción sanguínea se debería tener cuidado para minimizar los factores relacionados con las actividades que pueden influir en las resoluciones del laboratorio. Estos factores incluyen las variaciones diarias, el ejercicio, el ayuno, la dieta, el consumo del alcohol, el fumar tabaco, la ingestación de drogas y postura.

Por regla general, los pacientes citados para someterse a una flebotomía deberían abstenerse de una actividad física intensa, del alcohol, las drogas o cambios en la dieta durante las 24 horas anteriores al procedimiento.

El estrés, la ansiedad y la hiperventilación pueden afectar a la secreción de hormonas y al equilibrio ácido-base y elevar el recuento de leucocitos y ácidos grasos libres.

### **2.3.12.3. ANTES DE LA RECOGIDA DE LA MUESTRA.**

La venipuntura se realiza utilizando una aguja adherida a un tubo de ensayo de cristal de evacuado con un embolo de goma.

Los émbolos de goma tienen un código de colores para distinguir si el tubo contiene un anticoagulante específico, si es un tubo sencillo o si es un tubo especial fabricado químicamente limpio. El uso de anticoagulantes permite el análisis de muestras de sangre completa o de los componentes del plasma que se obtienen por la centrifugación y la separación del mismo. El plasma contiene fibrinógeno y se obtiene de tubos que contiene anticoagulante en este caso tubo con embolo color lila o lavanda, el suero no contiene fibrinógeno y se obtiene de tubos que no contienen anticoagulantes tubos con émbolos color rojo con o sin gel separador.<sup>(2p.12-13)</sup>.



*Figura N° 7: TUBOS DE RECOLECCIÓN DE SANGRE.*

*Fuente: Investigación propia.*

*Elaborado por: Ana L. Valverde L. - Borys P. Meza A.*

**Plasma:** De acuerdo a Robalino 2008 es un líquido intracelular que constituye aproximadamente el 55% del volumen total de la sangre, está formado por el 90% de Agua y 10% de solutos disueltos. Entre los solutos disueltos tenemos el 70% de proteínas como la Albúmina, globulinas y fibrinógeno. El 20% de los solutos disueltos corresponde a los metabolitos orgánicos y productos de desecho como carbohidratos (glucosa), aminoácidos, lactatos, piruvatos, cuerpos cetónicos, citratos, urea, ácido úrico. Los 10% restantes corresponden a las sales inorgánicas como el cloruro de sodio, tampón bicarbonato, tampón fosfato, cloruro de calcio, cloruro de magnesio, cloruro de potasio, sulfato de sodio, etc.

El plasma contiene 700 mg de lípidos por 100 ml que se hallan unidos a globulinas (lipoproteínas) así como otros metabolitos, hormonas, vitaminas., trazas de elementos y pigmentos biliares. El plasma se utiliza como elemento terapéutico para lo que se han desarrollado métodos de extracción y conservación muy sofisticados especialmente para el tratamiento sustitutivo en la hemofilia.<sup>(5p.6)</sup>

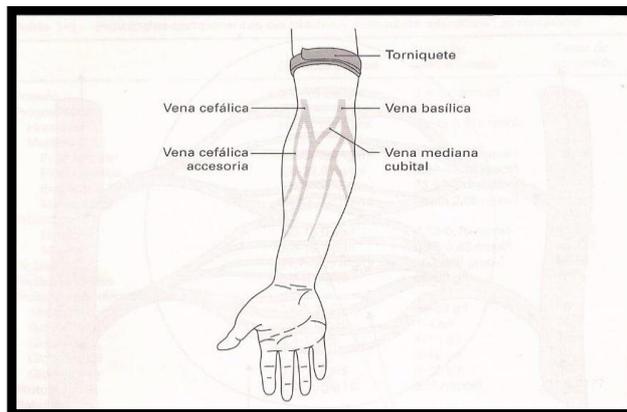
**Suero:** De acuerdo a Robalino es un líquido claro obtenido de la sangre tras eliminar por coagulación el fibrinógeno y los elementos formes de la sangre. El suero contiene antitoxinas específicas empleado con propósitos terapéuticos o de diagnóstico en el laboratorio. Su composición es compleja integrado por proteínas, agua, metabolitos, grasas, enzimas, sales y hormonas.

#### **2.3.12.4. RECOGIDA DE LA MUESTRA Y PROCEDIMIENTO.**

De acuerdo a Henry 2005 la sangre es un fluido corporal que se utiliza con más frecuencia para fines analíticos. Hay tres procedimientos generales para obtener sangre y son 1) la venipuntura, 2) la punción arterial y 3) la punción cutánea. La técnica que se utilice para obtener muestras de sangre es de vital importancia para mantener su integridad. La sangre arterial es esencialmente uniforme en su composición en todo el cuerpo mientras que en la sangre venosa varía y depende de la actividad metabólica de los órganos y tejidos bañados por ella.

#### **2.3.12.5. PUNCIÓN VENOSA.**

- Verificar que las etiquetas impresas por el ordenador están de acuerdo con la solicitud.
- Comprobar la identificación del paciente con las etiquetas y los formularios de peticiones.
- Comprobar que el paciente ha cumplido con las reglas generales de extracción sanguínea.
- Dirigirse al paciente para informarle de lo que se le va a hacer. Tranquilizar al paciente para evitar la mayor tensión posible. El analista siempre debe contar con la identificación que sea evidente al paciente.
- Colocar al paciente en posición adecuada, dependiendo de si está sentado o tumbado, para tener un acceso cómodo y fácil a la fosa antecubital.



*Figura N° 8: FOSA ANTE CUBITAL*  
*Fuente: Ximena Robalino 2008 (5ª p.8)*

- Reunir el equipo y el instrumental, incluyendo los tubos de extracción, el torniquete, las preparaciones para limpiar el área, las jeringas si son necesarias, la aguja de extracción de sangre esterilizada y la sujeción utilizada para asegurar la aguja. Se debe llevar guantas y bata de laboratorio de acuerdo a la política establecida.
- Pedirle al paciente que cierre el puño para poder palpar mejor las venas.
- Seleccionar una vena conveniente para la punción. Se prefieren las venas de la fosa antecubital, en especial la vena cubital mediana y la vena cefálica, también se pueden utilizar las venas de la muñeca, del tobillo y de la mano. Si un brazo tiene una línea intravenosa, utilizar el otro brazo para extraer la muestra de sangre.
- Desinfectar el sitio de la venipuntura con una solución de alcohol isopropanol al 70% o con un escobillón saturado de yodo al 1%. Comenzar en el sitio de punción y limpiar hacia afuera con movimientos circulares. Dejar que se seque. No tocar el área desinfectada con ningún objeto que este esterilizado.
- Aplicar el torniquete varios centímetros por encima del sitio de la punción. No dejar el torniquete puesto durante más de un minuto.

- Sujetar la vena con firmeza, tanto por arriba como por debajo de la zona de punción. Utilizar bien el dedo pulgar y el corazón o bien el pulgar y el índice.



*Figura N° 9: PUNCIÓN VENOSA.*

*Fuente: Investigación propia.*

*Elaborado por: Ana L. Valverde L. - Borys P. Meza A.*

- Ejecutar la venipuntura. 1) Perforar la piel con la aguja haciendo un ángulo con el brazo de aproximadamente 15°, con el bisel de aguja hacia arriba. Seguir la geografía de la vena con la aguja. 2) Introducir la aguja con suavidad y con rapidez para minimizar las molestias al paciente. 3) si se utiliza una jeringa, ir tirando del embolo con una tensión lenta y regular según fluye la sangre en la jeringa. No tirar demasiado deprisa para evitar la hemólisis o el colapso de la vena. 4) Si se utiliza un sistema de evacuado, tan pronto como la aguja este en la vena mover el tubo hacia adelante en el soporte tanto como se pueda, manteniendo el soporte de la aguja firmemente en su sitio. Cuando el tubo se ha llenado, este se quita agarrando su extremo y tirando con suavidad hasta sacarlo.

- Quitar el torniquete cuando empiece a fluir la sangre. No sacar nunca la aguja sin haber quitado antes el torniquete.

- Una vez que se ha extraído la sangre, se le dice al paciente que abra el puño. No le permitan que sacuda la mano. Colocarle en el sitio de la extracción un trozo de algodón limpio y estéril o una gasa. Sacar la aguja y hacer presión sobre el sitio de la

extracción. Colocar una tira de esparadrapo sobre la bola de algodón o gasa para parar la salida de la sangre y evitar un hematoma.

- Mezclar e invertir los tubos con anticoagulante; no agitar el tubo. En las muestras extraídas con una jeringa hay que transferir la sangre a los tubos adecuados, se deben tomar precauciones para no hemolizar la muestra o muestras y observar las normas de seguridad con la aguja. Siga los procedimientos especiales de manejo.
- Deshacerse del material contaminado, agujas y jeringas, algodón, etc., en los recipientes rígidos desechables designados utilizando las precauciones universales. No vuelva a tapar o a quitar la aguja a mano, utilice el dispositivo adecuado diseñado para esta función.
- Poner las iniciales en las etiquetas y anotar la hora y el día en el que se extrajeron las muestras. Entregar los tubos de sangre para ser analizada en la sección del laboratorio que corresponda o en la sección central de recogida y procedimiento.

**Nota: La determinación de PTH en la presente investigación se realizó en muestras de sangre venosa.**

#### **2.3.12.6. TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS.**

El transporte de sangre, orina u otros fluidos corporales y de muestras de tejidos desde el lugar donde se han recogido al laboratorio es un componente importante para su procesamiento. El personal del laboratorio debería recibir las muestras en el plazo de 45 minutos después de haber sido recogidas, lo que permitiría realizar puntualmente su procesamiento. Abstenerse de agitar las muestras de sangre para minimizar la hemólisis. Deben proteger las muestras de la exposición directa a la luz, ya que esto ocasiona la composición de ciertos analitos.

Todas las muestras del laboratorio se deben transportar de manera conveniente y segura para prevenir su exposición a riesgos biológicos o su contaminación. Las muestras que se rompen o gotean son peligrosas para todos aquellos que entran en contacto con ellas, y es necesario volver a recogerlas de nuevo; esto puede retrasar el tratamiento de los pacientes y supone un costo añadido. La estabilidad de los constituyentes se debe determinar antes del transporte de las muestras. El laboratorio proporciona, normalmente, esta información junto con las instrucciones para la preparación y el traslado de las muestras. Por lo general se utilizan recipientes de poliestireno o de cualquier otro tipo de plástico de alto impacto. Las muestras que necesitan refrigeración se deben mantener a una temperatura de entre 2 °C y 10 °C y se pueden trasladar convenientemente en recipientes aislantes.

#### **2.3.12.7. CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS DE SANGRE.**

Durante su almacenamiento, la concentración de un constituyente sanguíneo en la muestra puede cambiar como resultado de varios procesos, incluyendo la absorción en tubos de plástico o de cristal, la desnaturalización de las proteínas, la evaporación de los compuestos volátiles y de las actividades metabólicas continuas de los leucocitos y de los eritrocitos.

Las muestras congeladas también pueden experimentar cambios por ciertos metabolitos o constituyentes celulares.

Las reacciones enzimáticas pueden ser especialmente sensibles a las condiciones de almacenamiento. En las muestras de suero y plasma se forman cristales de hielo que originan roturas que perturban a la o las estructuras moleculares, especialmente a las moléculas grandes de las proteínas.

La congelación lenta hace que se forme cristales más grandes que originan descomposiciones más graves. Por eso, para la estabilidad óptima de las muestras se

recomienda la congelación rápida. La conservación por periodos largos es a una temperatura de 20 °C.

#### **2.3.12.8. FASE DE PRECENTRIFUGACIÓN.**

En la química clínica el suero y el plasma son intercambiables, excepto en unas cuantas mediciones, como en los análisis de resina y de la hormona adrenocorticotrópica.

Las de suero se necesitan en los análisis de inmunofijación y electroforesis de proteínas, así como las de plasma son necesarias en las mediciones de fibrinógeno y otras coagulaciones. El suero es la muestra preferida, ya que es fácil de conseguir y se manipula con simplicidad. Además, se obvia la interferencia de los anticoagulantes.

El plasma, si se recoge adecuadamente, se puede utilizar en las urgencias médicas cuando este indicado hacer un análisis expeditivo, debido a que el preparado de plasma no necesita que se complete la coagulación antes de su centrifugación.

Normalmente se obtiene una cantidad mayor de plasma que de suero de un volumen determinado de sangre completa debido al proceso de formación de coágulos.

Lo ideal sería centrifugar las muestras de sangre tan pronto como se forma el coagulo (aproximadamente 20 minutos a temperatura ambiente). En la práctica es admisible un intervalo de tiempo de dos horas entre la extracción de la sangre y la separación del suero (Burtis, 1994).

El contacto prolongado del suero con el coagulo celular más allá de dos horas después de ocasionar cambios significativos en ciertos constituyentes como la glucosa, el potasio, el fosforo, la creatinina, la AST y la ALT (Rehak, 1988).

Para la preparación de plasma hay que centrifugar la sangre dentro del plazo de una hora después de su extracción y durante 10 minutos a una fuerza centrífuga relativa de 800 a 1.000 x gravedad manteniendo el recipiente bien tapado para prevenir la evaporación del plasma o del agua del suero.

Dejar un tiempo adecuado para que se coagule y así prevenir la formación de fibrina latente, que puede ocasionar la obstrucción de los analizadores químicos automatizados.

Si el análisis se va a retrasar más de cuatro horas hay que almacenar el suero o el plasma hasta que se realice a una temperatura de 4 °C a 6 °C. la retención de estas muestras durante siete días posibilita realizar mediciones adicionales o confirmaciones posteriores.

#### **2.3.12.9. FASE DE CENTRIFUGACIÓN.**

Una centrifuga utiliza la fuerza centrífuga para separar las fases en suspensión mediante densidades diferente. Se utiliza con muchísima frecuencia en el procesamiento de la sangre para derivar las fracciones de suero o de plasma. Las estipulaciones para centrifugación deben especificar el tiempo y la fuerza centrífuga.

Cuando se selecciona una centrifuga se debe buscar la fuerza centrífuga más alta posible y no la velocidad de rotación. Midiendo el radio de la cabeza de la centrifuga, la fuerza centrífuga relativa se pueden calcular mediante un normograma.

Se deben observar varias normas para evitar que la centrifuga o las muestras se dañen y para que no haya peligro para las personas.

Los tubos, los portadores o los adaptadores de peso, forma y tamaño se deben colocar en posiciones opuestas dentro de la cabeza de la centrifuga para conseguir el equilibrio adecuado.

Las muestras se deben colocar en una disposición geoméricamente simétrica utilizando tubos llenos de agua para conseguir equilibrio.

#### **2.3.12.10. EQUIPOS DE CENTRIFUGACIÓN.**

Se dispone de una amplia variedad de centrifugas y de accesorios para hacer frente a las necesidades específicas del laboratorio clínico.

Aquí se incluyen las centrifugas normales de sobremesa; las centrifugas de alta velocidad de ángulo fijo; los modelos portátiles; los modelos de suelo; las microcentrifugas; los tipos refrigerados y no refrigerados y los modelos de ultracentrífuga.

Las capacidades varían dependiendo del tipo del modelo y del rotor de la centrifuga. Se debe tener en cuenta el volumen de las muestras, el número de tubos que se han de centrifugar, la velocidad necesaria para una separación adecuada y la durabilidad del equipo.<sup>(*p.14-27*)</sup>.

#### **2.3.13. DOSIFICACIÓN DE PTH MÉTODO DE EIA (FASE ANALÍTICA).**

De acuerdo a DIAsource ImmunoAssays es un ensayo inmunoenzimométrico para determinación cuantitativa in vitro de la hormona PTH humana en suero y plasma. La sensibilidad y especificidad elevada del ensayo permite una diferenciación clara entre los niveles de PTH en suero bajos en hipoparatiroidismo o en hipercalcemia inducida por un tumor.

##### **2.3.13.1. PRINCIPIOS DEL MÉTODO.**

Es un inmunoensayo enzimático de alta sensibilidad a fase sólida efectuadas con placas de micro valoración. Los calibradores y las muestras reaccionan con los

anticuerpos de captura policlónales (PAb, fragmento anti 1-34 PTH de cabra) recubiertos en los pocillos de micro valoración.



*Figura N° 10: POCILLOS DE MICRO VALORACIÓN.*

*Fuente: <sup>10</sup><http://spanish.alibaba.com/product-free/microwell-plates-116842532.html>*

Después de la incubación, el exceso de antígeno es quitado por una fase de lavado. Después los anticuerpos monoclonales (MAb, fragmento anti 44-68 PTH de ratón) y los marcadores con la peroxidasa de rábano picante (HRP) son agregados. Después de una fase de incubación que permite la formación de un sándwich: PAb recubierto – PTH humana – MAb – HRP, la placa de micro valoración es lavada para quitar los anticuerpos marcados con enzimas libres. Los anticuerpos marcados con enzimas ligados se miden con una reacción cromógena.

La solución cromógena (TMB lista para el uso) es añadida e incubada. La reacción se para con la adición de la solución de parada y la placa de micro valoración se lee en la longitud de onda apropiada. La cantidad de recambio de sustrato es determinada de manera colorimétrica por la medición de la absorción, que es proporcional a la concentración de PTH.

#### **2.3.13.2. REACTIVOS.**

- Placa de micro valoración con 96 pocillos recubiertos anti PTH (anticuerpos policlónales) y listos para usar.

- Conjugado: anti-PTH marcada con HRP (anticuerpos monoclonales) en tampón TRIS con albumina bovina, thymol y suero ovino y se encuentra listo para usar.
- Calibrador cero en suero humano y thymol y se prepara añadiendo 3ml de agua destilada.
- Calibradores 1=22 pg/ml; 2=70 pg/ml; 3=224 pg/ml; 4=666 pg/ml; 5=1400 pg/ml en suero humano y thymol y su preparación se realiza añadiendo 1 ml de agua destilada.
- Solución de lavado compuesta de NaCl y se prepara diluyendo 20 x con agua destilada.
- Controles 1 y 2 en suero humano y thymol y se prepara añadiendo 1 ml de agua destilada.
- Tampón de incubación con EDTA, Benzidina y acida (<0.1%) y se encuentra listo para usar.
- Solución cromógena TMB (tetrametilbenzidina) y se encuentra listo para usar.
- Solución de parada: HCl con una concentración de 1N y se encuentra listo para usar.

### **2.3.13.3. MATERIALES.**

- Agua destilada.

- Pipetas precisas con puntas desechables de plástico de 50 ul, 100 ul, 200 ul, 1000 ul, 2000 ul y 3000 ul.
- Vortex
- Agitador magnético
- Agitador de placas de micro valoración horizontal capaz de 700 rpm +/- 100 rpm.
- Lavador de placas de micro valoración.
- Lector de placas de micro valoración capaz de leer a 450 nm, 490 nm y 650 nm (lectura monocromática).<sup>(4p.2)</sup>.

#### **2.3.13.4. PROCEDIMIENTO.**

- De acuerdo a DIAsource ImmunoAssays seleccionar el nombre requerido de tiras para el ensayo. Las tiras sin usar tienen que ser selladas en el saco con un desecante y guardadas 2-8 °C.
- Fijar las tiras en el soporte.
- Pipetear 50 ul del tampón de incubación en cada pocillo.
- Pipetear 200 ul de cada calibrador, control y muestras en los pocillos apropiados.
- Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente en un agitador horizontal a 700 rpm +/- 100rpm.

- Aspirar el líquido de cada pocillo.
- Lavar la placa 4 veces: a) Dispensar 0.4 ml de la solución de lavado en cada pocillo. b) aspirar el contenido de cada pocillo.
- Pipetear 100 ul del conjugado anti-PTH HRP en cada pocillo.
- Incubar durante 1 hora a temperatura ambiente en un agitador horizontal a 700 rpm +/- 100rpm.
- Aspirar el líquido de cada pocillo.
- Lavar la placa 4 veces: a) Dispensar 0.4 ml de la solución de lavado en cada pocillo. B) aspirar el contenido de cada pocillo.
- Pipetear 100 ul de la solución cromógena en menos de 15 minutos después de la fase de lavamiento.
- Incubar la placa de micro valoración durante 30 minutos a temperatura ambiente en un agitador horizontal a 900 rpm +/- 100 rpm, evitar la luz solar directa.
- Pipetear 200 ul de la solución de parada en cada pocillo
- Leer las absorciones a 450 nm y 490 nm (filtro de referencia 630 nm o 650 nm) en menos de 1 hora.<sup>(4p.3)</sup>.

**Nota: En necesidad de dilución de muestras esta se pueden realizar usando el calibrador cero como agente de dilución.**

## 2.4. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.

**Adrenérgico:** Adrenérgico es un adjetivo usado en medicina y farmacología para referirse a: La adrenalina, llamada en forma generalizada como epinefrina. Un agonista adrenérgico, potenciadores de los receptores adrenérgicos.

**Anticuerpo:** Son glicoproteínas del tipo gamma globulina. Pueden encontrarse de forma soluble en la sangre u otros fluidos corporales de los vertebrados, disponiendo de una forma idéntica que actúa como receptor de los linfocitos B y son empleados por el sistema inmunitario para identificar y neutralizar elementos extraños tales como bacterias, virus o parásitos

**Antígeno:** Es una sustancia que desencadena la formación de anticuerpos y puede causar una respuesta inmunitaria.

**Calibrador:** Es un instrumento utilizado para medir dimensiones de objetos relativamente pequeños.

**Características:** El término característica (del griego *χαρακτηριστικός*) puede designar diversos conceptos, que siempre se refieren al carácter propio o específico de algo.

**Carcinoma:** Un carcinoma es una forma de cáncer con origen en células de tipo epitelial o glandular, de tipo maligno.

**Centrifugación:** Es un método por el cual se pueden separar sólidos de líquidos de diferente densidad mediante una fuerza centrífuga. La fuerza centrífuga es provista por una máquina llamada centrifugadora, la cual imprime a la mezcla un movimiento de rotación que origina una fuerza que produce la sedimentación de los sólidos o de las partículas de mayor densidad.

**Déficit:** Un déficit es la escasez de algún bien, ya sea dinero, comida o cualquier otra cosa.

**Desinfectar:** Es un proceso físico o químico que mata o inactiva agentes patógenos tales como bacterias, virus y protozoos impidiendo el crecimiento de microorganismos patógenos en fase vegetativa que se encuentren en objetos inertes.

**Dilución:** En química, la dilución es la reducción de la concentración de una sustancia química en una disolución. La dilución consiste en rebajar la cantidad de soluto por unidad de volumen de disolución. Se logra adicionando más diluyente a la misma cantidad de soluto: se toma una poca porción de una solución alicuota y después esta misma se introduce en más disolvente.

**Diuréticos:** Se denomina diurético (del lat. diuretĭcus, y éste del gr. διουρητικός) a toda sustancia que al ser ingerida provoca una eliminación de agua y sodio en el organismo, a través de la orina. Los diuréticos, como medicamentos, pueden ser de varias clases.

**Dosificación:** Implica establecer las proporciones apropiadas de los materiales que componen al concreto, a fin de obtener la resistencia y durabilidad requeridas, o bien, para obtener un acabado o pegado correctos. Generalmente expresado en gramos por metro (g/m).

**Elemento químico:** Un elemento químico es un tipo de materia constituida por átomos de la misma clase. En su forma más simple posee un número determinado de protones en su núcleo, haciéndolo pertenecer a una categoría única clasificada con el número atómico, aun cuando este pueda desplegar distintas masas atómicas.

**Estándar:** Preparación que contiene una concentración conocida de un elemento específico o sustancia.

**Fármacos:** Es toda sustancia química purificada utilizada en la prevención, diagnóstico, tratamiento, mitigación y cura de una enfermedad, para evitar la aparición de un proceso fisiológico no deseado o bien para modificar condiciones fisiológicas con fines específicos.

**Flebotomía:** El término "flebotomía" es utilizado para describir una incisión practicada en la vena por motivos diversos.

**Glándula:** Una glándula (del latín glandem 'bellota' y ulam 'pequeño') es un conjunto de células cuya función es sintetizar sustancias químicas, como las hormonas, para liberarlas, a menudo en la corriente sanguínea y en el interior de una cavidad corporal o su superficie exterior.

**Heterogeneidad:** Cualidad de una cosa heterogénea o formada por elementos de distinta clase o naturaleza.

**Hipercalcemia:** Es el trastorno hidroelectrolítico que consiste en la elevación de los niveles de calcio plasmático por encima de 10.5 mg/dL. La hipercalcemia puede producir trastornos del ritmo cardíaco, así como un aumento en la producción de gastrina y úlceras pépticas.

**Hiperfosfatemia:** Es un trastorno hidroelectrolítico en el cual hay un anormalmente elevado nivel de fosfato en la sangre.

**Hipocalcemia:** Es el trastorno hidroelectrolítico consistente en un nivel sérico de calcio total menor de 2.1 mmol/L u 8.5 mg/dL en seres humanos, y presenta efectos fisiopatológicos.

**Hipofosfatemia:** Es un trastorno electrolítico en el cual existe niveles anormalmente bajos de fósforo en la sangre.

**Homeostasis:** Es la característica de un organismo vivo, por la cual mediante la absorción de alimentos y vitaminas (metabolismo) puede regular las funciones que existen dentro de él, para mantener una condición estable y constante.

**Incidencia:** La incidencia es el número de casos nuevos de una enfermedad en una población determinada y en un periodo determinado.

**Ingesta:** Es la introducción del alimento al aparato digestivo y, se realiza a través de la boca.

**Inmunología:** La inmunología es una rama amplia de la biología y de las ciencias biomédicas que se ocupa del estudio del sistema inmunitario.

**Metabolismo:** El metabolismo es el conjunto de reacciones bioquímicas y procesos físico-químicos que ocurren en una célula y en el organismo.

**Monitorizar:** La monitorización es un proceso que se supone inmerso dentro de la llamada función ejecutiva o sistema ejecutivo. Hace referencia a la supervisión necesaria para la ejecución del plan de acción establecido en la planificación de las acciones, conductas o pensamientos encaminados al logro de una meta.

**Muestra:** Una muestra es una cantidad limitada de una sustancia o material utilizada para representar y estudiar las propiedades del material en cuestión.

**Paciente:** En la medicina y en general en las ciencias de la salud, el paciente es alguien que sufre dolor o malestar (muchas enfermedades causan molestias diversas, y un gran número de pacientes también sufren dolor).

**Perfil:** En recursos humanos, al conjunto de rasgos peculiares que un puesto de trabajo engloba a nivel de educación, nivel de formación, experiencia y habilidades intelectuales y/o físicas.

**Proteína:** Las proteínas son moléculas formadas por cadenas lineales de aminoácidos. El término proteína proviene de la palabra francesa protéine y esta del griego πρωτεῖος (proteios), que significa 'prominente, de primera calidad.

**Prueba:** Un hecho utilizado para demostrar una acción, tesis o teoría en ciencias

**Punción:** Operación quirúrgica que consiste en abrir los tejidos con un instrumento punzante y cortante con el fin de diagnosticar una enfermedad o administrar un medicamento.

**Reactivo:** Un reactivo o reactante es, en química, toda sustancia que interactúa con otra en una reacción química que da lugar a otras sustancias de propiedades, características y conformación distinta, denominadas productos de reacción o simplemente productos.

**Secreción:** En Biología, se llama secreción (del latín secretio) al proceso por el que una célula o un ser vivo vierte al exterior sustancias de cualquier clase. También se

llama secreción a la sustancia liberada. El acto de verter una secreción se llama segregación.

**Serología:** Es el estudio que permite comprobar la presencia de anticuerpos en sangre. Es una prueba fundamental a la hora de realizar donaciones de sangre y transfusiones.

**Sintomática:** Puede significar que muestra síntomas o que puede atañer a un síntoma específico. Los síntomas son signos de enfermedad o lesión y el paciente los nota.

**Tampón:** Una disolución compuesta por el ion común de un ácido débil o una base débil.

**Trastorno:** El término trastorno puede referirse a: ciertas enfermedades, especialmente las leves; un trastorno mental o enfermedad mental; o un trastorno psicológico según la psicopatología.

**Variabilidad:** Modificación que experimentan los caracteres de las especies biológicas.

## **2.5. HIPÓTESIS Y VARIABLES.**

### **2.4.1. HIPÓTESIS.**

Para la utilización de plasma como muestra en la determinación de PTH, realizar la variabilidad entre suero y plasma tomando en cuenta la manipulación, transporte y conservación diferencialmente de cada una es buen inicio para plantear una estándar por tipo de muestra en la fase pre analítica.

## **2.4.2. VARIABLES.**

Una distinción de particular importancia es, aquella entre variables dependientes e independientes. Los términos **“dependiente”** e **“independiente”** se utilizan para **representar una relación de “causalidad”** entre dos variables. La relación es la siguiente: el valor de la variable dependiente ‘depende’ del valor de la variable independiente. En otras palabras: la variable independiente determina, en alguna medida (medida que puede ser mayor o menor), el valor de la variable dependiente. Utilizando otros términos, la variable independiente **“causa”** la variable dependiente. O sea que, el comportamiento de la variable dependiente se podría predecir sobre la base del comportamiento de la variable independiente.

### **2.4.2.1. VARIABLE INDEPENDIENTE.**

La variabilidad Biológica.

### **2.4.2.2. VARIABLE DEPENDIENTE.**

Los resultados en la determinación de Paratohormona.

## **2.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.**

Para la utilización de plasma como muestra en la determinación de PTH, realizar la variabilidad entre suero y plasma tomando en cuenta la manipulación, transporte y conservación diferencialmente de cada una es buen inicio para plantear una estándar por tipo de muestra en la fase pre analítica.

Variable	Concepto	Categoría	Indicadores	Técnicas e Instrumentos
<b>Variable Independiente</b>  <b>Variabilidad Biológica</b>	Es la variación inherente, fisiológica, que se observa en los componentes bioquímicos de los líquidos Biológicos.	Bioquímica	Nutricional Biológico Social	Observación
<b>Variable Dependiente</b>  <b>Resultados de las pruebas de laboratorio</b>	Los resultados se expresan en una escala de valores basada en un criterio de valoración media obtenida de la población sana.	Química Clínica	Físico Médico	Guía de observación

## CAPITULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO.

#### 3.1. MÉTODO.

El método que se utilizó es: **deductivo – inductivo,**

Con un procedimiento: **analítico – sintético.**

Utilizamos este método porque nos ayudó a sacar conclusiones particulares de nuestra investigación, llegando a un estudio de cada ensayo, obteniendo resultados generales de cada tipo de muestra.

#### 3.1.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.

(Landeau, 2008) De acuerdo al tipo de investigación, se adoptará la clasificación que se divide en: exploratorios, descriptivos, correlacionales, y explicativos.

Luego del análisis de nuestro estudio, observamos que el mismo, es de tipo bibliográfico, descriptivo y de campo.

La investigación nos permitirá describir cada uno de los aspectos que se considera importante para solucionar el problema planteado.

El tipo de investigación a realizarse, es investigación de campo y bibliográfica, lo que nos proporcionará información acerca de las necesidades del laboratorio, en base a estos estudios; es decir, los riesgos que se podrían producir y los acontecimientos científicos más relevantes de nuestra investigación.

Para este trabajo se realizara una investigación descriptiva, y se llegará por el alcance a una investigación explicativa.

### **3.1.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.**

Es una investigación de campo, debido al que el proceso investigativo se llevó a cabo en el Laboratorio Clínico del Hospital Carlos Andrade Marín.

### **3.1.3. TIPO DE ESTUDIO.**

Es un estudio prospectivo, el cual posee una característica fundamental, es la de iniciarse con la exposición de una supuesta causa, y luego seguir a través del tiempo a una población determinada hasta determinar o no la aparición del efecto.

## **3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA.**

### **3.2.1. POBLACIÓN.**

La población de la presente investigación está constituida por 100 pacientes atendidos en el Hospital Carlos Andrade Marín en Quito.

### **3.2.2. MUESTRA.**

Se trabajó con muestras de Suero y Plasma por cada paciente en las que se aplicó los diferentes métodos de investigación sobre el manejo y problema estudiado.

### **3.3. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.**

#### **Fase pre analítica.**

- Solicitud de análisis.
- Preparación del paciente.
- Antes de la recogida de la muestra.
- Punción venosa.
- Transporte de la muestra.
- Conservación de la muestra.
- Fase de precentrifugación y centrifugación.

#### **Fase analítica.**

- Seleccionar el nombre requerido de tiras para el ensayo. Las tiras sin usar tienen que ser selladas en el saco con un desecante y guardadas 2-8 °C.
- Fijar las tiras en el soporte.

- Pipetear 50 ul del tampón de incubación en cada pocillo.
- Pipetear 200 ul de cada calibrador, control y muestras en los pocillos apropiados.
- Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente en un agitador horizontal a 700 rpm +/- 100rpm.
- Aspirar el líquido de cada pocillo.
- Lavar la placa 4 veces: A) Dispensar 0.4 ml de la solución de lavado en cada pocillo. B) aspirar el contenido de cada pocillo.
- Pipetear 100 ul del conjugado anti-PTH HRP en cada pocillo.
- Incubar durante 1 hora a temperatura ambiente en un agitador horizontal a 700 rpm +/- 100rpm.
- Aspirar el líquido de cada pocillo.
- Lavar la placa 4 veces: a) Dispensar 0.4 ml de la solución de lavado en cada pocillo. B) aspirar el contenido de cada pocillo.
- Pipetear 100 ul de la solución cromógena en menos de 15 minutos después de la fase de lavamiento.
- Incubar la placa de micro valoración durante 30 minutos a temperatura ambiente en un agitador horizontal a 900 rpm +/- 100 rpm, evitar la luz solar directa.

- Pipetear 200 ul de la solución de parada en cada pocillo
- Leer las absorciones a 450 nm y 490 nm (filtro de referencia 630 nm o 650 nm) en menos de 1 hora.

#### **Fase post analítica.**

- Entrega de resultados impresos.

### **3.4. TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.**

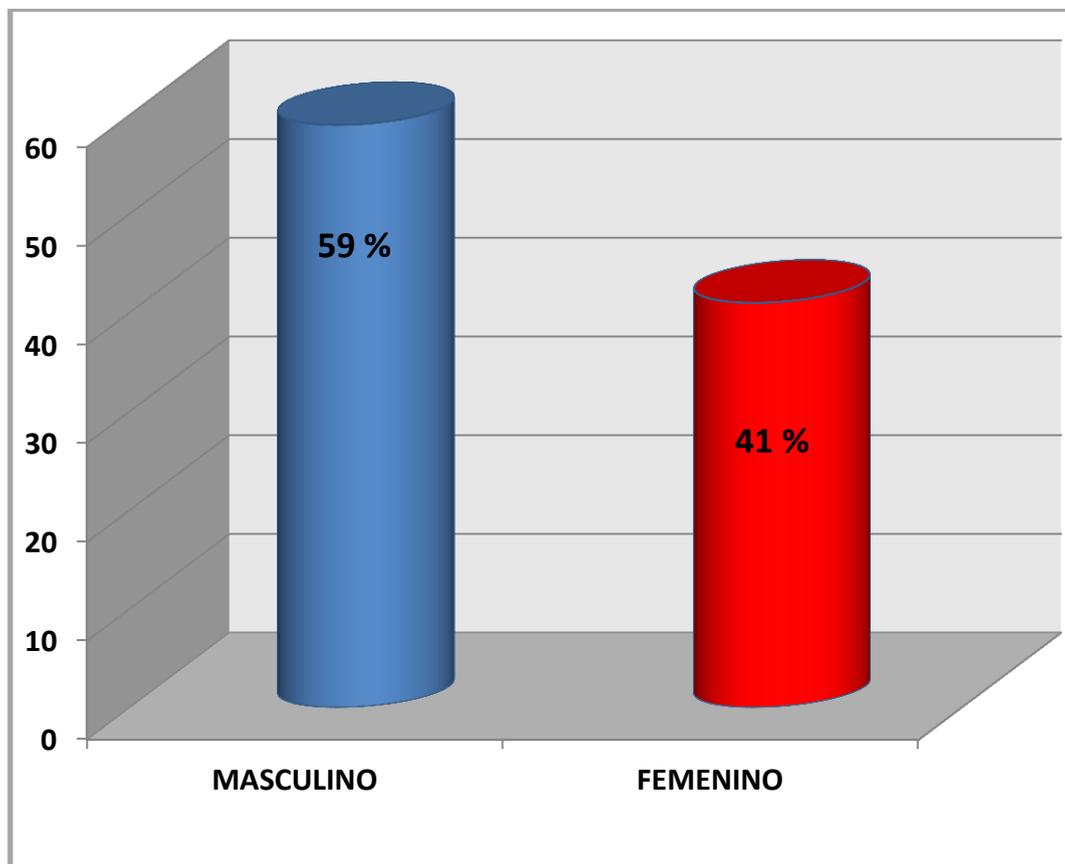
#### **Cuadros.**

#### **Análisis.**

#### **Observación.**

**Tabla y gráfico N° 1: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA POR GÉNERO EN LA MEDICIÓN DE PARATHORMONA.**

<b>GENERO</b>	<b>NUMERO DE ENSAYOS</b>
<b>FEMENINO</b>	<b>41</b>
<b>MASCULINO</b>	<b>59</b>
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>



**Tabla y gráfico N° 1: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA POR GÉNERO.**

*Fuente: Investigación propia.*

*Elaborado por: Ana L. Valverde L. - Borys P. Meza A.*

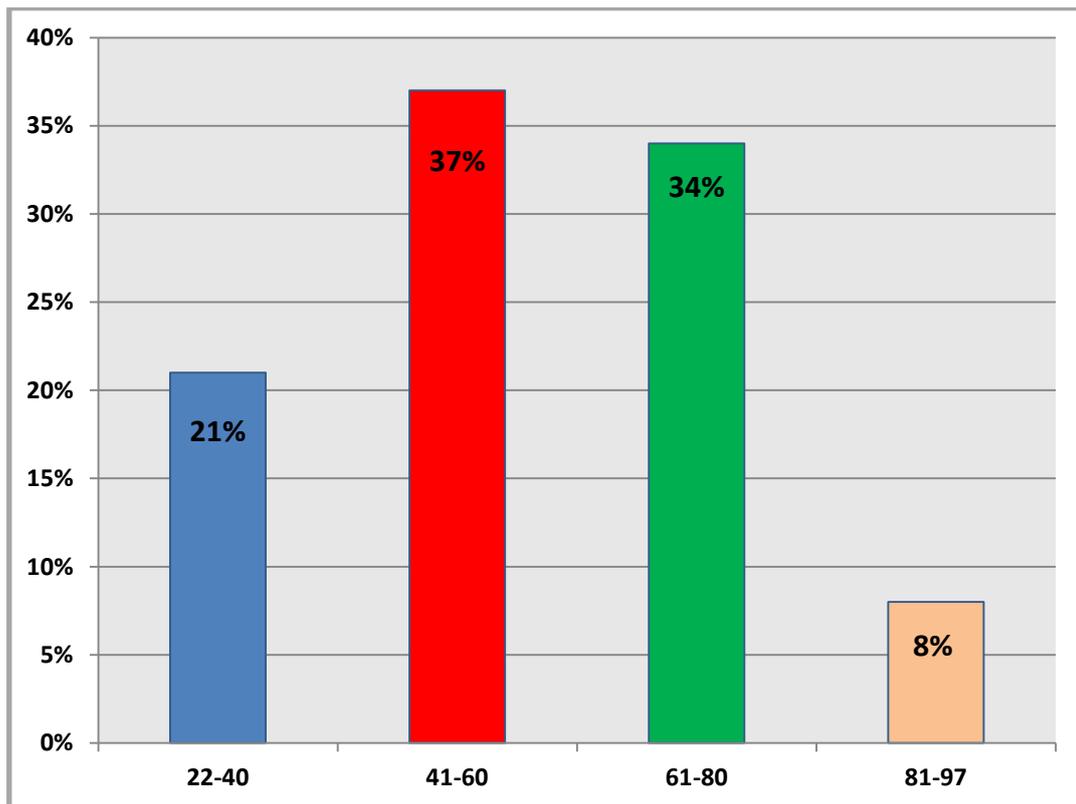
## **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN POR GÉNERO.**

Al terminar de realizar los ensayos a la población estudiada, se conoció el porcentaje total de acuerdo al género existente (Género masculino 51% y Género femenino 49%).

Esto nos lleva a la conclusión de que hay una incidencia para este examen mínimamente mayor en el género masculino que en el femenino.

**Tabla y gráfico N° 2: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA POR EDAD EN LA DETERMINACIÓN DE PARATOHORMONA.**

<b>EDAD (AÑOS)</b>	<b>NUMERO DE ENSAYOS</b>
<b>22-40</b>	<b>21</b>
<b>41-60</b>	<b>37</b>
<b>61-80</b>	<b>34</b>
<b>81-97</b>	<b>8</b>
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>



**Tabla y gráfico N° 2: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA POR EDAD.**

*Fuente: Investigación propia.*

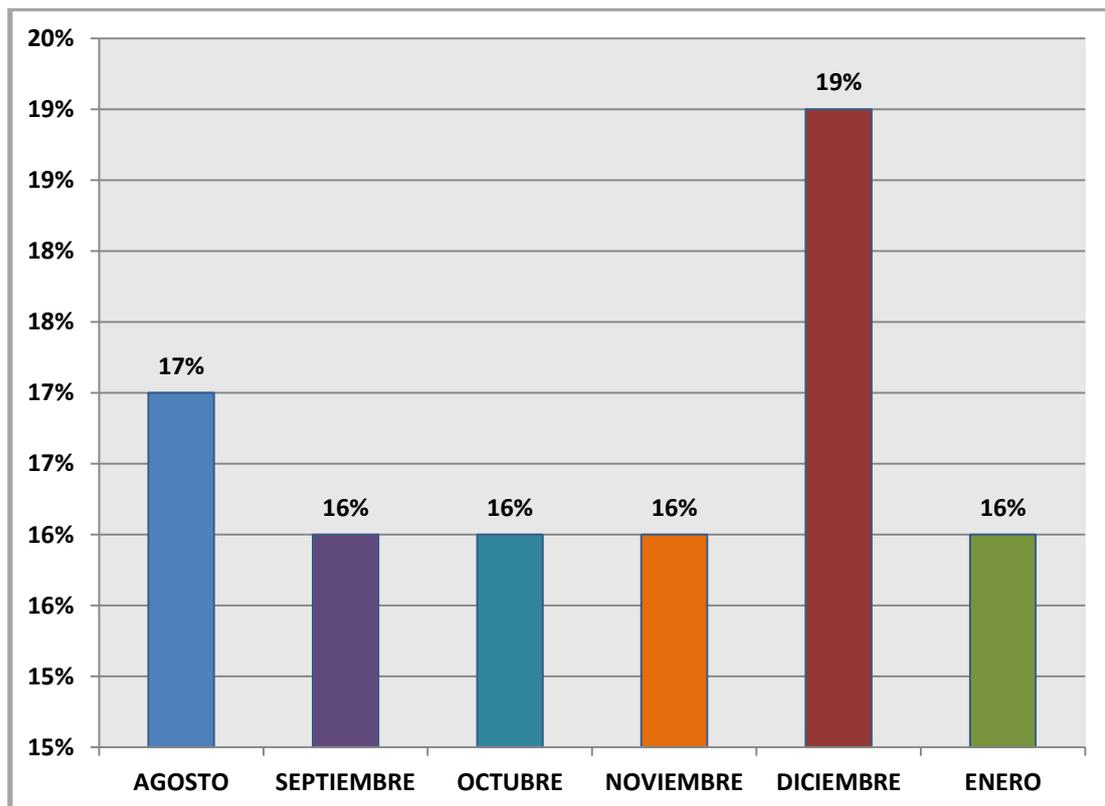
*Elaborado por: Ana L. Valverde L. - Borys P. Meza A.*

## **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN POR EDAD EN LA DETERMINACIÓN DE PARATHORMONA.**

Realizado el gráfico organizado por rangos de edad, se obtuvo como resultado que el 37% de la población con la mayor incidencia en la determinación de PTH, es para personas adultas de entre los 41 a 60 años de edad.

**Tabla y gráfico N° 3: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA ENSAYOS DE PARATOHORMONA REALIZADOS POR MES.**

MES	NUMERO DE ENSAYOS
AGOSTO	17
SEPTIEMBRE	16
OCTUBRE	16
NOVIEMBRE	16
DICIEMBRE	19
ENERO	16
TOTAL	100



**Tabla y gráfico N° 3: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA POR MES.**

*Fuente: Investigación propia.*

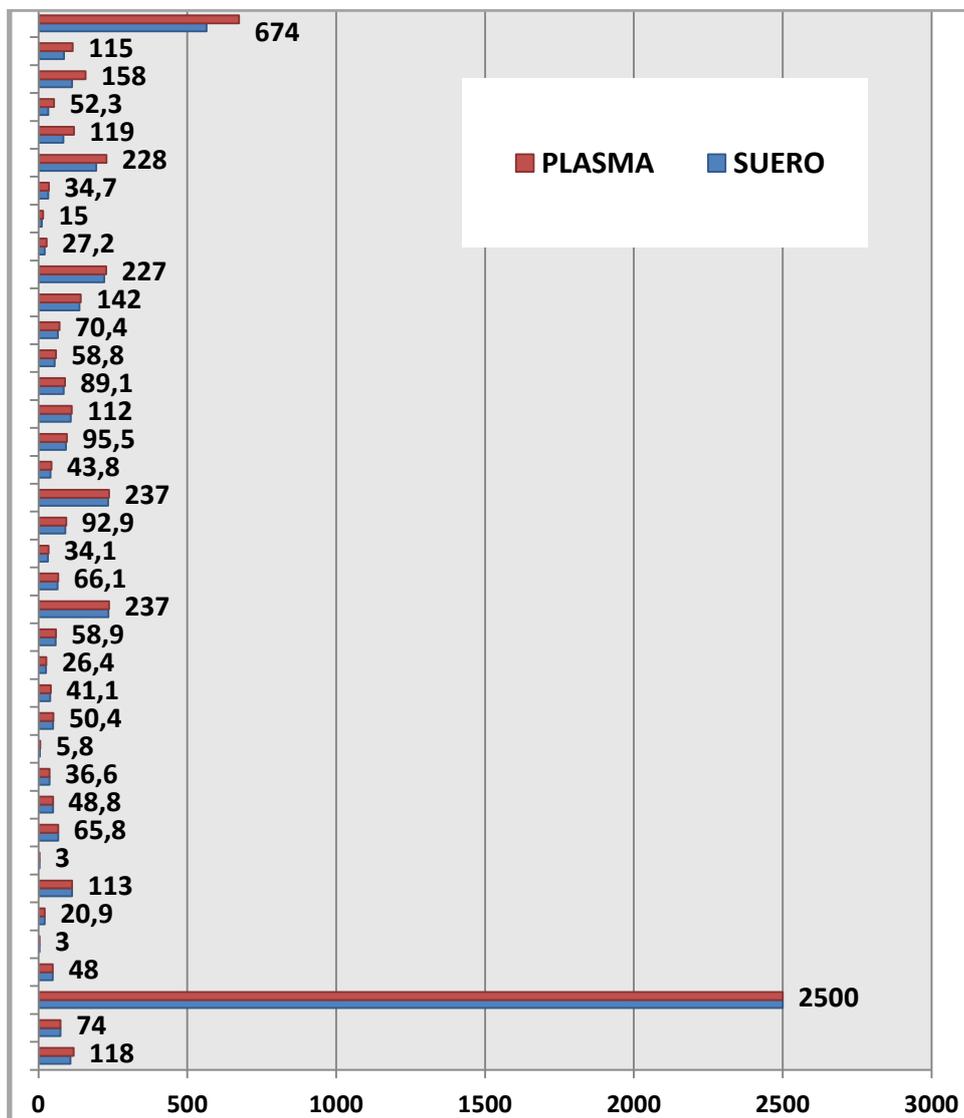
*Elaborado por: Ana L. Valverde L. - Borys P. Meza A.*

## **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN ENSAYOS DE PARATHORMONA REALIZADOS POR MES.**

En Diciembre fue donde tuvimos el mayor número de exámenes, observando el gráfico, se determinó que de 100 exámenes, 19% pertenecieron a este mes.

**Tabla y gráfico N° 4: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA DE LOS DATOS QUE AUMENTARON SU VALOR EN PLASMA.**

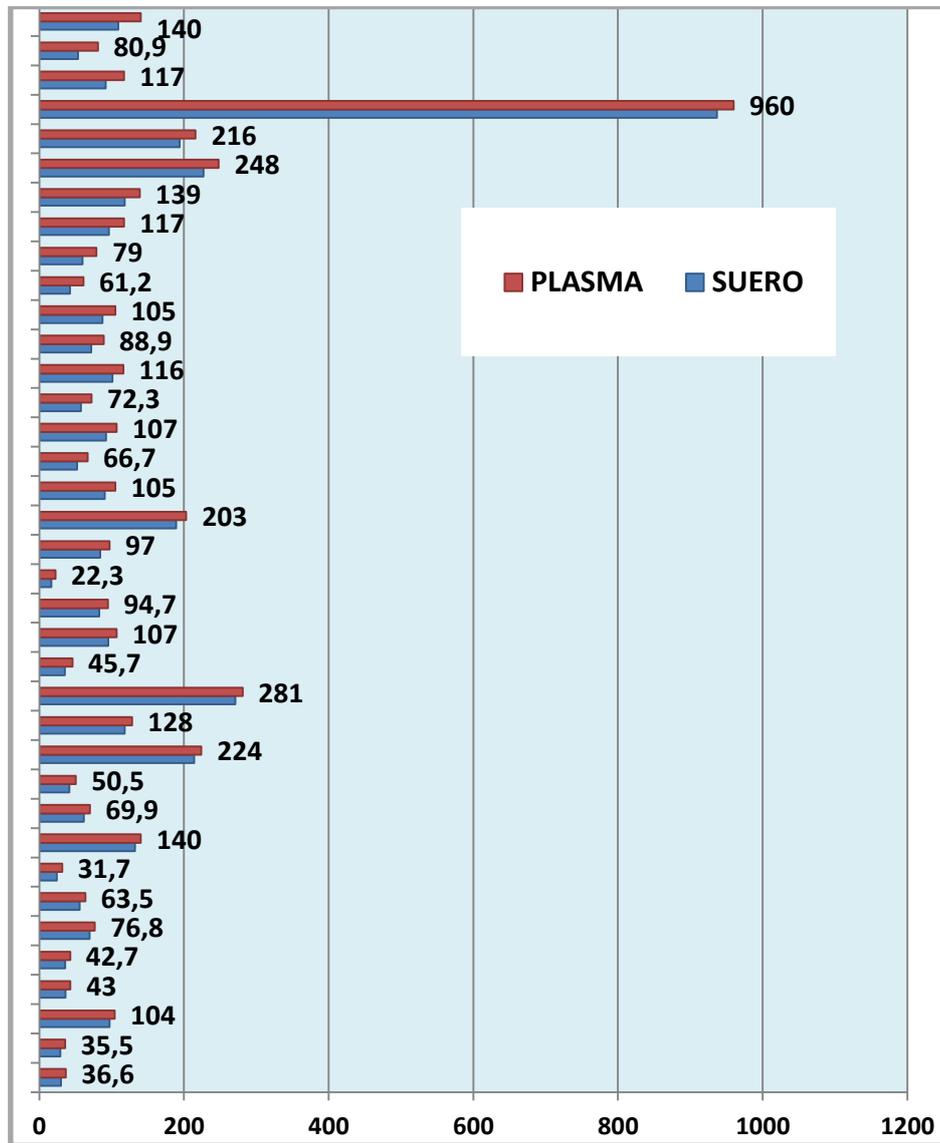
MUESTRA	NUMERO DE ENSAYOS QUE AUMENTO SU VALOR EN PLASMA
SUERO Y PLASMA	75



**Tabla y gráfico N° 4: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA DE LOS DATOS QUE AUMENTARON SU VALOR EN PLASMA**

Fuente: Investigación propia.

Elaborado por: Ana L. Valverde L. - Borys P. Meza A.



*Tabla y gráfico N° 4: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA DE LOS DATOS QUE AUMENTARON SU VALOR EN PLASMA.*

*Fuente: Investigación propia.*

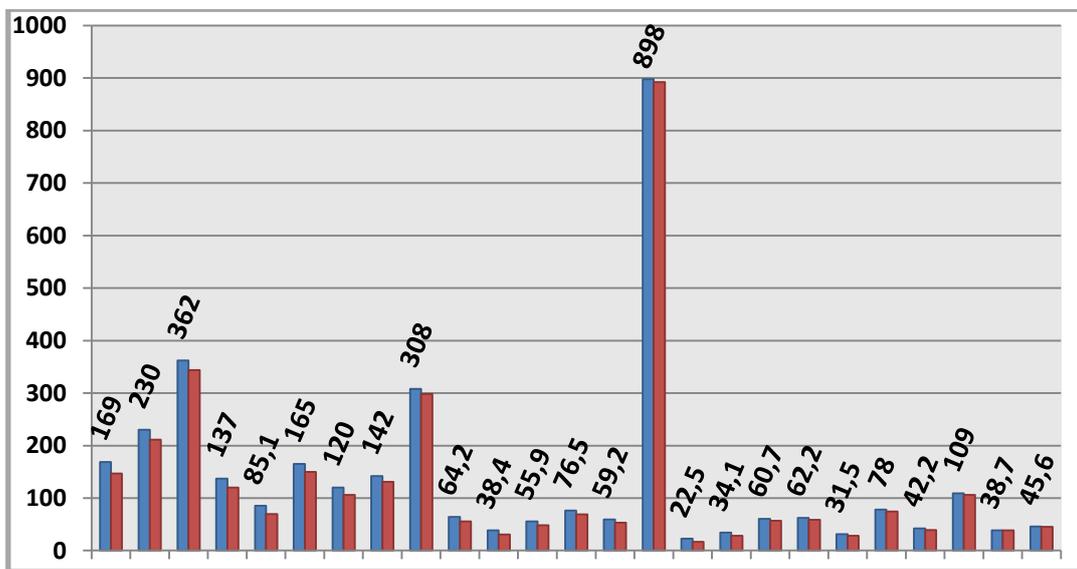
*Elaborado por: Ana L. Valverde L. - Borys P. Meza A.*

### **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE INCIDENCIA DE LOS DATOS QUE AUMENTARON SU VALOR EN PLASMA.**

Habiendo cumplido con todos los ensayos y obtenido todos los resultados, la mayoría de los mismos, tuvieron un aumento de concentración de PTH en plasma en una variable diferenciada de 11% de cada una de las muestras realizadas.

**Tabla y gráfico N° 5: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA DE LOS DATOS QUE DISMINUYERON SU VALOR EN PLASMA.**

MUESTRA	NUMERO DE ENSAYOS QUE DISMINUYO SU VALOR EN PLASMA
SUERO Y PLASMA	25



**Tabla y gráfico N° 5: DETERMINACIÓN DE INCIDENCIA DE LOS DATOS QUE DISMINUYERON SU VALOR EN PLASMA.**

*Fuente: Investigación propia.  
Elaborado por: Ana L. Valverde L. - Borys P. Meza A.*

**ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE INCIDENCIA DE LOS DATOS QUE DISMINUYERON SU VALOR EN PLASMA.**

Realizados los exámenes a toda la población estudiada, se obtuvieron resultados que disminuyeron su concentración de PTH en un -11% del resultado en suero.

**Tabla y gráfico N° 6: PORCENTAJE DE PACIENTES CON VALORES NORMALES Y ALTERADOS EN LOS RESULTADOS DE PARATOHORMONA.**

	NUMERO DE ENSAYOS
<b>NORMALES</b>	<b>44</b>
<b>ALTERADOS</b>	<b>56</b>
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>



**Tabla y gráfico N° 6: PORCENTAJE DE PACIENTES CON VALORES NORMALES Y ALTERADOS EN LOS RESULTADOS DE PARATOHORMONA.**

*Fuente: Investigación propia.*

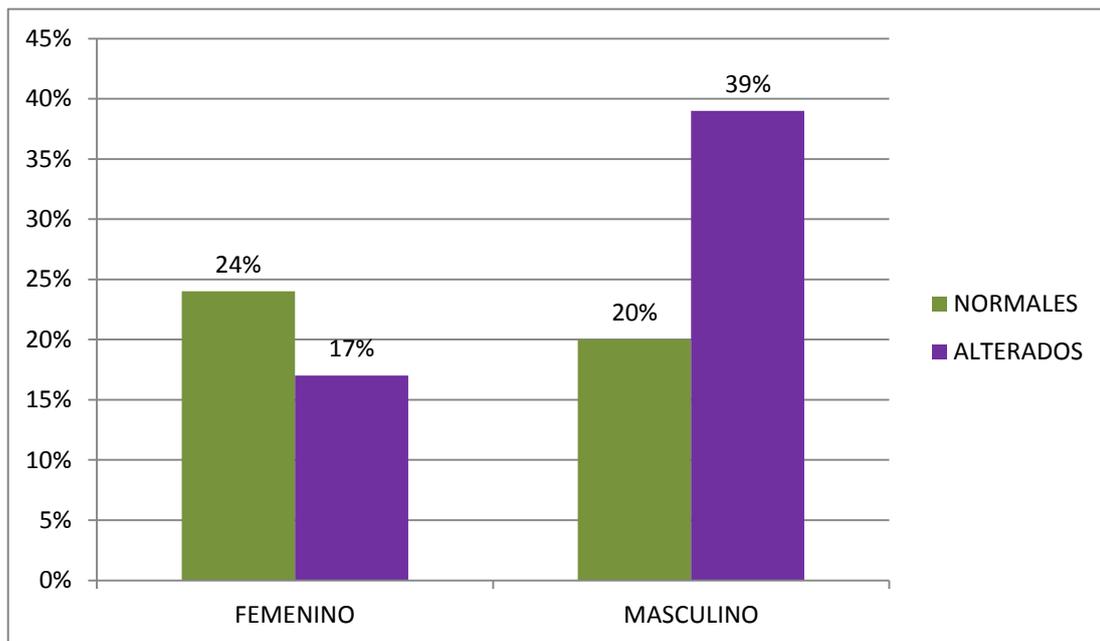
*Elaborado por: Ana L. Valverde L. - Borys P. Meza A*

**ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DEL PORCENTAJE DE PACIENTES CON VALORES NORMALES Y ALTERADOS EN LOS RESULTADOS DE PARATOHORMONA.**

De 100 pacientes que se realizó la medición de Paratohormona el 56% de estos presentaron trastornos en los valores de esta hormona, mientras que el 44% de los pacientes se mantuvieron dentro de los valores normales de la Hormona Paratiroidea.

**Tabla y gráfico N° 7: INCIDENCIA POR GÉNERO DE VALORES NORMALES Y ALTERADOS EN LA DETERMINACIÓN DE PARATOHORMONA.**

<b>GENERO</b>	<b>NORMALES</b>	<b>ALTERADOS</b>
<b>FEMENINO</b>	<b>24</b>	<b>17</b>
<b>MASCULINO</b>	<b>20</b>	<b>39</b>
<b>TOTAL</b>	<b>44</b>	<b>56</b>



**Tabla y gráfico N° 7: INCIDENCIA POR GÉNERO DE VALORES NORMALES Y ALTERADOS EN LA DETERMINACIÓN DE PARATOHORMONA**

*Fuente: Investigación propia.*

*Elaborado por: Ana L. Valverde L. - Borys P. Meza A*

## **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE INCIDENCIA POR GENERO DE VALORES NORMALES Y ALTERADOS EN LA DETERMINACIÓN DE PARATOHORMONA**

En pacientes de género femenino el 24% se encuentra dentro de los valores normales de Paratohormona, mientras que un 17 % presenta alteración en su valor; en cambio en pacientes de género masculino un 20% se encuentra dentro de los valores normales de Paratohormona, mientras que un 39% presenta trastornos en su valor.

### **3.4.1. COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS.**

De acuerdo a los gráficos 4 y 5 se puede evidenciar que el uso de plasma como muestra en la determinación de PTH tiene una variabilidad de +/- 11% del suero, es un porcentaje aceptable para usar su valor como resultado de Laboratorio Clínico por lo que queda comprobada la hipótesis.

## **CAPITULO IV**

### **4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.**

#### **4.1. CONCLUSIONES.**

- Los ensayos en la población estudiada, dieron como resultado que el género masculino fue del 51% y género femenino del 49%; concluyendo que hay una incidencia para este examen, mínimamente mayor en el género masculino que en el femenino.
- Realizada una tabla por rangos de edad, se concluye que el 37% de la población -las personas adultas-, son las de mayor incidencia en la determinación de PTH, las cuales se encuentran entre los 41 años hasta los 60 años de edad.
- En el mes de Diciembre fue donde tuvimos el mayor número de exámenes; observando la tabla, se determinó que de 100 exámenes, 19 pertenecieron a este mes.
- Los resultados, tuvieron un aumento de concentración de PTH en plasma en una variable diferenciada del 11% de cada una de las muestras realizadas y los que disminuyeron su concentración de PTH, fueron del -11% de las muestras realizadas en suero.

#### 4.2. RECOMENDACIONES.

- Para la extracción y transporte de la muestra de sangre con EDTA tripotásico se debe realizar a una temperatura de 8°C para conservar nítidamente la vida de la PTH.
- Para centrifugar las muestras de sangre con EDTA tripotásico que han sido recogidas se debe utilizar una centrifuga refrigerada que se encuentra a una temperatura de -8°C a 3000 rpm en 10 minutos.
- Para la realización del ensayo para la determinación de la PTH en plasma se debe realizar inmediatamente después de la centrifugación refrigerada.
- En la conservación de las muestras de plasma para un tiempo prolongado se deben congelar a menos - 20 °C para la conservación de la vida de la PTH, y así mismo para su descongelación se debe transportar a una temperatura de - 4°C por 30 min para así evitar la descomposición de la hormona por un cambio brusco de temperatura.
- Para la determinación de PTH con muestras de sangre con acelerador de coagula (tubo tapa roja) se la puede extraer a temperatura, pero se recomienda realizarla inmediatamente el ensayo.
- Para la conservación de muestras en suero se recomienda mantenerlas a temperatura refrigerada de 8°C, pero para una conservación de tiempo prolongado se recomienda congelar la muestra a -20°C.
- Las alteraciones de PTH se deben a varios aspectos externos e internos como pueden ser: la extracción de tiroides que se encuentra íntimamente unido a la glándula Paratiroides, la administración de medicamentos (calcio D, calsolid,

tiroxina, complejo B, levo tiroxina, eritropoyetina, etc.) y alteraciones de la glándula tiroides.

- La búsqueda de la incidencia por género en la determinación de PTH se realizó ingresando al sistema computarizado que se llama “Datalab” el cual contiene información completa de los pacientes, permitiendo seleccionar específicamente un examen en este caso PTH con los datos de cada uno de los pacientes que fueron sometidos a este proceso.
- La tabla por edad se realizó utilizando el sistema computarizado, el cual contiene datos principales de cada paciente entre ellos el examen al que ha sido sometido el paciente junto con sus datos de nacimiento el que nos permitió realizar dicha tabla.
- La organización de los exámenes realizados por mes, se dio tras seis meses de investigación en los cuales se trabajó en días laborables de lunes a viernes respectivamente en los cuales se llevaba un conteo semanal del número de exámenes realizados con un promedio de 3 a 5 exámenes semanales.

### **4.3. BIBLIOGRAFÍA.**

1. ORREGO, Arturo M. (2012). Fundamentos de Medicina. Endocrinología. 7ma edición. Editorial Corporación para investigaciones Biológicas.
2. HENRY, John B. (2005). El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. Edición original. Editorial Marbán Libros, S.L.
3. ROUVIÉRE, H. Anatomía Humana, Descriptiva, Topográfica y Funcional. 10ma edición. Editorial Masson.
4. DIASOURCE IMMUNOASSAYS S.A. hPTH-EASIA. DIAsource hPTH\_EASIA Kit. Rue du Bosquet.
5. ROBALINO, X. (2008). Manual de Procedimientos en Hematología. Riobamba.

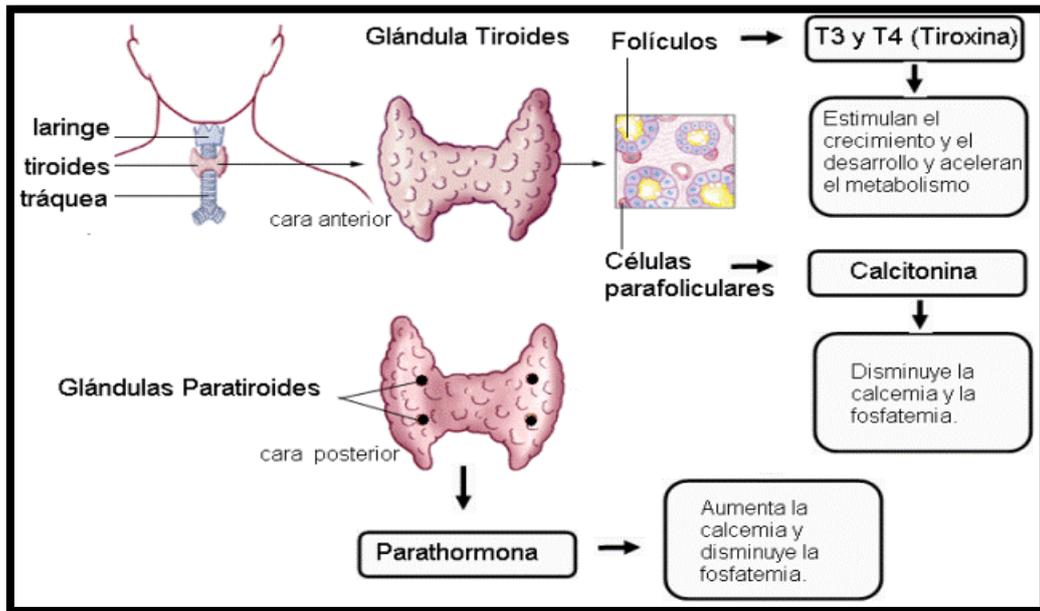
### **LINE BIBLIOGRAFÍA:**

1. - <http://www.cepvi.com/medicina/fisiologia/endocrino.shtml>
2. - [http://es.wikipedia.org/wiki/G1%C3%A1ndula\\_tiroides](http://es.wikipedia.org/wiki/G1%C3%A1ndula_tiroides).
3. -<http://anatomiaunam.blogspot.com/2010/10/irrigacion-de-la-glandula-tiroides.html>
4. - <http://www.onmeda.es/enciclopedia/anatomia/tiroides-las-glandulas-paratiroides-1363-4.html>
5. - <http://es.wikipedia.org/wiki/Serolog%C3%ADa>

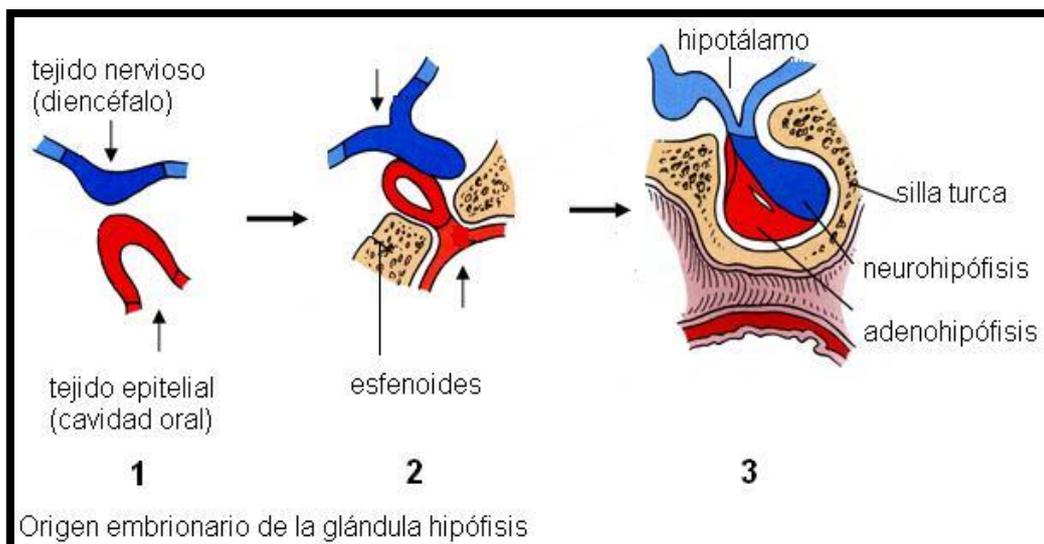
6. - [http://es.wikipedia.org/wiki/Reacci%C3%B3n\\_ant%C3%ADgeno-anticuerpo](http://es.wikipedia.org/wiki/Reacci%C3%B3n_ant%C3%ADgeno-anticuerpo)
7. - <http://es.wikipedia.org/wiki/Inmunoensayo>
8. - <http://epidemiologiamolecular.com/reacciones-inmunoenzimaticas-ii/>
9. - <http://es.wikipedia.org/wiki/Radioinmunoensayo>
10. - <http://spanish.alibaba.com/product-free/microwell-plates-116842532.html>

## ANEXOS.

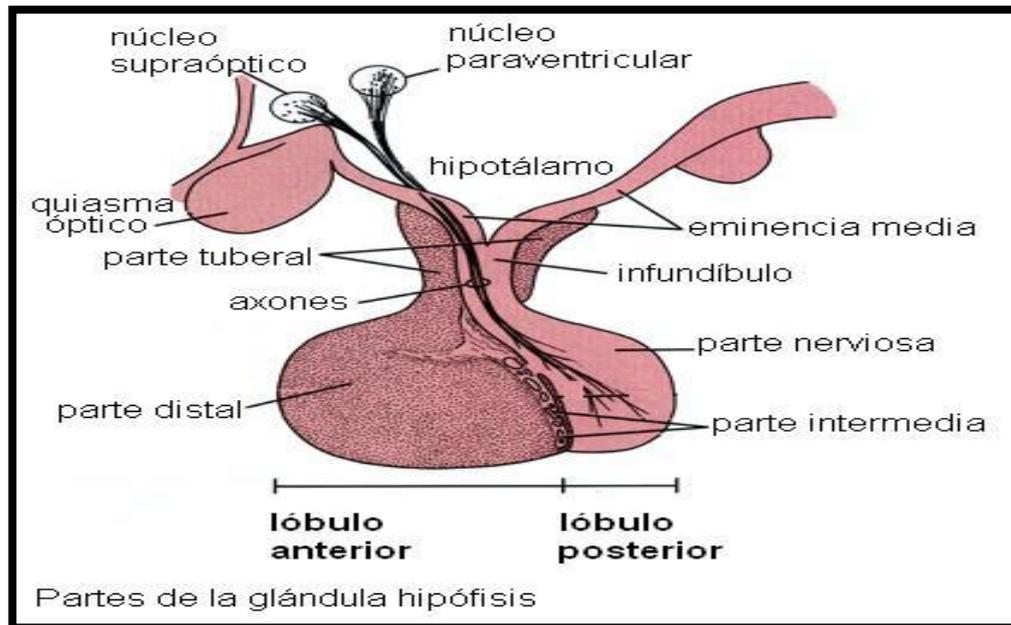
### ANEXO N° 1: GLÁNDULA TIROIDES.



### ANEXO N° 2: ORIGEN EMBRIONARIO DE LA GLÁNDULA HIPÓFISIS.



### ANEXO N° 3: PARTES DE LA GLÁNDULA HIPÓFISIS.



### ANEXO N° 4: TABLA CON DATOS DE LOS PACIENTES POR GÉNERO.

	NOMBRES	SEXO	NOMBRES	SEXO	
1	REYES ENRÍQUEZ MAURA ELENA	F	1	BUCHELI TERÁN HÉCTOR HUGO	M
2	CÁRDENAS CHACÓN CLARA LUZ	F	2	LOJA CARRIÓN MANUEL ANTONIO	M
3	PACHECO PAREDES ROSA DOMITILA	F	3	PAZMIÑO NARVÁEZ CESAR EMILIO	M
4	INSUASTI LUCERO OLGA LUZMILA	F	4	YÁNEZ TOMALO MANUEL ESTUARDO	M
5	YANQUI MARIA DOLORES	F	5	BURBANO DE LARA CERVANTES EFREN EDMUNDO	M
6	GAVILANES AYALA ELVIA TERESA	F	6	OVIEDO BENALCAZARNESTOR JUAN	M
7	VELASCO SALAZAR MARIANA DE JESUS	F	7	MENESES NARVAEZ JULIO CESAR	M
8	VACA PIJAL ROSA MATILDE	F	8	ALTAMIRANO GALLO LUIS NEPTALI	M
9	TOALA ESPINOSA YOLANDA ELENA	F	9	BELTRANGOMEZ PATRICIO MARCELO	M
10	CASTRO GABELA MARIA TERESA	F	10	VALDIVIEZO ESPINOZA FAUSTO SERGIO	M
11	GARCIA PONCE YANINA	F	11	RUEDA ALMEIDA MAXIMO GUILLERMO	M
12	MORENO YAMBAY ANA MERCEDES	F	12	DEL VALLE DIAZ NELSON HUGO	M
13	BRITO BENAVIDES MARIA ELENA	F	13	GARCIARODRIGUEZANGEL	M
14	BETANCOURT RODRIGUEZ DELIA	F	14	MONCAYO AGILA SEGUNDO URBANO	M
15	MORENO NICOLA MANUELA LIDIA	F	15	KRUGER DELGADO GUILLEROMO ARTURO	M
16	ROSALES ORTIZ MARIA ELENA	F	16	CABRERA MERCHAN FERNANDO EUGENIO	M
17	GARRIDO MARIA MAGDALENA	F	17	SILVA CHAVEZ EDGAR AUGUSTO	M
18	GUALOTUÑAGUALOTUÑA ELVIA	F	18	MACHUCA SUAREZ OCTAVIO ADALBERTO	M
19	SANCHEZGARCIA EMMA JUANITA	F	19	SUAREZ IGNACIO EFREN	M
20	BEDOYA GUADALUPE MARIA DEL ROCIO	F	20	SEMPERTEGUI VALDIVIEZO CARLOS ARMANDO	M

21	ALVARADO VELEZMARIA BEATRIZ	F	21	CASTELLANOS LEON RICARDO BOLIVAR(7354)	M
22	TAPIA CARRASCO IDALIA	F	22	CANDO MORENO RUBEN	M
23	DIAZCHICAIZA CARMEN AMELIA	F	23	FLORES FLORES MIGUEL EDUARDO	M
24	MORALES CARRASCO NARCISA DE JESUS	F	24	ZUTITA ZURITA SILVIO	M
25	RODRIGUEZ FREIRE TERESA DE JESUS	F	25	GRANJA CARRILLO JAIME ALFREDO	M
26	SILVA NUÑES MARIANA DEL PILAR	F	26	ALBANTAPE CESAR AGUSTO	M
27	BRAVO SOLISMARIA MAGDALENA	F	27	ZABALA BARONA JOSE ALFREDO	M
28	CHALCO SANDOVALINMARIA ELENA	F	28	SALGUERO VALLEJO MILTON	M
29	ARMAS CASTRO MARTHA SUSANA	F	29	ALMEIDA MONTESDEOCA HONORIO MARCELINO	M
30	GARCES MACHUCA BLANCA PAULINA	F	30	QUISILEMASIMBAÑAJOSECRISTOBAL	M
31	VILLAFUERTE MEJIAGUISELA MARIBEL	F	31	VALLE AREVALO CESAR EDMUNDO	M
32	LOPEZ ESTRADA MARTHA ELIZABETH	F	32	CAISAGUANO URIBE FAUSTO GENARO	M
33	SALDARRIAGA SALDARRIAGA CLAIRE MARIGOL	F	33	QUIÑONEZ ESTACIO IRENE FELIZA	M
34	YANCHAPAXI AGUAYO LAURA ELIZABET	F	34	CAMACHO CESAR AGUSTO	M
35	GALINDO SALTOS AIDA	F	35	ALARCONVINUEZA SEGUNDO JOSE PRO	M
36	ORTIZ RUIZ JENNY PAULINA	F	36	SORIA RODRIGUEZ NELSON OSWALDO	M
37	RODRIGUEZ MANTILLA LAURA ISABEL	F	37	ROMERO CALLE JULIO EFRAIN	M
38	VERA MACIAS FRANCISCA	F	38	CHUSQUILLOANGAMARCA JORGE ANIBAL	M
39	CONDORSIMBAÑA HILDA MARINA	F	39	BENAVIDES DUENAS FAUSTO FERNANDO	M
40	TORRES DELGADO EVELYN FERNANDA	F	40	HERMOSA VACA TARCISIOGERMANICO	M
41	LOPEZRODRIGUEZ GLENDA HERMINIA	F	41	PINEDA CARRILLO DIOMEDES DANILLO	M
			42	FRANCO FRANCORUBEN REINALDO	M
			43	RIVERA ROSERO MIGUEL ANGEL	M
			44	ALARCON PINTO SIXTO ANIBAL	M
			45	MELO PAEZ JORGE FERNANDO	M
			46	ESTUPIÑAN QUIÑONEZ FREDY FERNANDO	M
			47	PAGUAYDAMIANANGEL ENRIQUE	M
			48	PAREDES SANDOVAL MAURICIO	M
			49	OLOVACHACHIPANTIZA EDISON	M
			50	ROMERO SOLIS JUAN ALBERTO	M
			51	AGUIRRE ARIAS WILIAN FERNANDO	M
			52	LANDA CASTRO JOSE ARCADIO	M
			53	TIPANLUISA CRUZ LUIS VINICIO	M
			54	ROJAS GAVILANEZANGEL GERARDO	M
			55	CRIZON NAVARRETE TITO PATRICIO(PROV)	M
			56	CUSMERODRIGUEZJOSE ALEXANDER	M
			57	PILLIZACHUQUI VICENTE PATRICIO	M
			58	QUELAL CRUZ STALIN ANIBAL	M
			59	AZAS PUNINAELIAS RENE	M

**ANEXO N° 5: TABLA CON DATOS DE LOS PACIENTES POR EDAD.**

NOMBRES	EDAD	NOMBRES	EDAD
BUHELITERANHECTOR HUGO	97	CAMACHO CESAR AUGUSTO	57
LOJA CARRION MANUEL ANTONIO	89	GUALOTUÑAGUALOTUÑA ELVIA	57
PAZMIÑO NARVAEZ CESAR EMILIO	87	ALARCONVINUEZA SEGUNDO JOSE PRO	55
YANEZTOMALO MANUEL ESTUARDO	83	SANCHEZGARCIA EMMA JUANITA	55
REYES ENRIQUEZ MAURA ELENA	83	SORIA RODRIGUEZ NELSON OSWALDO	54
BURBANO DE LARA CERVANTES EFREN EDMUNDO	83	BEDOYA GUADALUPE MARIA DEL ROCIO	54
OVIDEO BENALCAZARNESTOR JUAN	82	ALVARADO VELEZMARIA BEATRIZ	54
MENESES NARVAEZ JULIO CESAR	81	ROMERO CALLE JULIO EFRAIN	54
ALTAMIRANO GALLO LUIS NEPTALI	80	TAPIA CARRASCO IDALIA	54
CARDENASCHACON CLARA LUZ	80	CHUSQUILLOANGAMARCA JORGE ANIBAL	51
BELTRANGOMEZ PATRICIO MARCELO	79	BENAVIDES DUENAS FAUSTO FERNANDO	51
PACHECO PAREDES ROSA DOMITILA	79	HERMOSA VACA TARCISIOGERMANICO	50
VALDIVIEZO ESPINOZA FAUSTO SERGIO	78	DIAZCHICAIZA CARMEN AMELIA	49
RUEDA ALMEIDA MAXIMO GUILLERMO	77	MORALES CARRASCO NARCISA DE JESUS	48
INSUASTI LUCERO OLGA LUZMILA	75	PINEDA CARRILLO DIOMEDES DANILO	48
DEL VALLE DIAZ NELSON HUGO	75	FRANCO FRANCORUBEN REINALDO	47
GARCIARODRIGUEZANGEL	74	RIVERA ROSERO MIGUEL ANGEL	46
MONCAYO AGILA SEGUNDO URBANO	73	RODRIGUEZ FREIRE TERESA DE JESUS	46
KRUGER DELGADO GUILLEROMO ARTURO	73	SILVA NUÑES MARIANA DEL PILAR	46
CABRERA MERCHAN FERNANDO EUGENIO	72	ALARCON PINTO SIXTO ANIBAL	46
SILVA CHAVEZ EDGAR AUGUSTO	71	MELO PAEZ JORGE FERNANDO	45
YANQUI MARIA DOLORES	70	BRAVO SOLISMARIA MAGDALENA	45
MACHUCA SUAREZ OCTAVIO ADALBERTO	69	CHALCO SANDOVALINMARIA ELENA	45
GAVILANES AYALA ELVIA TERESA	69	ESTUPIÑAN QUIÑONEZ FREDY FERNANDO	42
SUAREZ IGNACIO EFREN	68	PAGUAYDAMIANANGEL ENRIQUE	42
VELASCO SALAZAR MARIANA DE JESUS	68	PAREDES SANDOVAL MAURICIO	41
SEMPERTEGUI VALDIVIEZO CARLOS ARMANDO	68	OLOVACHACHIPANTIZA EDISON	41
VACA PIJAL ROSA MATILDE	67	ARMAS CASTRO MARTHA SUSANA	41
TOALA ESPINOSA YOLANDA ELENA	67	GARCES MACHUCA BLANCA PAULINA	41
CASTELLANOS LEON RICARDO BOLIVAR(7354)	66	VILLAFUERTE MEJIAGUISELA MARIBEL	39
CASTRO GABELA MARIA TERESA	64	LOPEZ ESTRADA MARTHA ELIZABETH	39
CANDO MORENO RUBEN	64	SALDARRIAGA SALDARRIAGA CLAIRE MARIGOL	39
GARCIA PONCE YANINA	64	ROMERO SOLIS JUAN ALBERTO	39
FLORES FLORES MIGUEL EDUARDO	64	YANCHAPAXI AGUAYO LAURA ELIZABET	38
MORENO YAMBAY ANA MERCEDES	64	GALINDO SALTOS AIDA	38
ZUTITA ZURITA SILVIO	64	ORTIZ RUIZ JENNY PAULINA	37
BRITO BENAVIDES MARIA ELENA	63	AGUIRRE ARIAS WILIAN FERNANDO	37
BETANCOURT RODRIGUEZ DELIA	63	LANDA CASTRO JOSE ARCADIO	37
GRANJA CARRILLO JAIME ALFREDO	61	TIPANLUISA CRUZ LUIS VINICIO	33
ALBANTAPE CESAR AGUSTO	61	ROJAS GAVILANEZANGEL GERARDO	33
MORENO NICOLA MANUELA LIDIA	61	CRIZON NAVARRETE TITO PATRICIO(PROV)	32
ZABALA BARONA JOSE ALFREDO	61	RODRIGUEZ MANTILLA LAURA ISABEL	32
ROSALES ORTIZ MARIA ELENA	60	CUSMERODRIGUEZJOSE ALEXANDER	32
SALGUERO VALLEJO MILTON	60	VERA MACIAS FRANCISCA	30
ALMEIDA MONTESDEOCA HONORIO MARCELINO	60	PILLIZACHUQUI VICENTE PATRICIO	30
QUISILEMASIMBAÑAJOSECRISTOBAL	60	CONDORSIMBAÑA HILDA MARINA	30
GARRIDO MARIA MAGDALENA	59	QUELAL CRUZ STALIN ANIBAL	28
VALLE AREVALO CESAR EDMUNDO	58	TORRES DELGADO EVELYN FERNANDA	27
CAISAGUANO URIBE FAUSTO GENARO	58	LOPEZRODRIGUEZ GLENDA HERMINIA	27
QUIÑONEZ ESTACIO IRENE FELIZA	58	AZAS PUNINAELIAS RENE	22

**ANEXO N° 6: TABLA DE LOS ENSAYOS POR MES.**

JULIO-AGOSTO	16
AGOSTO-SEPTIEMBRE	17
SEPTIEMBRE-OCTUBRE	16
OCTUBRE-NOVIEMBRE	16
NOVIEMBRE-DICIEMBRE	16
DICIEMBRE-ENERO	19

**ANEXO N° 7: TABLA DE RESULTADOS DE PTH.**

NOMBRES	SUERO	PLASMA	VARIABLE	PORCENTAJE
BRITO BENAVIDES MARIA ELENA	107	118	11	90,68
VELASCO SALAZAR MARIANA DE JESUS	74	74	0	100,00
VERA MACIAS FRANCISCA	2500	2500	0	100,00
ROMERO CALLE JULIO EFRAIN	48	48	0	100,00
ALVARADO VELEZMARIA BEATRIZ	3	3	0	100,00
CASTRO GABELA MARIA TERESA	20,9	20,9	0	100,00
QUIÑONEZ ESTACIO IRENE FELIZA	113	113	0	100,00
ROSALES ORTIZ MARIA ELENA	3	3	0	100,00
GALINDO SALTOS AIDA	65,8	65,8	0	100,00
AGUIRRE ARIAS WILIAN FERNANDO	48,4	48,8	0,4	99,18
ZABALA BARONA JOSE ALFREDO	36,6	36,6	0	100,00
GARCES MACHUCA BLANCA PAULINA	4,96	5,8	0,84	85,52
GARCIA PONCE YANINA	49	50,4	1,4	97,22
MORENO YAMBAY ANA MERCEDES	39,5	41,1	1,6	96,11
SILVA NUÑES MARIANA DEL PILAR	24,7	26,4	1,7	93,56
CHALCO SANDOVALINMARIA ELENA	57	58,9	1,9	96,77
LOPEZ ESTRADA MARTHA ELIZABETH	235	237	2	99,16
QUISILEMASIMBAÑAJOSECRISTOBAL	63,9	66,1	2,2	96,67
YANCHAPAXI AGUAYO LAURA ELIZABET	31,5	34,1	2,6	92,38
CRIZON NAVARRETE TITO PATRICIO(PROV)	89,9	92,9	3	96,77
BUHELITERANHECTOR HUGO	234	237	3	98,73
MORENO NICOLA MANUELA LIDIA	40,6	43,8	3,2	92,69
ALARCON PINTO SIXTO ANIBAL	91,8	95,5	3,7	96,13
PAZMIÑO NARVAEZ CESAR EMILIO	108	112	4	96,43
KRUGER DELGADO GUILLEROMO ARTURO	84,9	89,1	4,2	95,29
SILVA CHAVEZ EDGAR AUGUSTO	54,6	58,8	4,2	92,86
GAVILANES AYALA ELVIA TERESA	65,4	70,4	5	92,90
QUELAL CRUZ STALIN ANIBAL	137	142	5	96,48
LOPEZRODRIGUEZ GLENDA HERMINIA	221	227	6	97,36
TAPIA CARRASCO IDALIA	21,1	27,2	6,1	77,57
CANDO MORENO RUBEN	10,7	17	6,3	62,94
SALDARRIAGA SALDARRIAGA CLAIRE MARIGOL	30	36,6	6,6	81,97
ALARCONVINUEZA SEGUNDO JOSE PRO	28,8	35,5	6,7	81,13

BETANCOURT RODRIGUEZ DELIA	97,2	104	6,8	93,46
ORTIZ RUIZ JENNY PAULINA	36,1	43	6,9	83,95
TOALA ESPINOSA YOLANDA ELENA	35,6	42,7	7,1	83,37
PILLIZACHUQUI VICENTE PATRICIO	69,6	76,8	7,2	90,63
ROMERO SOLIS JUAN ALBERTO	55,8	63,5	7,7	87,87
BRAVO SOLISMARIA MAGDALENA	23,9	31,7	7,8	75,39
LANDA CASTRO JOSE ARCADIO	132	140	8	94,29
FRANCO FRANCORUBEN REINALDO	61,4	69,9	8,5	87,84
MELO PAEZ JORGE FERNANDO	41,3	50,5	9,2	81,78
RIVERA ROSERO MIGUEL ANGEL	214	224	10	95,54
RUEDA ALMEIDA MAXIMO GUILLERMO	118	128	10	92,19
ALBANTAPE CESAR AGUSTO	271	281	10	96,44
OVIEDO BENALCAZARNESTOR JUAN	35,2	45,7	10,5	77,02
SALGUERO VALLEJO MILTON	95,5	107	11,5	89,25
ZUTITA ZURITA SILVIO	82,7	94,7	12	87,33
SANCHEZGARCIA EMMA JUANITA	16,7	29,3	12,6	57,00
DEL VALLE DIAZ NELSON HUGO	84,2	97	12,8	86,80
REYES ENRIQUEZ MAURA ELENA	189	203	14	93,10
CAMACHO CESAR AUGUSTO	90,5	105	14,5	86,19
RODRIGUEZ FREIRE TERESA DE JESUS	52	66,7	14,7	77,96
OLOVACHACHIPANTIZA EDISON	92,1	107	14,9	86,07
YANEZTOMALO MANUEL ESTUARDO	57,3	72,3	15	79,25
LOJA CARRION MANUEL ANTONIO	101	116	15	87,07
ARMAS CASTRO MARTHA SUSANA	71,8	88,9	17,1	80,76
RODRIGUEZ MANTILLA LAURA ISABEL	87,2	105	17,8	83,05
VILLAFUERTE MEJIAGUISELA MARIBEL	42,3	61,2	18,9	69,12
GARCIA RODRIGUEZ ANGEL	59,6	79	19,4	75,44
BURBANO DE LARA CERVANTES EFREN EDMUNDO	96,3	117	20,7	82,31
CASTELLANOS LEON RICARDO BOLIVAR(7354)	118	139	21	84,89
MONCAYO AGILA SEGUNDO URBANO	227	248	21	91,53
PAGUAY DAMIAN ANGEL ENRIQUE	194	216	22	89,81
MORALES CARRASCO NARCISA DE JESUS	937	960	23	97,60
HERMOSA VACA TARCISIO GERMANICO	91,5	117	25,5	78,21
SORIA RODRIGUEZ NELSON OSWALDO	53,5	80,9	27,4	66,13
ESTUPIÑAN QUIÑONEZ FREDY FERNANDO	109	140	31	77,86
PINEDA CARRILLO DIOMEDES DANILO	32,5	64,7	32,2	50,23
ROJAS GAVILANEZ ANGEL GERARDO	194	228	34	85,09
VALDIVIEZO ESPINOZA FAUSTO SERGIO	82,9	119	36,1	69,66
PAREDES SANDOVAL MAURICIO	32,4	72,3	39,9	44,81
CABRERA MERCHAN FERNANDO EUGENIO	113	158	45	71,52
VACA PIJAL ROSA MATILDE	85,6	145	59,4	59,03
TIPAN LUISA CRUZ LUIS VINICIO	564	674	110	83,68
MENESES NARVAEZ JULIO CESAR	169	147	-22	114,97
CAISAGUANO URIBE FAUSTO GENARO	230	211	-19	109,00
ALMEIDA MONTESDEOCA HONORIO MARCELINO	362	344	-18	105,23
SUAREZ IGNACIO EFREN	137	120	-17	114,17

VALLE AREVALO CESAR EDMUNDO	85,1	69,4	-15,7	122,62
CARDENASCHACON CLARA LUZ	165	150	-15	110,00
MACHUCA SUAREZ OCTAVIO ADALBERTO	120	106	-14	113,21
SEMPERTEGUI VALDIVIEZO CARLOS ARMANDO	142	131	-11	108,40
BENAVIDES DUENAS FAUSTO FERNANDO	308	298	-10	103,36
DIAZCHICAIZA CARMEN AMELIA	64,2	55,3	-8,9	116,09
AZAS PUNINAEIAS RENE	38,4	30,4	-8	126,32
CUSMERODRIGUEZJOSE ALEXANDER	55,9	48,1	-7,8	116,22
GARRIDO MARIA MAGDALENA	76,5	68,8	-7,7	111,19
TORRES DELGADO EVELYN FERNANDA	59,2	53	-6,2	111,70
BELTRANGOMEZ PATRICIO MARCELO	898	892	-6	100,67
ALTAMIRANO GALLO LUIS NEPTALI	22,5	16,7	-5,8	134,73
CONDORSIMBAÑA HILDA MARINA	34,1	28,5	-5,6	119,65
YANQUI MARIA DOLORES	60,7	56,9	-3,8	106,68
CHUSQUILLOANGAMARCA JORGE ANIBAL	62,2	58,7	-3,5	105,96
FLORES FLORES MIGUEL EDUARDO	31,5	28,1	-3,4	112,10
BEDOYA GUADALUPE MARIA DEL ROCIO	78	74,7	-3,3	104,42
INSUASTI LUCERO OLGA LUZMILA	42,2	39,1	-3,1	107,93
GUALOTUÑAGUALOTUÑA ELVIA	109	106	-3	102,83
GRANJA CARRILLO JAIME ALFREDO	38,7	38,3	-0,4	101,04
PACHECO PAREDES ROSA DOMITILA	45,6	45,2	-0,4	100,88

#### ANEXO N° 8: VALORES DE REFERENCIA DE PTH.

	<b>Mediana</b>	<b>Central 95 % intervalo (pg/ml)</b>
<b>Plasma con EDTA</b>	<b>38</b>	<b>16 – 87</b>
<b>Suero</b>	<b>30</b>	<b>11 - 67</b>

**ANEXO N° 9: RESUMEN DE PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO DE PTH.**

	<b>CALIBRADORES (ul)</b>	<b>MUESTRAS Y CONTROLES (ul)</b>
<b>TAMPÓN DE INCUBACIÓN</b>	<b>50</b>	<b>50</b>
<b>CALIBRADORES (0 AL 5)</b>	<b>200</b>	<b>-</b>
<b>MUESTRAS, CONTROLES</b>	<b>-</b>	<b>200</b>
<b>INCUBAR DURANTE 2 HORAS A TEMPERATURA AMBIENTE CON AGITACIÓN CONTINÚA A 700 rpm. ASPIRAR EL CONTENIDO DE CADA POCILLO. LAVAR 4 VECES CON 400 ul DE LA SOLUCIÓN DE LAVAMIENTO Y ASPIRAR.</b>		
<b>ANTI PTH HRP</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>INCUBAR DURANTE 1 HORA A TEMPERATURA AMBIENTE CON AGITACIÓN CONTINÚA A 700 rpm. ASPIRAR EL CONTENIDO DE CADA POCILLO. LAVAR 4 VECES CON 400 ul DE LA SOLUCIÓN DE LAVAMIENTO Y ASPIRAR.</b>		
<b>SOLUCIÓN CROMÓGENA</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>INCUBAR DURANTE 30 MINUTOS A TEMPERATURA AMBIENTE CON AGITACIÓN CONTINÚA A 700 rpm.</b>		
<b>SOLUCIÓN DE PARADA</b>	<b>200</b>	<b>200</b>
<b>LEER CON EL LECTOR DE PLACAS DE MICRO VALORACIÓN Y NOTAR LA ABSORBANCIA DE CADA POCILLO A 450 nm (VERSUS 630 O 650) Y 490 nm (VERSUS 630 O 650 nm).</b>		