



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Caracterización clínica y pruebas hormonales para el diagnóstico de
Feocromocitoma

Trabajo de Titulación para optar al título de Licenciado en
Laboratorio Clínico

Autores:

Guarquila Valle Anayely Polet
Mancheno Cartagena Pablo Andrés

Tutora:

Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos

Riobamba, Ecuador. 2024

DECLARATORIA DE AUTORÍA

Nosotros, Anayely Polet Guarquila Valle, con cédula de ciudadanía 0605078187, y Pablo Andrés Mancheno Cartagena, con cédula de ciudadanía 0605159219, autores del trabajo de investigación titulado: Caracterización clínica y pruebas hormonales para el diagnóstico de Feocromocitoma certificamos que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedemos a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor (a) de la obra referida, será de nuestra entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 25 de octubre de 2024.



Anayely Polet Guarquila Valle
C.I: 0605078187

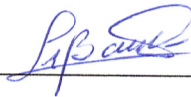


Pablo Andrés Mancheno Cartagena
C.I: 0605159219

DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR

Quien suscribe, **Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos** catedrático adscrito a la Facultad de Ciencias de la Salud, por medio del presente documento certifico haber asesorado y revisado el desarrollo del trabajo de investigación titulado: **Caracterización clínica y pruebas hormonales para el diagnóstico de Feocromocitoma**, bajo la autoría del estudiante **Anayely Polet Guarquila Valle**; por lo que se autoriza ejecutar los trámites legales para su sustentación.

Es todo cuanto informar en honor a la verdad; en Riobamba, a un día **23** del mes de **septiembre de 2024**



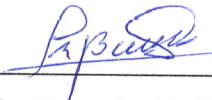
Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos

C.I: 1801949908

DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR

Quien suscribe, **Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos** catedrático adscrito a la Facultad de Ciencias de la Salud, por medio del presente documento certifico haber asesorado y revisado el desarrollo del trabajo de investigación titulado: **Caracterización clínica y pruebas hormonales para el diagnóstico de Feocromocitoma**, bajo la autoría del estudiante **Pablo Andrés Mancheno Cartagena**; por lo que se autoriza ejecutar los trámites legales para su sustentación.

Es todo cuanto informar en honor a la verdad; en Riobamba, a un día **23** del mes de **septiembre** de **2024**.



Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos

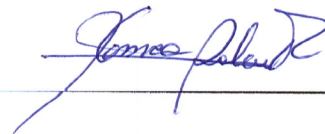
C.I: 1801949908

CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación Caracterización clínica y pruebas hormonales para el diagnóstico de Feocromocitoma, presentado por Anayely Polet Guarquila Valle, con cédula de identidad número 0605078187 y Pablo Andrés Mancheno Cartagena, con cédula de identidad número 0605159219, bajo la tutoría de la Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos; certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este, con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba 25 de octubre de 2024.

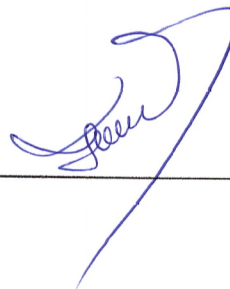
Mgs. Ximena del Rocío Robalino Flores
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE GRADO



Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO



MsC. Yisela Carolina Ramos Campi
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO





CERTIFICACIÓN

Que, Guarquila **Valle Anayely Polet** con CC: **0605078187**, estudiante de la Carrera **Laboratorio Clínico**, Facultad de **Ciencias de la Salud**; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado " **Caracterización clínica y pruebas hormonales para el diagnóstico de Feocromocitoma**", cumple con el 10 %, de acuerdo al reporte del sistema Anti plagio **Turnitin** porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 1 de octubre de 2024

Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos
TUTOR(A)



CERTIFICACIÓN

Que, **Mancheno Cartagena Pablo Andrés** con CC: **0605159219**, estudiante de la Carrera **Laboratorio Clínico**, Facultad de **Ciencias de la Salud**; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado " **Caracterización clínica y pruebas hormonales para el diagnóstico de Feocromocitoma**", cumple con el 10 %, de acuerdo con el reporte del sistema Anti-plagio **Turnitin**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente, autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 1 de octubre de 2024

Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos
TUTOR(A)

DEDICATORIA

A mis padres Xavier y Marcela porque gracias a su esfuerzo han hecho posible mis estudios superiores apoyándome de una manera tan incondicional y siempre con palabras de aliento confiando siempre en mi capacidad y esmero de estudio. A mi hermana Katty que siempre creyó en mí y con su carisma me mantuvo de pie en momentos difíciles. A la memoria de mi abuelita Gilberta que desde aquel lugar de paz me sigue guiando y cuidando. A mi tía Violeta y Eddy que a pesar de la distancia no me han dejado sola. A Pablo que además de ser mi compañero de tesis es un gran amigo, con su apoyo logramos concretar este proyecto. Este triunfo es de ustedes.

Guarquila Valle Anayely Polet

A mis padres, Pablo Mancheno y Lorena Cartagena por ser los pilares fundamentales en mi formación, apoyándome de manera incondicional con sus consejos, brindándome siempre toda su comprensión y cariño. A mi hermana Vannette quien a su corta edad ha demostrado el gran cariño y amor que me tiene, siendo una de las personas más importantes en mi vida. A mi abuela Sara quien fue mi segunda madre la cual guío mis pasos desde niño y me permitió ser mejor persona y profesional. A Lesly quien es mi apoyo y fortaleza durante todo este recorrido, por sus palabras y el tiempo que compartió junto a mí. A Anayely por ayudarme a cumplir con este proyecto, quien aparte de ser mi gran amiga, ha demostrado ser una gran persona y excelente compañera de trabajo.

Mancheno Cartagena Pablo Andrés

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Universidad Nacional Chimborazo, quien me dio la oportunidad de estudiar la carrera de Laboratorio Clínico, a sus autoridades y docentes, quienes me dieron su tiempo y paciencia para nutrirme de conocimientos, valores, y ética. De manera especial agradezco a la Mgs. Mercedes Balladares, tutora de mi proyecto de investigación. A mis abuelitos y tíos quienes supieron estar cuando más los necesitaba, su amor y apoyo ha sido la luz que guían mi camino. Un sincero agradecimiento a todos mis amigos por ser la familia que yo elegí, especialmente a Melany por estar en los momentos de estrés y alegría, su apoyo, confianza, y cariño serán inolvidables. A las personas que directa o indirectamente supieron brindarme una palabra de aliento, cada uno de ustedes ha contribuido en mi camino, gracias por ser mi punto de apoyo.

Guarquila Valle Anayely Polet

Mi sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de Chimborazo, quien me abrió las puertas para estudiar la carrera que más anhelaba. A todos mis docentes quienes brindaron su tiempo y conocimiento en formarme como profesional. Además, agradecer de manera especial a mi tutora Mgs. Mercedes Balladares quien nos orientó y compartió sus conocimientos para el desarrollo de este proyecto. A mis padres y hermana que gracias a ellos todo eso es posible, a abuela quien es mi guía y apoyo. A mi pareja quien siempre me motivo a cumplir mis objetivos, Finalmente a mis amigos y conocidos con quienes compartí buenos momentos durante toda la carrera.

Mancheno Cartagena Pablo Andrés

ÍNDICE GENERAL:

RESUMEN	13
ABSTRACT	14
CAPÍTULO I	15
INTRODUCCIÓN	15
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	20
Glándulas Suprarrenales	20
Lesión Tumoral.....	21
Feocromocitoma	21
Características Biológicas.....	22
Fisiopatología	23
Manifestaciones clínicas.....	24
Factores genéticos que influyen en el desarrollo del Feocromocitoma.....	24
Métodos de Diagnóstico	26
Análisis de Laboratorio	27
Metanefrinas:	27
Catecolaminas libres suero:	28
Cromogranina-A:.....	29
Ácidos grasos libres:.....	30
Ácido vanilmandélico:.....	30
Ácido homovainillico en Orina:	30
Otras determinaciones de ayuda diagnóstica.....	31
Gastrina:.....	31
Enolasa neuroespecífica (NSE):	31
Metoxitiramina:	32
Clonidina:	32

Método de ELISA.....	32
ELISA competitivo-directa.....	34
ELISA competitivo-indirecta	34
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	36
Tipo de Investigación	36
Según el nivel	36
Según el diseño.....	36
Según la secuencia temporal.....	37
Según la cronología de hechos	37
Población	37
Muestra	37
Criterios de inclusión y exclusión	38
Métodos de estudio.....	38
Técnicas y procedimientos	38
Procesamiento Estadístico	38
Consideraciones éticas.....	39
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES	61
Conclusiones.....	61
ANEXOS	68

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Descripción de los métodos aplicados en pruebas hormonales para Feocromocitoma.	42
Tabla 2. Niveles hormonales obtenidos de pacientes diagnosticados con Feocromocitoma y manifestaciones clínicas	48
Tabla 3. Biomarcadores adicionales en sangre u orina como ayuda diagnóstica en el Feocromocitoma.	58

ÍNDICE DE TABLAS FIGURAS

Figura 1. Valores de Referencia de Metanefrinas.	28
Figura 2. Valores de Referencia para catecolaminas.....	29

RESUMEN

El feocromocitoma es un tumor neuroendocrino raro, potencialmente grave que se desarrolla en células cromafines en la médula de las glándulas suprarrenales, mismas que son productoras de catecolaminas, como la adrenalina y la noradrenalina. A nivel mundial, se estima que la incidencia anual es de 2-8 casos por un millón de personas. El objetivo de esta investigación es recopilar información mediante revisión bibliográfica acerca de las distintas pruebas hormonales y la caracterización clínica para el diagnóstico de Feocromocitoma. Este estudio es de tipo descriptivo, documental, no experimental, retrospectivo, donde se revisaron 80 artículos científicos como población, y se seleccionaron 35 como muestra, de acuerdo con los criterios de selección. La información fue extraída de bases de datos científicas de alto impacto como PubMed, Elsevier, Scielo, Medigraphyc, Redalyc, Dialnet y repositorios, además se efectuó un análisis y comparación de casos clínicos, revistas científicas, libros, entre otros, mediante la discusión con diversos estudios relacionados de diferentes autores, entre los principales resultados que arrojó la investigación tenemos que: las manifestaciones clínicas están relacionadas con la secreción variable de catecolaminas la cual provoca una tríada clásica compuesta por cefalea, taquicardia, diafóresis y otros síntomas como dolor abdominal, fiebre, náuseas, además, las pruebas de primera línea que ayudan a la valoración fue la cuantificación de metanefrinas, catecolaminas libres y fraccionadas, ácido vanilmandélico, algunos biomarcadores, que junto a estudios de imagen, son de ayuda para confirmar la ubicación del tumor, en conclusión el diagnóstico de esta patología se basa en la demostración del aumento de los analitos.

Palabras claves: Feocromocitoma, glándulas suprarrenales, neuroendocrino, catecolaminas, metanefrinas.

ABSTRACT

Pheochromocytoma is a rare, potentially serious neuroendocrine tumor that develops in chromaffin cells in the medulla of the adrenal glands, which produce catecholamines, such as adrenaline and noradrenaline. Globally, the annual incidence is estimated to be 2-8 cases per million people. The objective of this research is to collect information through a literature review about the different hormonal tests and the clinical characterization for the diagnosis of Pheochromocytoma. This study is descriptive, documentary, non-experimental, retrospective, where 80 scientific articles were reviewed as a population, and 35 were selected as a sample, according to the selection criteria. The information was extracted from high-impact scientific databases such as PubMed, Elsevier, Scielo, Medigraphyc, Redalyc, Dialnet and repositories, in addition to an analysis and comparison of clinical cases, scientific journals, and books, among others, through discussion with various related studies by different authors, among the main results of the research we have that: The clinical manifestations are related to the variable secretion of catecholamines which causes a classic triad composed of headache, tachycardia, diaphoresis and other symptoms such as abdominal pain, fever, nausea, in addition, the first-line tests that help in the assessment were the quantification of metanephrines, free and fractionated catecholamines, vanilylmandelic acid, some biomarkers, which together with imaging studies, They are helpful in confirming the location of the tumor, in conclusion the diagnosis of this pathology is based on the demonstration of the increase in analytes.

Key words: Pheochromocytoma, adrenal glands, neuroendocrine, catecholamines, metanephrines.

Revisado por: Andrea Paola Goyes Robalino

Fecha: 12 -11-2024

Firma:



firmado electrónicamente por:
ANDREA PAOLA
GOYES ROBALINO

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La palabra Feocromocitoma se origina del griego Phio “oscuro”, Chromo “color” y Cytoma “tumor”. Este tipo de tumor conocido como neuroendocrino es raro y se desarrolla a partir de la cresta neural embrionaria, se origina debido a la producción excesiva de catecolaminas a nivel de las glándulas suprarrenales o fuera de las mismas. El hallazgo a veces se da de manera accidental debido a que detecta mediante exámenes de extensión en pacientes que padecen crisis hipertensas de difícil manejo, sin embargo, esto no significa que los pacientes que padezcan este trastorno posean el tumor y es crucial considerarlo como una posible causa¹.

En esta patología, las manifestaciones clínicas están directamente ligadas a una secreción variable de catecolaminas, donde se presenta una sintomatología clásica que incluye hipertensión paroxística junto con episodios de cefalea intensa, diaforesis y enrojecimiento. Algunos tumores no producen alguna de estas hormonas, sino sus productos de degradación, donde tenemos la normetanefrina y las metanefrinas, las cuales pueden ser detectadas en orina y en la sangre, debido a que las catecolaminas se metabolizan dentro del propio tumor¹.

El Feocromocitoma generalmente se confirma mediante la determinación de catecolaminas y metanefrinas, pruebas que pueden ser realizadas tanto en suero/plasma sanguíneo y orina, según recomiende la técnica a utilizar. Dado que gran parte del metabolismo de las catecolaminas ocurre dentro del tumor, con la formación de metanefrinas y normetanefrina, se realizan mediciones fraccionadas de estas sustancias. Además, también se realiza la medición del ácido homovanílico en orina, ácidos grasos libres, ácido vanilmandélico y cromogranina A en plasma².

Existen algunos biomarcadores que no son específicos para la detección de esta patología, ya que pueden detectar tumores que se presentan en las glándulas suprarrenales, pero son de ayuda diagnóstica en conjunto con los exámenes anteriormente mencionados, dentro de estos

marcadores tenemos la cuantificación de gastrina, Enolasa Neuroespecífica, Metoxitiramina y la prueba de la Clonidina².

Cabe destacar que el uso de la resonancia magnética y las tomografías axiales computarizadas es de presunta ayuda diagnóstica, ya que se presenta de forma clara la distribución de los órganos del cuerpo y se puede observar de manera fácil si las glándulas suprarrenales presentan alguna deformación en su estructura, ya que hay casos donde los exámenes de laboratorio se encuentran normales en algunos pacientes².

Es importante tomar en cuenta que puede llegar a ver interferencias en los estudios de los analitos debido a ciertos fármacos y suplementos contienen biotina en su composición, también si los pacientes están agitados o con algún episodio de estrés, provoca un falso aumento en las pruebas realizadas en la valoración de catecolaminas. Por lo tanto, se recomienda que 20 minutos antes de la obtención de la muestra los pacientes descansen, evitando también la actividad física excesiva el día anterior².

La cuantificación de las pruebas hormonales se sustenta en el método de ELISA, la cual sigue un procedimiento para cuantificar sustancias, como enzimas, proteínas y hormonas en muestras biológicas. Se basa en la reacción específica entre un antígeno y un anticuerpo, con la ayuda de una enzima que genera una señal detectable, generalmente un cambio de color, como resultado de una reacción química. Este método es altamente sensible y específico, se utiliza ampliamente para detectar analitos que aporten de manera específica en la evaluación médica^{1,2}.

El Feocromocitoma es un tumor raro, ubicado en la médula suprarrenal, debido al exceso en la producción de catecolaminas producidas a nivel adrenal o extra adrenal, estas también pueden ser provocadas por alguna mutación genética, debido a que nuevas investigaciones sugieren que hasta en un 25% de los casos se pueden detectar alteraciones en la línea germinal. Un ejemplo de esto es el trastorno de von Hippel Lindau (VHL), una enfermedad que se asocia con una variedad de neoplasias malignas o benignas, especialmente el carcinoma de células renales y Feocromocitomas².

Esta es una patología poco frecuente ya que, mundialmente, se valora que la incidencia anual es de 2 a 8 casos por cada millón de ciudadanos, asimismo, con una prevalencia de 1 a 2 enfermos por cien mil personas. Esta condición no muestra particularidades entre el género femenino y masculino, y está presente principalmente entre los 40 y 50 años. Sin embargo, se estima que alrededor del 10% de los acontecimientos se presentan en la comunidad pediátrica en donde se observa una tendencia por el sexo masculino^{2,3}.

De acuerdo con la clasificación de la Organización Mundial de la Salud de 2017, los paragangliomas y Feocromocitomas son tumores neuroendocrinos derivados de las células cromafines que por su localización anatómica se diferencian entre ellos⁴.

En los últimos años, desde el 2020 hasta la actualidad, en el Ecuador se han detectado 2 casos de Feocromocitoma, ambos reportados en revistas por médicos ecuatorianos. Sin embargo, según la investigación, no se han encontrado datos sobre el hallazgo de algún caso de Feocromocitoma en la provincia de Chimborazo.

Aunque estos tumores son poco comunes, en las últimas 2 décadas se encuentra un aumento en los casos hallados forma “accidental” tomando el nombre de incidentalomas, probablemente se relacione con el uso de las tomografías así como los estudios de laboratorio, sin embargo, la información obtenida de varios autores da a conocer que hasta un 30-45% de los casos de esta patología son diagnosticados de manera imprevista en una etapa presintomática por tomografía computadorizada abdominal debido a que se realizó en búsqueda de otra enfermedad⁵.

Los pacientes usualmente se presentan con una conocida triada clásica definida por el dolor de cabeza, diaforesis y palpitations acompañadas del aumento en la presión arterial, empiezan con una impresión de rubor en el tórax junto con disnea, un inmediato comienzo de palpitations y cefalalgia intensa, los cuales no disminuyen después del uso de algún tratamiento, estas manifestaciones se encuentran estrechamente relacionadas con la secreción variable de catecolaminas^{2,3,5}.

Según la Ley Ibídem, en el artículo 6, establece entre las responsabilidades del Ministerio de Salud Pública del Ecuador⁶: "(. .) 5. Regular y vigilar la aplicación de las normas técnicas

para la detección, prevención, atención integral y rehabilitación de enfermedades transmisibles, no transmisibles, crónico-degenerativas, discapacidades y problemas de salud pública declarados prioritarios. (. . .) "

En la actualidad existe poca información de libre acceso que proporcione un contenido concreto sobre el tema planteado, debido a la baja incidencia de casos presentes a nivel mundial de esta patología y a la falta de estudios realizados en nuestro país, es por ello, que se expone la siguiente pregunta: ¿Cuáles son las características clínicas y pruebas hormonales para el diagnóstico de Feocromocitoma?

El análisis en conjunto de las diferentes pruebas hormonales y la caracterización clínica es una herramienta importante para la detección oportuna de Feocromocitoma en pacientes que presenten antecedentes familiares, signos y síntomas constantes debido a una liberación excesiva de catecolaminas en sangre u otras afecciones relacionadas de esta patología.

Debido a esto, los resultados de esta investigación contribuyeron en gran parte al diagnóstico en pacientes presuntivos a padecer Feocromocitoma, el cual comprende un amplio estudio que integra las pruebas hormonales, los estudios de imagen, y la sospecha clínica, que permiten confirmar la presencia de dicho tumor. Debido a que las manifestaciones clínicas son tan variadas, las pruebas hormonales se han tornado esenciales en el diagnóstico del Feocromocitoma.

Este proyecto está fundamentado en la recopilación de información en distintas bases bibliográficas de alto impacto en el ámbito de salud, donde se indagó todo lo relacionado sobre la caracterización clínica y pruebas hormonales para el diagnóstico de Feocromocitoma, los cuales fueron tomados de artículos científicos, libros, artículos de revisión, entre otros. Por lo que se toma tres puntos importantes dentro de la investigación:

- Destacar los métodos aplicados en la determinación de las pruebas hormonales realizadas mediante revisiones bibliográficas para la ayuda diagnóstica de Feocromocitoma.

- Relacionar los niveles hormonales específicos por medio de revisiones de artículos científicos para la valoración de complicaciones clínicas en pacientes con Feocromocitoma.
- Distinguir biomarcadores adicionales en la sangre u orina a través de análisis de literatura científica, para ayuda al diagnóstico de Feocromocitoma.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

Glándulas Suprarrenales

Es un par de órganos retroperitoneales ubicados en la región media y anterosuperior de los riñones, estas glándulas están compuestas por la corteza y médula adrenal, poseen distinta forma donde la izquierda es semilunar y la derecha triangular, tiene un peso de alrededor de 5g^{7,8}.

Los riñones cumplen funciones esenciales actuando como un filtro, eliminando distintas toxinas y productos metabólicos que se encuentran en la sangre, además ayuda al equilibrio electrolítico, da un equilibrio ácido-básico y tiene un control integrado del líquido extracelular. También es capaz de producir calcitriol o eritropoyetina (hormonas)^{9,10}.

Corteza suprarrenal

Se compone por 3 zonas definidas el cual comprende el 90% de la glándula:

1. Glomerular: Productor de aldosterona, es la capa externa donde su regulación se da por el sistema renina/angiotensina.
2. Fascicular: Está regulada por el eje hipotálamo-hipófisis, por la hormona adrenocorticotropa (ACTH) y la hormona liberadora de corticotropina (CRH). Se encarga de producir androstenediona, en menor proporción testosterona, progesterona y estrógenos los cuales son conocidos como hormonas sexuales, también se produce cortisol, cortisona y corticosterona que están dentro de los glucocorticoides.
3. Reticular: La producción es parecida a la anterior, esta capa corresponde a las más interna de la glándula.

Médula suprarrenal

Es la encargada de la producción de catecolaminas donde estarán presentes en un 70% para epinefrina y en un 30% para norepinefrina, los cuales están encargados en el aumento de la glucogenólisis y la frecuencia cardiaca, la vasoconstricción, la dilatación pupilar⁸.

Lesión Tumoral

Una lesión tumoral es conocida por ser un desarrollo espontáneo de una protuberancia o masa, donde existen ciertas que no llegan a ser cancerígenas. Las masas que contienen células cancerosas son conocidas como malignos, en cambio las que tienen ausencia de estas se las conoce como benignas. Esta denominación se da dependiendo la citología reconocida¹¹.

Una característica que diferencia a los dos tipos de cáncer es su capacidad propagarse hacia distintas partes del cuerpo, este proceso se le conoce como metástasis la cual corresponde a los tumores malignos, donde estas células cancerosas se desprenden del sitio originario del tumor las cuales pueden llegar a ganglios a otros órganos dificultando su funcionamiento¹¹.

Feocromocitoma

Se le conoce como un tumor neuroendocrino, derivado de la cresta neural compuesta principalmente por células cromafines. Esta patología se caracteriza por ser productor de catecolaminas. Entre el 1 y 25% se originan fuera de la médula o corteza suprarrenal, estos se denominan paraganglioma y son histológicamente idénticos al Feocromocitoma^{2,3}.

Las catecolaminas son aminos orgánicas sintetizadas por el organismo en la médula suprarrenal donde hay un cúmulo de células secretoras de estas hormonas. Cuando son sintetizadas estas se almacenan en unas vesículas que se encuentran en la médula suprarrenal y sus terminaciones nerviosas simpáticas postganglionares hasta que se requiera su liberación por exocitosis¹².

Las catecolaminas más importantes son la tiroxina, dopamina, norepinefrina y la epinefrina, la denominación de este compuesto implica la presencia de un núcleo catecol (ortodihidroxibenceno)¹³.

Son liberadas al torrente sanguíneo, lo que provoca la transmisión de impulsos nerviosos hacia el cerebro, produce un aumento en la liberación de ácidos grasos y glucosa proporcionando energía. La adrenalina ayuda al aumento de la frecuencia cardíaca y el metabolismo, en cambio la noradrenalina aumenta la presión sanguínea mediante la constricción de vasos sanguíneos¹².

Características Biológicas

Visto de manera microscópica se encuentra una formación de células pleomórficas de tamaño prominente, las cuales están en manera de nido, donde se aprecia mitosis y atipias nucleares. Para demostrar el contenido de catecolaminas y diversos péptidos se emplea la inmunohistoquímica o la microscopía electrónica donde se identifican gránulos de secreción, sin embargo, los criterios histológicos no son fiables².

Los pacientes que poseen Feocromocitoma de manera hereditaria están correspondidos de un 10-40 % de los casos, se caracteriza de ser más jóvenes a la edad promedio, donde presentan con pequeñas lesiones homogéneas y en mayo frecuencia bilaterales, se destacan síndromes como la neoplasia endocrina múltiple 2 (MEN 2), Von Hippel-Lindau, neurofibromatosis y paragangliomas hereditarios^{2,14}.

Poseen una cápsula que lo recubre parcialmente y en otras total, formada por una rica red vascular, presentando un diámetro aproximado de >3 cm. En los últimos años, el hallazgo de pequeñas lesiones demostró un incremento como resultado de un cribado sistemático en paciente que poseen mutaciones de síndromes familiares^{2,14}. (Anexo 1)

Fisiopatología

Las manifestaciones clínicas y patológicas están ligadas a la liberación de catecolaminas (dopamina, adrenalina y noradrenalina). Los efectos α -adrenérgicos se dan intenso vasoespasmos e hipertensión, en el caso de los efectos β -adrenérgicos provocan sudoración, taquicardia y vasodilatación.

La liberación de las catecolaminas adrenalina, noradrenalina y dopamina a la circulación provoca la mayoría de las manifestaciones clínicas y patológicas del Feocromocitoma. Los efectos α -adrenérgicos producen intenso vasoespasmo e hipertensión, mientras que los efectos β -adrenérgicos producen vasodilatación, sudoración y taquicardia¹³.

La hipotensión ortostática y los episodios sincopales pueden ser consecuencia de la vasoconstricción intensa mediada por receptores α -adrenérgicos, que reduce el retorno venoso y el volumen intravascular. Paralelamente, la vasodilatación en el músculo esquelético inducida por receptores β -adrenérgicos puede contribuir a la inestabilidad hemodinámica, especialmente en posición ortostática¹³.

Dentro de los desencadenantes que la aumenta son: estrés psicológico intenso (ansiedad, dolor severo o esfuerzo), estrés mecánico (coito, defecación o palpación del tumor), inducción anestésica o la intubación, embarazo (movimientos fetales, contracciones uterinas, parto normal o cesárea), además de ciertos fármacos (glucocorticoides, antagonistas del receptor de dopamina, bloqueadores de los receptores beta-adrenérgicos, opioides, simpaticomiméticos, inhibidores de la recaptación de noradrenalina o serotonina)¹⁵.

Los feocromocitomas aparte de liberar catecolaminas, contienen y secretan diversos péptidos como la calcitonina, gastrina, somatostatina, serotonina, entre otros, Estas sustancias, además de afectar los vasos sanguíneos, pueden modificar o complementar los efectos de las catecolaminas, lo que explica algunas de las manifestaciones clínicas de esta patología¹⁶.
(Anexo 2)

Manifestaciones clínicas

La triada clásica de cefalea intensa, palpitations y sudoración está presente en el 20 - 40 % de los pacientes con Feocromocitoma. Otros síntomas comunes incluyen enrojecimiento, temblor, palidez, ansiedad y baja presión al ponerse de pie. Estos síntomas suelen empeorar con cambios de postura, estrés o ciertos medicamentos³.

La crisis se manifiesta con un inicio abrupto de disnea con palpitations, acompañadas de cefalea intensa. Se produce vasoconstricción cutánea y mucosa, es responsable de la palidez junto a la sensación de frialdad en pies y manos, es un hallazgo característico. La duración y frecuencia de estos episodios son variables donde se pueden presentar varias veces al día o pocas veces a la semana, donde su duración varía de 20 minutos hasta varias horas².

Existen varios criterios que nos da una pauta en la detección de Feocromocitoma, donde se destaca:

- Palpitations no relacionadas con cefalea, temblores, actividad física o palidez.
- Hipertensión arterial refractaria.
- Pacientes que tengan antecedentes hereditarios de familiares con tumores productores de catecolaminas.
- Antecedentes de resección de una paragangliomas o Feocromocitoma².

La presentación clínica de tumores es heterogénea y depende de múltiples factores, incluyendo la tasa de secreción de catecolaminas, los patrones de liberación hormonal y la sensibilidad individual a estos neurotransmisores. A pesar de que la triada clásica es descrita, muchos pacientes presentan síntomas atípicos o incluso son asintomáticos, lo que dificulta el diagnóstico precoz y puede llevar a complicaciones significativas¹⁷.

Factores genéticos que influyen en el desarrollo del Feocromocitoma

Los Feocromocitomas pueden estar descritos en cuatro grandes grupos dependiendo la expresión genética y las manifestaciones clínicas:

Enfermedad de von Hippel Lindau (VHL)

Se conoce como un síndrome tumoral familiar autosómico dominante provocado por una mutación en el gen VHL. Tiene una prevalencia aproximada de 1 de cada 36000 recién nacidos. La presentación clínica del Feocromocitoma en esta enfermedad es de aparición temprana, en varias ocasiones aparece durante la primera década y algunas veces resulta ser poco sintomáticos¹⁷.

Neoplasia Endocrina Múltiple tipo 2 (MEN 2)

Es conocido por ser un síndrome hereditario donde se da en 1 de cada 40000 personas. Existe un 30-50% de desarrollar Feocromocitoma en pacientes que posean este tipo de alteración¹⁷.

Síndrome de Feocromocitoma o Paraganglioma (Feo/Pgl) Familiar

La succinato deshidrogenasa (SDH), es una enzima clave en el metabolismo energético mitocondrial siendo un sensor de oxígeno intra-celular y en la fosforilación oxidativa. Existen cuatro subunidades que dan nombre a los genes, entre estas tenemos la SDHD, SDHA, SDHC y SDHB. Si se dan mutaciones en cada uno de los supresores tumorales dan fenotipos diferentes, provocando la aparición de Feocromocitoma o Paraganglioma de diferentes tipos¹⁷.

Neurofibromatosis tipo 1 (NF1)

El gen responsable NF1 produce neurofibromina la cual es una proteína encargada de la supresión de tumores, expresada en células de Schwann, neuronas, leucocitos y médula suprarrenal. Si se da una mutación en este gen se producirá la pérdida completa de la expresión de la neurofibromina, provocando el desarrollo del tumor. Se presenta en 1 de cada 3000 recién nacidos^{17,18}.

Existen 3 fenotipos según la catecolamina que se encuentre elevada:

1. Adrenérgico: Está asociado a síntomas y signos paroxísticos con mayor frecuencia. En los casos que el paciente esté fuera de la crisis puede estar normotenso e hipotenso⁴.
2. Noradrenérgico: Sus síntomas son más leves donde predomina la hipertensión arterial.
3. Dopaminérgico: La secreción hormonal de estos tumores es variable y puede producir además de dopamina noradrenalina. En su mayoría presenta tumores inmaduros y malignos⁴.

Métodos de Diagnóstico

Hay que tener en cuenta la aparición de incidentalomas suprarrenales, los cuales son masas que no presentan síntomas, son hallados de manera casual en pruebas de imagen durante el seguimiento o tratamiento de una distinta condición clínica. Es necesaria una historia clínica completa al momento de su detección, enfatizando las manifestaciones clínicas, junto con la exploración física, valoración de laboratorio tanto bioquímica como hormonal y en ciertos casos, estudios radiológicos adicionales¹⁹.

Para el diagnóstico se requiere estudios que reflejan un aumento de catecolaminas o sus metabolitos y ubicación anatómica del tumor. En su mayoría los Feocromocitomas de menor tamaño, van a ser asintomáticos, por lo que no sirve aisladamente como cribado, aunque puede dar una orientación diagnóstica²⁰.

Hay mayor sensibilidad de los análisis de sangre si las muestras se obtienen en decúbito supino, luego que el paciente descansó en una habitación tranquila durante 20-30 minutos antes de la obtención de la muestra, después de 8 horas de ayuno y evitar la cafeína, tabaco, alcohol y la actividad física extenuante en las 24 horas previas²¹.

El diagnóstico se basa en la utilización de pruebas que determinen metanefrinas fraccionadas en plasma, donde presenta para las adrenales una sensibilidad de 98%, y para los extraadrenales un 90%. La medición de catecolaminas fraccionadas como la dopamina,

epinefrina, norepinefrina tiene menor sensibilidad, sin embargo, si se presenta valores mayores a > 2 veces el límite superior del rango normal tiene relevancia diagnóstica^{22,23}.

Para la localización anatómica se utilizará la resonancia magnética y tomografía axial computarizada, donde se demuestra que el Feocromocitoma es diagnosticado a partir de un hallazgo radiológico incidental. Cuando los resultados de laboratorio se encuentren alterados y exista una sospecha, se debe realizar un estudio de imagen²⁴.

Entre los estudios de imágenes recomendadas están las tomografías computarizadas y las resonancias magnéticas pues tienen una sensibilidad del 95%. Como estudio de primera línea se prefiere la tomografía computarizada con contraste debido a que se observa una mejor resolución espacial de las imágenes del tórax, abdomen y pelvis²¹.

La clínica presentada por el paciente, los resultados del laboratorio y los estudios de imagen nos permite el diagnóstico de Feocromocitoma, donde estos 3 puntos en conjunto evitarán la mala valoración de este tumor, ya que existen errores como la mala recolección de la muestra, un tamaño menor a 1cm o que no produzcan adrenalina y noradrenalina, que pueden dar un falso negativo²⁵.

Análisis de Laboratorio

Existen diversas pruebas que son de ayuda diagnóstica al momento de detectar la presencia de Feocromocitoma, las cuales pueden ser aplicadas en orina y sangre, la mayoría detecta hormonas o productos metabólicos producidos en exceso elevando las pruebas, hay algunas que no son específicas para Feocromocitoma, pero puede servir de pruebas complementarias para la misma (Anexo 3).

1. Metanefrinas:

Los productos metabólicos de la epinefrina y norepinefrina son la metanefrina y la normetanefrina correspondientemente. Se ha demostrado que las catecolaminas totales presentan una menor sensibilización diagnóstica que las fraccionadas, es por eso que se recomienda la utilización de estas²⁶. (Anexo 4)

Figura 1. Valores de Referencia de Metanefrinas.

Valores de Referencia para metanefrinas		
Edad	Sangre pg/ml	Orina ug/24h
Metanefrina		
0-3 meses	0-700	
4-6 meses	0-650	
7-11 meses	0-650	
1 año	0-530	
2-5 años	0-500	52 – 341
6-17 años	0-320	
≥ 18 años	0-300	
Normetanefrina		
0-3 meses	0-3400	
4-6 meses	0-2200	
7-11 meses	0-1100	
1 año	0-1300	
2-5 años	0-610	88 – 444
6-17 años	0-450	
≥18 años	0-400	

Limitaciones Los productos metabólicos de la epinefrina y norepinefrina son la metanefrina y la normetanefrina correspondientemente. Se ha demostrado que las catecolaminas totales presentan una menor sensibilización diagnóstica que las fraccionadas, es por eso por lo que se recomienda la utilización de estas²⁶.

2. Catecolaminas libres suero:

Se encuentran en la medula suprarrenal, cerebro y neuronas, donde se destaca la epinefrina, norepinefrina y dopamina, estas son derivadas de la tirosina, cumplen un papel fundamental en la trasmisión de impulsos nerviosos al SNC²⁶. (Anexo 5)

Figura 2. Valores de Referencia para catecolaminas.

Valores de Referencia para catecolaminas libres		
Edad	Sangre pg/ml	Orina µg / 24horas
Epinefrina		
2-10 días	36-400	
11 días a 3 meses	55-200	
4 – 11 meses	55-440	0,5 a 20
12 – 23 meses	36-640	
24 – 35 meses	18-440	
3 -17 años	18-460	
>18 años	10-200	
Norepinefrina		
2-10 días	170-1180	
11 días a 3 meses	370-2080	
4 – 11 meses	270-1120	15 a 80
12 – 23 meses	68-1810	
24 – 35 meses	170-1470	
3 -17 años	85-1250	
>18 años	80-520	
Dopamina		
>2 días	0-20	65 a 400

Limitaciones: Los productos metabólicos de la epinefrina y norepinefrina son la metanefrina y la normetanefrina correspondientemente. Se ha demostrado que las catecolaminas totales presentan una menor sensibilización diagnóstica que las fraccionadas, es por eso por lo que se recomienda la utilización de estas²⁶.

3. Cromogranina-A:

Es miembro de la familia de la cromogranina o secretogranina (graninas) de proteínas secretoras neuroendocrinas. Es un precursor de múltiples péptidos funcionales, entre ellos la vasostatina, la catestatina y la parastatina. Estos péptidos modulan negativamente la función neuroendocrina de la célula secretora (autocrina) o de las células adyacentes (paracrina)²⁶.

Valores de Referencia: 0-50 ng/ml

Limitaciones: no puede distinguir entre una hiperplasia neuroendocrina y un tumor²⁶.

4. Ácidos grasos libres:

Los ácidos grasos libres se forman por la rotura de lipoproteínas y triglicéridos. Salvo un 2-5%, todos los demás ácidos grasos del suero están esterificados. Los ácidos “no esterificados” o “libres” están unidos a proteínas. La epinefrina, la norepinefrina, el glucagón, la TSH y la ACTH liberan ácidos grasos libres. Los tumores productores de dichas hormonas causan una liberación excesiva de ácidos libres²⁶.

Valores de Referencia:

- Adultos: 8 - 25 mg/dl.
- Niños (o adultos obesos): <31 mg/dl

Limitaciones: Estos llegan a estar elevados en un 12 - 25 % después de estar refrigerado 24h. La ansiedad, un exceso de ejercicio, hipotermia y el ayuno prolongado aumentan su concentración hasta 3 veces. La administración de nutrientes de manera parenteral disminuye su concentración²⁶.

5. Ácido vanilmandélico:

Es utilizado en el cribado de Feocromocitoma debido a que es uno de los principales metabolitos de las catecolaminas²⁶.

Valores de Referencia: 0-7 mg/día.

Limitaciones: El paciente debe evitar consumir antiinflamatorios, cafeína, chocolate, fruta y fármacos antihipertensivos, durante las 72 horas previas a la recolección de la muestra²⁶.

6. Ácido homovainílico en Orina:

Es el principal metabolito terminal de la dopamina, donde para el diagnóstico se debe realizar de manera determinación simultánea la valoración de ácido homovainílico y de ácido

vanilmandélico, debido a que el aumento de una de las dos demuestra la presencia de Feocromocitoma²⁶.

Valores de Referencia: 0-15 mg/día

Limitaciones: La hipertensión esencial, la ansiedad intensa, el ejercicio físico intenso y numerosos fármacos, pueden producir una falsa elevación²⁶.

Otras determinaciones de ayuda diagnóstica

Gastrina:

Es segregada por el antro del estómago y los islotes pancreáticos de Langerhans. La alcalinidad estimula su secreción, al igual que la distensión del estómago por el antro debido a la presencia de diferentes péptidos, alcohol, aminoácidos y calcio. Una retroalimentación negativa ayuda en la inhibición de la secreción de estas, debido a la acidez del estómago²⁶.

Esta prueba se debe realizar mediante una infusión de calcio lo cual estimulará la gastrina. Se realizará en pacientes que reporten hipersecreción ácida gástrica, un resultado negativo en la prueba de la secretina y cuándo los pacientes tengan niveles normales de catecolaminas, ya que esto provocará su aumento debido a la exocitosis que provoca el calcio²⁶.

Valores de Referencia: 0-100 pg/ml

Limitaciones: La concentración de la gastrina está ligada al ciclo circadiano lo que hace que en la mañana sea mínima y al transcurrir del día va aumentando²⁶.

Enolasa neuroespecífica (NSE):

Es una enzima que se sintetiza en las neuronas y en las células neuroendocrinas, es útil para la monitorización de neuroblastomas, aunque no es específica. Se encuentra elevada en el 65% de los neuroblastomas, aparecen con más frecuencia en las glándulas suprarrenales y sus alrededores²⁷. (Anexo 6)

Valores de Referencia: > 14 ng/ml

Limitaciones: Los neuroblastomas aparecen en otros sitios del abdomen, tórax, cuello y cerca de la columna vertebral, debido a la presencia de células nerviosas en grupos²⁷.

Metoxitiramina:

Es un metabolito de la dopamina que ha demostrado ser de ayuda en casos de Feocromocitoma ya que se han documentado pacientes con esta patología que presentan concentraciones de metanefrina y normetanefrina urinarias dentro de los valores de referencia y valores de metoxitiramina urinaria elevadas^{28,29}.

Valores de Referencia: 94 – 400 ug/24horas

Limitaciones: Se utiliza en tumores raros que secretan solo dopamina, donde uno de sus metabolitos es la 3-metoxitiramina. Al ser muy sensible, puede detectar una elevación que no esté relacionada a la patología, como las situaciones de estrés o el ingerir ciertos alimentos²⁹.

Clonidina:

En algunos casos, la medición simultánea de catecolaminas plasmáticas y metanefrinas en orina puede ayudar a establecer el diagnóstico; si fallan las pruebas anteriores, se realiza la prueba de supresión con clonidina, con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 96%³⁰. Se basa en la medición de metanefrinas basales después de 3h de ingerir 300µg de clonidina, para un resultado positivo se deberá presentar una elevación de 3 veces el valor inicial¹³.

Método de ELISA

Fundamento

ELISA (ensayo de inmunoadsorción enzimática) es una variante del radioinmunoensayo (RIA), el cual fue desarrollado por Engvall y Perlmann en el año de 1971. Está fundamentado

en el principio de la inmunología, debido a que un antígeno se une a un anticuerpo en específico, ayudando a la detección de bajas cantidades en una muestra que contenga inmunocomplejos compuestos por moléculas como hormonas, proteínas, péptidos entre otros ³¹ (Anexo 4).

Esta interacción genera una señal debido a la interacción enzimática que por lo general está unida a un anticuerpo secundario, activada durante el reconocimiento del inmunocomplejo por medio de un componente de la reacción que está fijado en una superficie sólida³¹.

Una vez inmovilizado los inmunocompetentes, se deberá bloquear con una solución de proteína no reactiva un ejemplo es la albúmina de suero bovino, ya que se busca cubrir cualquiera de las áreas que no fueron ocupadas para el inmunorreactivo, mejorando la especificidad del ensayo y su capacidad de reconocimiento del analito³¹.

Las enzimas empleadas en los inmunoensayos deben estar bajo ciertos criterios:

- Tener una alta especificidad.
- Disponibilidad de un sustrato estable que genere un producto fácilmente detectable.
- Menor costo.
- Compatibilidad con una amplia gama de medios de reacción y condiciones de ensayo.
- Capacidad para ser conjugadas con anticuerpos
- Baja afinidad por la fase sólida³¹.

Se produce una reacción colorimétrica debido a que las enzimas actúan como catalizador, el cual se produce cuando se añade el sustrato específico en la solución de revelado estándar. La enzima más utilizada es el peroxidasa de rábano picante (HRP) el cual es una glicoproteína compuesta de 308 aminoácidos de 44 kDa, donde está disponibles 4 grupos aminos que se conjugan con el reactivo revelador el cual es secundario que no afectará a la actividad del anticuerpo ni su capacidad de reconocimiento. La fase sólida está compuesta por una placa de poliestireno que permite la inmovilización de los inmunocompetentes de manera efectiva y fácil, contiene 96 pocillos en total³¹.

Procedimiento

ELISA competitivo-directa

Se da la unión del antígeno en la fase sólida mediante absorción pasiva. Realizar un lavado para posteriormente ser marcado con la enzima donde se añadirá el anticuerpo. Dejar incubar para después de un tiempo volver a lavar, al añadir el sustrato se desarrollará la aparición del color³².

1. Se diluirá con una solución tampón el cual tiene un pH alto ya que permite que no contenga otras proteínas que compitan en la unión del antígeno en la fase sólida.
2. Añadir el antígeno a la fase sólida el cual se absorbe pasivamente en la incubación.
3. Después de este proceso cualquier antígeno que no se encuentre unido será eliminado mediante el lavado dejando cubierta la fase sólida.
4. Los anticuerpos específicos del antígeno están marcados con enzima dando así un conjugado el cual se lleva a la incubación.
5. La formación del sustrato/cromóforo se añade donde la enzima cataliza la reacción que dará un color final³².

ELISA competitivo-indirecta

Comparado al anterior, tiene la ventaja de que permite analizar múltiples sueros contra un mismo antígeno, pero puede presentar problemas de unión inespecífica en sueros individuales³².

1. Mediante la incubación se absorbe el antígeno de forma pasiva a la fase sólida.
2. Se añade anticuerpos y se incubaron con el antígeno específico. Mediante el lavado se elimina el exceso de anticuerpos o componentes que no son vinculantes.
3. Los anticuerpos marcados con la enzima (conjugado) conducidos, contra la especie en la que los anticuerpos originales fueron producidos (anti-especie).
4. Estos se unirán a los anticuerpos que posteriormente se unen al antígeno. El exceso de conjugado se elimina por lavado después de un periodo de incubación.

5. Al añadir sustrato/cromóforo se producirá un color el cual lleva como resultado de la enzima presente.
6. La incubación final permite que el desarrollo del color se detenga, se deberá leer por espectrofotometría³².

Todos los pacientes que presenten Feocromocitoma tendrán una caracterización clínica química donde en los exámenes de metanefrinas en plasma o Catecolaminas libres en orina presentaran niveles de 2 a 4 veces el límite superior de referencia indicado para esta patología³³.

El diagnóstico multidisciplinario del feocromocitoma el cual se compone por la sospecha clínica, exámenes de imagen y las pruebas bioquímicas permiten confirmar el hallazgo del tumor. Al presentar una clínica tan variada, las determinaciones realizadas por el laboratorio se han tornado indispensables para su diagnóstico³⁴.

Los niveles plasmáticos y urinarios elevados de catecolaminas y sus metabolitos, las metanefrinas, son pruebas de primera línea para establecer un diagnóstico confirmatorio en pacientes con sospecha de Feocromocitoma, ya que la sensibilidad de estas pruebas es cercana al 100%. Sin embargo, son imprecisas debido a diversos factores como el uso de ciertos fármacos, el estrés, el tabaquismo, el consumo de café y chocolate, que pueden aumentar la liberación de catecolaminas y, por tanto, producir resultados falsos positivos³⁵.

La concentración de catecolaminas y metanefrinas será variada en cada Feocromocitoma, ya que dependerá de la actividad enzimática que está presente, los altos niveles de tiroxina hidroxilasa el cual es un paso limitante en la síntesis de catecolaminas, se correlaciona positivamente con los altos niveles de catecolaminas, el cual orientará la etiología de la patología. En el caso de los tumores extraadrenales y los relacionados con alteraciones genéticas como la enfermedad de von Hippel Lindau va a predominar la noradrenalina, en cambio los adrenales que se asocian a las Neoplasias Endocrinas Múltiples de tipo 2, predomina la adrenalina, la secreción de catecolamina puede ser continuo, episódico o presentarse de ambas maneras³⁶.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

El presente trabajo “Caracterización clínica y pruebas hormonales para el diagnóstico de Feocromocitoma”. Se encasilla en el siguiente marco metodológico.

Enfoque: cualitativo, ya que no se utilizaron datos estadísticos en el proyecto debido a que se sustenta en el análisis y recopilación de documentos con información relevante encontradas en bases de datos científicas de alto impacto, facilitando una comprensión profunda y detallada de los fenómenos tratados en la caracterización clínica y diagnóstico del Feocromocitoma.

Tipo de Investigación

Según el nivel

Nivel descriptivo, debido a que se buscó información de varias fuentes bibliográficas que permitió destacar la caracterización clínica del Feocromocitoma junto al análisis de las diferentes pruebas hormonales que fueron utilizadas para su diagnóstico, este tipo de investigación se efectuó para cumplir con los objetivos planteados.

Según el diseño

Diseño no experimental y documental, no se manipularon variables en este trabajo, sin embargo, se hizo una revisión bibliográfica en base de datos científicos, los cuales aportaron información relevante para el diagnóstico de Feocromocitoma mediante la caracterización clínica y las pruebas hormonales realizadas en esta patología.

Según la secuencia temporal

Tipo transversal, dado que su principal característica fue la recolección de datos en un periodo de tiempo determinado, obtenidos en documentos científicos desde el año 2014 al 2024.

Según la cronología de hechos

El trabajo se dio desde un punto retrospectivo, debido a que la investigación se inició siguiente a los hechos, los antecedentes de diversos estudios se encuentran registrados en diferentes bases de datos científicas verídicas y asociadas a la caracterización clínica y pruebas hormonales para el diagnóstico de Feocromocitoma.

Población

La población de estudio quedó constituida por 80 documentos bibliográficos relacionados con la temática de investigación y publicados en bases de datos científicos como: Medigraphic, Scielo, Central American Journals Online, Elsevier, ResearchGate, PubMed, Repositorio Universidad Central, Revista Chilena de urología, Revista Guatemala de Cirugía, Biblat, Dialnet, Lilacs, Libros, Portal Regional da BVS, ProQuest, Acces Medicina, Redalyc, Scopus; igualmente se emplearon operadores booleanos: AND, OR y NOT, mismos que favorecieron a una búsqueda de información más específica.

Muestra

Finalmente se obtuvieron 35 documentos científicos que cumplieron con los criterios de selección y que se hallan disponibles en las bases de datos recopiladas con relación al tema en estudio, donde se tomaron revistas, casos clínicos, artículos científicos, libros, entre otros, ubicados en las siguientes bases de datos científicas: Medigraphic (2), Scielo (10), Central American Journals Online (2), Elsevier (3), ResearchGate (1), PubMed (9), Repositorio Universidad Central (1), Revista Chilena de urología (1), Revista Guatemala de Cirugía (1), Biblat (1), Dialnet (1), Lilacs (1), Libro (1), Portal Regional da BVS (1).

Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión:

- Documentos relacionados al tema, publicados en bases de datos acreditadas.
- Documentos científicos publicados desde el 2014 hasta el 2024.
- Documentos que incluyan información sobre la caracterización clínica y pruebas hormonales para el diagnóstico de Feocromocitoma.

Criterios de exclusión:

- Documentos que no dieron respuesta a los objetivos planteados.
- Libros o artículos que no proporcionen información relevante para el desarrollo de la investigación.
- Artículos con fecha de más de 10 años de su publicación.

Métodos de estudio

Se empleó el método teórico debido a que se desarrolló un análisis y síntesis de los documentos científicos, así como artículos, manuales, libros, sitios web de diferentes organizaciones internacionales que coinciden con la técnica de investigación.

Técnicas y procedimientos

Técnica: observación

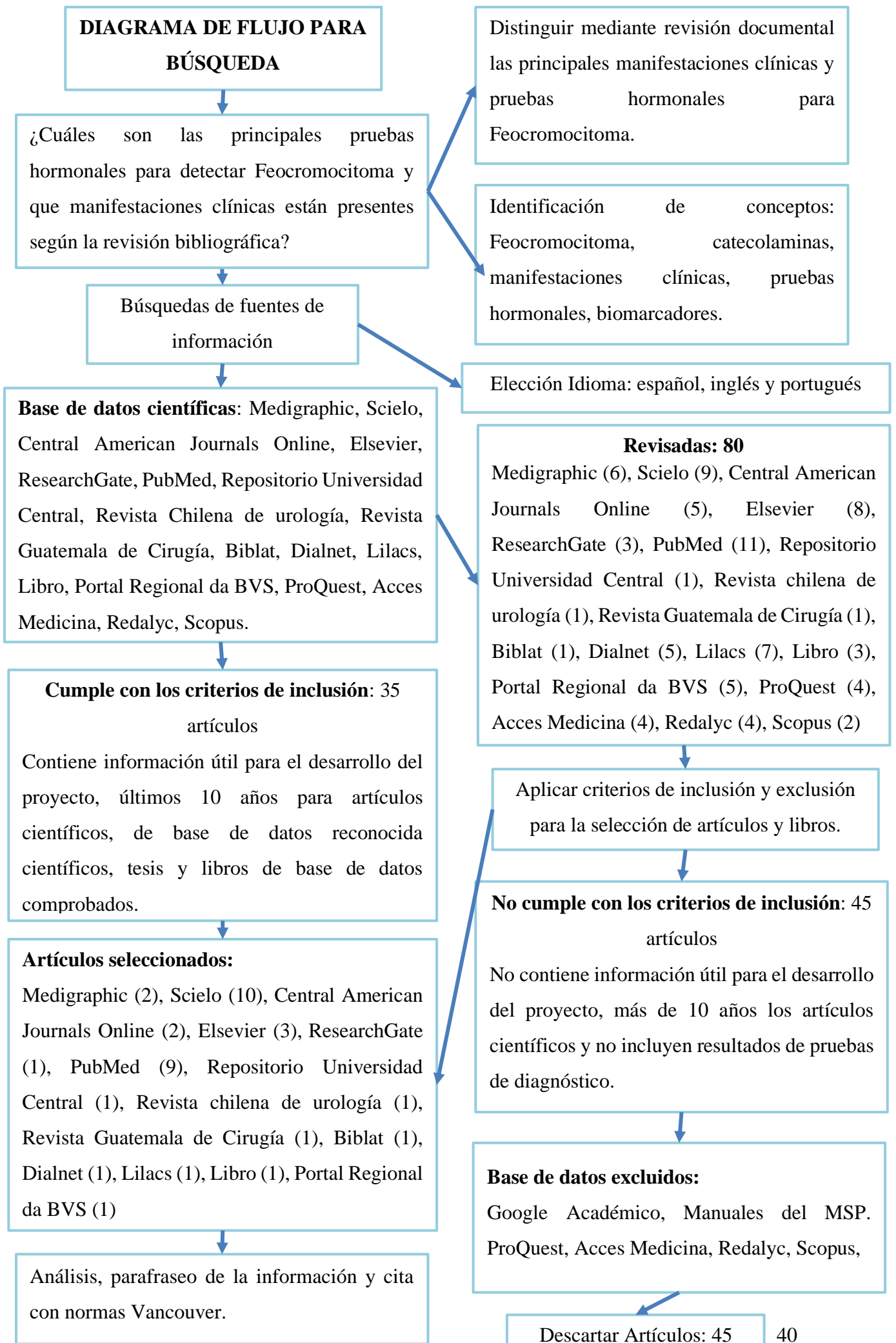
Procedimiento: se consideró todas las bases de datos bibliográficas acreditadas internacionalmente, para la recopilación y tratamiento de la información descriptivamente.

Procesamiento Estadístico

Se efectuó el procesamiento de datos, análisis de las ideas y de resultados obtenidos en las búsquedas bibliográficas con la triangulación de la información.

Consideraciones éticas

La presente investigación no requirió de comité de bioética debido a que es una revisión de tipo bibliográfica donde solo se trabajó con artículos y revistas científicas; no se manipularon muestras biológicas ni datos personales. Los resultados y datos científicos no fueron dispuestos con fines maleficentes.



CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El feocromocitoma es una patología que provoca una excesiva producción de catecolaminas que se relaciona estrechamente con las manifestaciones clínicas, no distingue entre el género femenino y masculino, donde estará presente en su mayoría entre los 40 y 50 años. El análisis de las pruebas hormonales junto con la caracterización clínica es de gran apoyo para la valoración de la enfermedad.

Debido a esto se resaltan los métodos aplicados en la determinación de las pruebas hormonales, donde se asociará los niveles hormonales específicos para la valoración de las complicaciones clínicas en los pacientes, también se identificarán biomarcadores adicionales en la sangre u orina a través de análisis de literatura científica lo cual ayudará al diagnóstico de Feocromocitoma.

Resultados

En la tabla 1, se analizan las diferentes pruebas realizadas para la detección de Feocromocitoma, junto a la descripción del método analítico aplicado.

Tabla 1. Descripción de los métodos aplicados en pruebas hormonales para Feocromocitoma.

Autor/es	Método Analítico	Posición Toma	Muestra	Sensibilidad	Especificidad	Determinación Realizada
Piriz M, et al ¹⁸	HPLC Inmunoanálisis ^e	Sedente	Sangre/Plasma	99 %	85-89 %	Metanefrinas libres
			Orina 24h	95 %	N/E	Metanefrinas
			Sangre/Plasma	83 %	96 %	Cromogranina A
Céspedes M, et al ²²	HPLC	Decúbito supino	Sangre /Plasma	98 %	N/E	Metanefrinas fraccionadas
Siacar S, et al ²³	HPLC	Decúbito supino	Sangre /Plasma	97 %	93 %	Metanefrinas fraccionadas
Berlanga E et al ²⁹	HPLC Inmunoanálisis ^e	Decúbito supino	Sangre/Plasma	N/E	N/E	Metanefrinas libres

Polonía A, et al ³³	HPLC e EIA	Decúbito supino	Sangre/Plasma	97 %	69 %	Metanefrinas fraccionadas
			Sangre /Plasma	77 %	93 %	Metanefrinas totales
			Orina 24h	86 %	88 %	Catecolaminas
			Sangre /Plasma	96-99 %	80-100 %	Metanefrinas libres
			Sangre /Plasma	84 %	81 %	Catecolaminas
			Orina	65 %	95 %	Ácido Vanilmandélico
Pamo O, et al ³⁷	EIA	N/E	Orina 24h	80 %	82 %	Metanefrinas
Benzoni P, et al ³⁸	HPLC	Decúbito supino	Sangre/Plasma	97 %	85 %	Metanefrinas
			Orina 24h	90 %	98 %	Metanefrinas
Cerrato G, et al ³⁹	N/E	Decúbito supino	Sangre/Plasma	97 %	96 %	Metanefrinas
			Orina 24h	97 %	63 %	Metanefrinas fraccionadas
			Orina 24h	77 %	93 %	Metanefrinas totales

Villagomez M ⁴⁰	HPLC	Decúbito supino	Sangre/Plasma	94 %	93 %	Metanefrinas
	EIA		Orina 24h	91 %	93 %	Metanefrinas
Boot C, et al ⁴¹	HPLC	Sedente	Sangre/Plasma	93 %	90 %	Metanefrinas
	HPLC	Decúbito supino	Sangre/Plasma		75 %	Metanefrinas
Därr R, et al ⁴²	EIA	Sedente Decúbito supino	Orina 24h	91 %	93 %	Metanefrinas fraccionadas
	HPLC		Sangre/Plasma	94 %	93 %	Metanefrinas libres
Tanaka Y, et al ⁴³	HPLC	Sedente Decúbito supino	Sangre/Plasma	95 %	97 %	Metanefrinas libres
	EIA		Orina 24h	89 %	94 %	Metanefrinas
Kiriakopoulos A, et al ⁴⁴	HPLC	Decúbito supino	Sangre/Plasma Orina 24h	97 %	91 %	Metanefrinas libres
Dorji T, et al ⁴⁵	HPLC	Sedente	Sangre/Plasma	89,5 – 100 %	79.4 – 97.6 %	Metanefrinas libres
	EIA	Sedente	Orina 24h	85.7 – 97.1 %	68.6 – 95.1%	Metanefrinas

N/E: No especifica

Análisis

La tabla 1, presenta los estudios sobre los métodos utilizados para determinar los diversos analitos de interés diagnóstico como HPLC y EIA, además, se especifica la posición en la que se obtuvo la muestra, se evidencia también la sensibilidad y especificidad de cada método aplicado junto con la determinación realizada y en qué tipo de muestra se efectúa el análisis.

Discusión

El análisis de las técnicas utilizadas en la determinación de catecolaminas, metanefrinas y los diferentes analitos que están presentes en la sangre, es de gran importancia debido a que presentará de manera clara cuál será la opción más eficaz al momento de detectar esta patología.

Para Piriz et al¹⁸. el dosificar metanefrinas en orina de 24 horas tiene una sensibilidad del 95% debido a que menciona que la dosificación de Catecolaminas libres en orina es igual de exacto, también hace referencia que las metanefrinas libres en plasma tendrá una sensibilidad del 99 % y una especificidad entre 85 y 89 %, además describe el uso de la cromogranina A como indicador de la recurrencia del tumor lo que señala que el tratamiento ha sido eficaz o la reaparición del mismo, teniendo para esta prueba una sensibilidad de 83 % y especificidad de 96 %.

Céspedes et al²². y Siacar et al²³. coinciden que la determinación de metanefrinas fraccionadas es un análisis que tiene una sensibilidad de 98 % y 97 % respectivamente sin embargo en la investigación de Céspedes no se menciona la especificidad al contrario de Siacar et al²³. en donde presentó un 93 % de la misma, dándonos a entender que esta sería la primera prueba que debe considerarse para el diagnóstico de la patología.

Por otro lado, Berlanga et al²⁹. menciona que es importante la valoración de metanefrinas libres en plasma, ya que no se determinan las concentraciones de metabolitos conjugados los cuales se producen a través de procesos metabólicos mediante la sulfatación intestinal, a

diferencia de las metanefrinas fraccionadas en orina que determinan tanto los metabolitos excretados como los conjuntos lo que reduce su especificidad.

Cabe destacar el estudio multidisciplinario de Polonía et al³³. el cual hace referencia que la primera opción diagnóstica es el análisis de metanefrinas fraccionadas, totales y catecolaminas libres en orina de 24 horas, se valoró que la sensibilidad de estas fue del 97, 77 y 86%, con una especificidad del 69, 93 y 88%, respectivamente. Así mismo, menciona que existen pruebas útiles en el diagnóstico de Feocromocitoma como las metanefrinas libres en plasma con una sensibilidad y especificidad del 96-99% y 80-100% respectivamente, otros análisis como catecolaminas plasmáticas y ácido vanilmandélico poseen una sensibilidad de 84% y 65% y una especificidad de 81% y 95%.

Benzoni et al³⁸., Villagómez et al.⁴⁰, Boot et al⁴¹. citan que en la guía práctica para la detección Feocromocitomas y Paraganglioma recomienda la medición de metanefrinas en plasma u orina, donde la sensibilidad es de 97 %, 94 %, 93% y una especificidad de 85 %, 93 %, 90%, en el estudio de Pamo et al³⁷. se menciona que el análisis de las metanefrinas en orina de 24 horas llega a tener una sensibilidad de 80 % y una especificidad de 82%, lo que demuestra que esta prueba es menos fiable que la determinación en sangre.

Después de un estudio de los resultados de Därr et al⁴². Tanaka et al⁴³. Kiriakopoulos et al⁴⁴. indican que la medición de metanefrinas libres en plasma debe ser la primera opción al momento del diagnóstico de Feocromocitoma debido a que presentan una mayor sensibilidad que corresponden a 94 %, 95 %, 97 % y una especificidad de 93 %, 97 %, 91 %, comparando a la sensibilidad que presentan las metanefrinas cuantificadas en orina siendo 91 %, 89 %, 97 %, sin embargo Kiriakopoulos et al.⁴⁴ menciona que hay varios indicios que las metanefrinas libres en plasma son más sensibles pero menos específicas que las metanefrinas en orina.

Luego de un análisis de los diferente estudios se evidencia que las dos muestras empleadas en las determinaciones son sangre (metanefrinas libres, fraccionadas y totales, cromogranina A, catecolaminas) y orina (metanefrinas libres, fraccionadas y totales, catecolaminas, ácido vanilmandélico), donde para cada muestra existe un método estandarizado que se mencionaba en todos los estudios, en el caso de usar plasma sanguíneo se aplica el método

de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), en el caso de las determinaciones en orina se requiere que la muestra sea de 24 horas, la cual será cuantificada mediante diversos inmunoensayos como EIA (Electroinmunoensayo) y RIA (Radioinmunoensayo).

Estos métodos establecerán un estándar al momento de realizar las diferentes pruebas en el laboratorio, los cuales son procedimientos aplicados para detectar esta patología, teniendo en cuenta que las determinaciones en plasma llegan a ser más sensibles como se demuestra en los estudios de los diferentes autores, ya que la especificidad no varía con las muestras de orina. Cabe mencionar que la posición que se toma la muestra influirá en la sensibilidad de esta, ya que el paciente debe encontrarse relajado, sin hacer esfuerzo físico, ni exponerse a situaciones de estrés, debido a que puede aumentar las concentraciones hormonales.

Finalmente, Dorji et al⁴⁵. menciona que al usar la cromatografía líquida de alta resolución añadiendo un método de detección sea electroquímico o por espectrofotometría de masas brindan una mejor sensibilidad al momento del diagnóstico.

En la tabla 2, se observa los distintos niveles hormonales obtenidos en las pruebas ejecutadas a los pacientes que fueron diagnosticados con Feocromocitoma.

Tabla 2. Niveles hormonales obtenidos de pacientes diagnosticados con Feocromocitoma y manifestaciones clínicas

Autor	Edad/Genero	Pruebas Realizadas	Valores Obtenidos	Manifestaciones Clínicas	Antecedentes
Octavio A, et al ⁵	31 años Femenino	Metanefrinas en orina	2 973 ug/24h	Hipertensión arterial de larga data	2 cuadros de accidentes cerebrovasculares
		Normetanefrina en orina	21 505 ug/24h		
	51 años Femenino	Norepinefrina libre plasmática	8 247 pg/ml	Intenso dolor en flanco izquierdo	Abdominoplastia 30 días antes del ingreso
		Normetanefrina en orina	2 466 ug/24h		
		Normetanefrina plasmática	2 066 pg/ml		
		Epinefrina en orina	12,6 ug/24h		
		Norepinefrina en orina	1 541 ug/24h		
62 años	Metanefrinas plasmáticas	46,0 pg/ml			

Céspedes M, et al ²²	Femenino	Normetanefrina plasmática	180 pg/ml	Cefalea, ansiedad y palpitaciones.	Hipertensión arterial 4 años, biopsia de mama, dislipidemia, histerectomía abdominal
		Metanefrinas en orina	250 ug/24h.		
		Catecolaminas libres en orina	65,0 ug/24h.		
Siacar S, et al ²³	12 años	Ácido vanilmandélico	Normal	Cefalea, pérdida de peso, diaforesis, constantes palpitaciones, vómitos.	No presenta antecedentes personales ni familiares
	Masculino	Catecolaminas libres en orina	Normal		
Duré C, et al ²⁵	56 años Masculino	Metanefrinas en orina	Menor 0,2 µg/24h	Dolor epigastrio, cefalea sudoración, palpitaciones.	Hipertenso
Polonía A, et al ³³	32 años Masculino	Ácido vanilmandélico	38,5 mg/24h	Dolor punzante en el pecho.	Neurofibromatosis tipo 1, Hipertenso
		Metanefrinas plasmáticas	826 pg/ml		
Antunes J, et al ³⁴	47 años Masculino	Catecolaminas plasmáticas	840,0 pg/ml	Crisis hipertensiva, taquicardia, palidez y cefalea generalizada severa	Hipertenso
		Metanefrinas en orina	450 µg/24h		
		Ácido vanilmandélico	Normal		

Pamo O, et al ³⁷	42 años Femenino	Metanefrinas en orina	2 210 µg /24h	Cefalea frontal pulsátil de intensidad 7/10	A partir de los 6 años presenta asma bronquial
Dorji T, et al ⁴⁵	12 años Femenino	Metanefrinas en orina	29,3 µg/24h	Hemorragia nasal espontánea, palpitaciones y cefalea.	Ansiedad y aumento del apetito.
Pérez M, et al ⁴⁶	57 años Femenino	Metanefrinas plasmáticas	876 pg/ml	Cefalea severa acompañada de vértigo, hipertensión, náuseas y palidez cutánea	Bronconeumonía bilateral por SARS-CoV-2
Montes P, et al ⁴⁷	63 años Femenino	Ácido vanilmandélico	10,20 mg/24h	Presenta dolor abdominal con características de cólico biliar.	Diabetes mellitus tipo 2 e hipertensión arterial
		Metanefrinas plasmáticas	79,1 pg/ml		
Jurado D, et al ⁴⁸	54 años Femenino	Metanefrinas plasmáticas	28 pg/ml	Dolor abdominal de 15 días de evolución.	Diagnóstico dos años atrás de una masa suprarrenal derecha
		Normetanefrina plasmática	66 pg/ml		
		Metanefrinas plasmáticas	94 pg/ml		
	20 años	Ácido vanilmandélico	13,4 mg/24h		

Berrientos M, et al ⁴⁹	Masculino	Metanefrinas plasmáticas	93,1 pg/ml	Cefalea intensidad 10/10 de 7 días, dolor abdominal de tipo cólico con 5 meses de evolución.	No presenta antecedentes personales ni familiares
		Normetanefrina plasmática	2 977 pg/ml		
		Catecolaminas libres en orina	437 mg/24h		
Alberca A, et al ⁵⁰	25 años Femenino	Ácido vanilmandélico	26,1 mg/24h	Palpitaciones y vómitos repetitivos sin causa filiada.	No presenta antecedentes personales ni familiares
		Cromogranina A	Normal		
		Metanefrinas plasmáticas	>1 200 pg/ml		
		Norepinefrina libre plasmática	1 426 pg/ml		
Portal M, et al ⁵¹	9 años Masculino	Norepinefrina libre plasmática	1 033 pg/ml	Sudoración profusa, cefalea y frecuencia cardíaca elevada.	Seguimiento en dermatología por mastocitosis
		Ácido vanilmandélico	50,1 mg/24h		
Rodríguez L, et al ⁵²	17 años Masculino	Ácido vanilmandélico	Normal	Dolor en hipocondrio derecho, fiebre, náuseas, astenia y pérdida de peso.	No presenta antecedentes personales ni familiares

Dorji T, et al ⁴⁵	10 años Femenino	Metanefrinas en orina	2 930 µg/24h	Hemorragia nasal espontánea, palpitaciones y cefalea.	Madre: Hipertensión secundaria a paraganglioma vesical y palpitaciones
		Normetanefrina en orina	1 861 µg/24h		
Lambrecht A et al ⁵³	55 años Masculino	Metanefrinas plasmáticas	593,2 pg/ml	Dolor punzante e intenso en el cuadrante superior derecho, vomito. Diaforesis, palpitaciones y temblores.	Dolor de espalda por masa suprarrenal
		Metanefrinas en orina	423,4 ug/24h		
		Normetanefrina en orina	342,5 ug/24h		
Wu HY, et al ⁵⁴	59 años Femenino	Norepinefrina en orina	22,45 µg/24h	Opresión torácica, palpitaciones, mareos, vómitos y sudoración.	Hipertensa
		Catecolaminas libres en orina	23,85 µg/24h		
Jalca N, et al ⁵⁵	58 años Masculino	Norepinefrina libre plasmática	2 458 pg/ml	Dolor difuso abdominal, vómito	Cefalea ocasional y diaforesis Padres: Hipertensión
		Epinefrina libes plasmática	1 382 pg/ml		

Análisis

En la tabla 2, se presenta una recopilación de casos clínicos útiles para interpretar los diferentes niveles hormonales que presentaron los pacientes que fueron diagnosticados con Feocromocitoma, además se toma en cuenta tanto la edad como el género, así como los valores obtenidos en cada prueba realizada durante el diagnóstico. Es fundamental también conocer si presentaban antecedentes familiares y cuál es el cuadro clínico que se manifestaba en cada paciente.

Discusión

La interpretación de los valores obtenidos en cada prueba realizada junto con las manifestaciones clínicas y antecedentes que refiere el paciente, son de ayuda al momento de establecer un diagnóstico de Feocromocitoma, debido a que las personas se presentan con una sintomatología clásica que se desarrolla por el aumento excesivo de catecolaminas, las cuales son las encargadas de regular la vasoconstricción, estímulos nerviosos, broncodilatación, aumento de la frecuencia cardíaca, entre otros.

En la revisión de Octavio et al⁵. Se presentó dos casos clínicos, donde se expone una paciente de 31 años, la cual reporta niveles altos de metanefrinas urinarias y normetanefrinas, presenta un cuadro clínico de hipertensión debido al exceso de catecolaminas, donde el paciente refiere haber tenido dos cuadros de accidente cerebrovascular.

Céspedes et al²². y Antunes et al³⁴. Reportan a una paciente femenina de 52 años y a un paciente masculino de 47 años respectivamente, ambos presentan la triada clásica de feocromocitoma y tienen antecedentes de hipertensión, por ello se realizó determinaciones de metanefrinas plasmáticas, normetanefrinas, catecolaminas libres en orina, y ácido vanilmandélico. Sin embargo, las mediciones de metanefrinas plasmáticas son las más sensibles y tienen menor riesgo a presentar resultados falsamente elevados como resultado de estrés.

Siacar et al²³. Presenta un paciente masculino de 12 años, al que se realiza exámenes de Catecolaminas libres en orina y ácido vanilmandélico cuyos valores obtenidos fueron

normales, no refiere tener antecedentes, presenta cefalea, pérdida de peso, diaforesis y vómitos. El autor menciona que el diagnóstico de feocromocitoma requiere tanto de pruebas hormonales como estudios de imagen para detectar a tumores que no presentan alteración en las pruebas.

En la investigación de Duré et al²⁵. se presentó a un paciente de 56 años de género masculino, se cuantificó metanefrinas en orina de 24 horas, tiene antecedentes de hipertensión y presenta dolor en el epigastrio, cefalea, sudoración y palpitations. Según los autores probablemente la muestra no fue tomada en las condiciones requeridas o no se realizó una correcta determinación de metanefrinas urinarias por lo que este resultado fue erróneo.

Polonía et al³³. expone a un paciente de 32 años de género masculino, se realiza determinaciones de ácido vanilmandélico y metanefrinas libres en plasma, tiene antecedentes de Neurofibromatosis tipo 1 e hipertensión, presenta dolor punzante en el pecho, en el caso presentado el resultado de las metanefrinas libres las mismas que aumentaron nueve veces por encima de lo normal, mientras que el ácido vanilmandélico se incrementó tres veces más de los valores establecidos, por esa razón el valor predictivo positivo se incrementó al 100%.

En la revisión de Pamo et al³⁷. se presentó a una paciente femenina de 42 años, la cual refiere cefalea y desde los 6 años presencia de asma bronquial, por otro lado, Dorji et al⁴⁵. menciona a una menor de 12 años de género femenino que presenta hemorragia nasal espontánea, palpitations y cefalea, a ambas pacientes se les realiza cuantificación de metanefrinas en orina de 24 horas, las cuales se encuentran elevadas indicando la presencia de Feocromocitoma.

Pérez et al⁴⁶. y Montes et al⁴⁷. realizan el estudio de dos pacientes femeninas de 57 y 63 años respectivamente, la primera paciente ingresa a ser valorada por tener cefalea acompañada de vértigo, hipertensión, náuseas, palidez, la segunda paciente presenta dolor abdominal tipo cólico, a pesar de tener características clínicas diferentes a ambas se determina metanefrinas en orina de 24 horas y metanefrinas libres en plasma. Según Montes et al⁴⁷. las metanefrinas se producen continuamente dentro de los Feocromocitomas y luego pasan a la circulación,

por ello deben ser medidas tanto metanefrinas libres en orina como plasma para el diagnóstico.

Jurado et al⁴⁸. expone en el caso de una mujer de 54 años que se presenta con un dolor abdominal con evolución de 15 días de dolor progresivo, donde sus antecedentes mencionan que hace 2 años fue detectada una masa suprarrenal derecha que después del seguimiento no mostraba un crecimiento que permita identificar un tumor funcional, sin embargo después de este tiempo se desarrolló, los exámenes en esta paciente se encuentran normales y no presentó la sintomatología clásica de la patología, lo cual nos deja en evidencia que en ciertos casos no llega a producir un exceso de catecolaminas, y es necesario realizar estudios de imagen que puedan confirmar la presencia del tumor.

En el caso de Barrientos et al⁴⁹. refiere a un paciente de 20 años el cual reporta cefalea intensa con 7 días de evolución, además refiere dolor abdominal tipo cólico con una evolución de 5 meses, no menciona antecedentes de importancia, en los exámenes de laboratorio que le realiza se evidencia un aumento metanefrinas y normetanefrinas, sin embargo, el estudio de ácido vanilmandélico y catecolaminas se encuentra dentro de los niveles normales, lo que explicaría los dolores de cabeza.

Alberca et al⁵⁰. hace mención en su caso a una paciente femenina de 25 años con vómitos y palpitación sin causa, donde las pruebas realizadas se encontraban normales, a la edad de 27 años refiere seguir con la misma sintomatología, no obstante, al realizar exámenes de rutina, se ve reflejado un aumento significativo lo cual se le diagnostica Feocromocitoma. Se puede ver que en etapas tempranas de este tumor se puede producir cierta sintomatología, aunque los niveles hormonales se encuentren normales.

Portal et al⁵¹. Presenta un caso peculiar ya que se da en un paciente de 9 años de sexo masculino el cual refiere picos febriles de 38°C y una sudoración profusa de 15 días de evolución, al momento de llegar presenta cefalea, vómitos y una frecuencia cardiaca elevada. Se le realiza pruebas complementarias donde se ve un aumento de 5 veces el límite de referencia en la noradrenalina y ácido vanilmandélico, lo cual según lo investigado sería un caso raro debido a que este tumor se desarrolla en la tercera década de la vida.

Rodríguez et al⁵². y Dorji et al⁴⁵. en sus investigaciones presentan a dos pacientes jóvenes de 17 y 10 años respectivamente donde en el primer caso el único estudio realizado fue de ácido vanilmandélico el cual en dos ocasiones se encuentra normal, sin embargo, se detalla la presencia de feocromocitoma con pruebas de imagen, pero en el segundo caso se detalla que recurre al médico por una hemorragia nasal espontánea, palpitations, cefalea y presión arterial elevada, la madre reporta paraganglioma en su historial, como una indagación de probable causas de hipertensión secundaria se le realiza exámenes donde el nivel de normetanefrina se encuentra muy elevado lo cual nos indica la presencia de Feocromocitoma.

En los tres casos anteriores se evidencia que esta patología puede darse en diversas etapas de la vida, sin embargo, la mayor incidencia de estos según lo investigado es a partir de la tercera década, también tiene la característica de presentar una sintomatología similar en los 3 casos y se resalta la importancia de confirmar la presencia de esta patología mediante estudios de imagen en los casos de que las pruebas de laboratorio se encuentren normales.

Lambrecht et al⁵⁹. presenta a un varón de 55 años el cual se dirigió a urgencias por un dolor intenso en el cuadrante superior derecho y espalda, donde se menciona como antecedente que le detectaron de manera accidental mediante una tomografía una masa suprarrenal el cual comenzó a provocar molestias hace 1 año acompañado de episodios de diaforesis, palpitations y temblores. En otras valoraciones se vió reflejado un aumento de la presión arterial. Debido a esto se realiza pruebas hormonales de metanefrinas plasmáticas y orina las cuales se elevaron marcadamente, dando con el diagnóstico de feocromocitoma.

Wu HY et al⁵⁹. refiere a una paciente femenina de 59 años que presenta desde hace 5 años hipertensión sin tratar, al momento de la consulta presenta palpitations, mareos, vómitos y sudoración. En los exámenes de laboratorio se evidencia una alteración de las pruebas de norepinefrina y catecolaminas, sin embargo, los niveles no son tan alarmantes como en otros casos estudiados, pero la sintomatología característica persiste.

Jalca N et al⁵⁸. menciona un caso reportado por médicos ecuatorianos donde presenta a un paciente masculino de 58 años el cual refiere un dolor difuso en la región abdominal que continúa hacia la región lumbar acompañados de vómito, cefalea en ocasiones y diaforesis

espontánea, entre sus antecedentes se describe que presenta hipertensión al igual que sus padres. Se habla sobre una sospecha de feocromocitoma o tumor suprarrenal benigno el cual se debe identificar mediante pruebas hormonales, en los resultados se evidencia unas catecolaminas muy marcadas, lo cual nos indica la presencia de la patología estudiada.

La identificación de las complicaciones clínicas presentadas en pacientes que estén con sospecha de padecer Feocromocitoma comprende de un estudio multidisciplinario el cual abarca en primera estancia la sintomatología clínica donde la mayoría de los pacientes reportan cuadros de hipertensión, cefalea y palpitaciones, los cuales están relacionados a los niveles aumentados de catecolaminas y metanefrinas, ya que debido a la elevada producción, provoca una sobreestimulación de la vasoconstricción, respuestas neuronales y de la presión arterial. Sin embargo, no todos los casos de feocromocitoma presentan sintomatología o niveles hormonales elevados.

Es importante relacionarlas para dar con su identificación ya que otros tumores como paragangliomas pueden presentar una sintomatología similar. Cabe destacar que los antecedentes tanto personales como familiares cumplen un papel importante al momento de establecer un diagnóstico acertado, se ha mencionado que esta patología puede desarrollarse de manera hereditaria en la mayor parte de los casos. Para finalizar, después de cada revisión de los casos clínicos se destacó que los estudios de imagen son de gran ayuda en el diagnóstico, la presencia de una masa suprarrenal puede confirmar el feocromocitoma; en algunos casos donde las pruebas cuantificadas se encuentran normales.

En la tabla 3, se describen biomarcadores adicionales que fueron de ayuda al momento de dar un diagnóstico junto a su utilidad al momento de detectar la patología.

Tabla 3. Biomarcadores adicionales en sangre u orina como ayuda diagnóstica en el Feocromocitoma.

Autor	Muestra	Biomarcadores	Utilidad Diagnóstica
Santos Y, et al ¹⁶	Sangre	Gastrina	Secreción de diversos péptidos además de catecolaminas.
Williamson, et al ²⁶	Sangre		Aumento en la presencia de un Feocromocitoma.
Román A, et al ²⁸	Sangre/Orina	Clonidina	Suprime liberación de catecolaminas.
Berlanga et al ²⁹	Sangre/Orina		Prueba de estimulación sin efectos secundarios.
Farrugia F, et al ⁵⁶	Sangre		Útil en metanefrinas plasmáticas mayores a 4 límites de referencia. No suprime niveles plasmáticos elevados de normetanefrina.
Carballo D, et al ¹	Sangre	Enolasa	Mutación SHDB Se usa en tumores neuroectodérmico
Berlanga et al ²⁹	Sangre	Neuroespecífica	Secreción de diversas moléculas además de catecolaminas.
Lenders J, et al ⁵⁷	Sangre	Metoxitiramina	Niveles elevados asociados a enfermedad metastásica.
Cano M, et al ⁵⁸	Sangre		Para determinar Feocromocitomas extraadrenales y por mutaciones.

Análisis

En la tabla 3, se resumen biomarcadores adicionales que ayudan a la valoración en pacientes de Feocromocitoma, donde se da a conocer en qué tipo de muestra se realiza cada determinación, además se destaca la importancia de realizar otras pruebas para el diagnóstico de esta patología junto a su utilidad que es de carácter específico, actuando como pruebas complementarias, debido a que el Feocromocitoma secreta otros analitos.

Discusión

Tradicionalmente, la medición de metanefrinas plasmáticas y urinarias ha sido el estándar para el diagnóstico de Feocromocitoma. Sin embargo, hay interés en identificar biomarcadores adicionales que pueden mejorar la precisión diagnóstica y proporcionar más información sobre el tumor. La identificación y validación de estas pruebas adicionales en sangre y orina servirán de ayuda diagnóstica en situaciones específicas.

En el estudio de Santos et al¹⁶. se menciona que algunos feocromocitomas llegan a producir diversos péptidos aparte de catecolaminas, entre los cuales se encuentra la gastrina de la cual se puede determinar su concentración sérica mediante una muestra sanguínea. Así mismo Williamson et al²⁶. describe que los niveles de esta prueba pueden encontrarse significativamente elevados debido a la presencia de feocromocitoma, sin embargo, es una situación muy específica porque también puede elevarse en otras patologías quitándole especificidad a esta prueba.

De acuerdo con Román et al²⁸. Berlanga et al²⁹. mencionan que la utilización de la prueba de clonidina es de gran ayuda cuando existe una sospecha de Feocromocitoma, pero los niveles de metanefrinas no demuestran la suficiente validez diagnóstica, es por ello que se administró clorhidrato de clonidina al paciente, lo cual permitirá comprobar que las concentraciones de las metanefrinas sean normales, si hubiera una disminución del 40 % al valor inicial o un aumento a las 3 horas de haber sido administrado, confirma la presencia del tumor.

El estudio de Farrugia et al⁵⁶. coincide con lo expuesto anteriormente ya que menciona que pacientes con valores de metanefrinas plasmáticas por encima de límite superior de referencia y menores a cuatro veces el valor inicial tendrá una importancia diagnóstica. También menciona que esta prueba posee una sensibilidad y especificidad muy altas, entre 100% y 96 % respectivamente, siendo ideal para confirmar en caso de existir valores que no concuerdan con lo establecido para el diagnóstico de Feocromocitoma.

Carballo et al¹. y Berlanga et al²⁹. demostraron en sus investigaciones que la Enolasa Neuroespecífica (ENS) es un biomarcador de ayuda diagnóstica para Feocromocitoma debido a que estos tumores además de catecolaminas también producen un gran número de moléculas entre ellas la Enolasa neuroespecífica, la cual actúa como un marcador de tumor neuroendocrino, sin embargo, cuenta con menor sensibilidad y especificidad que la cromogranina A, por esa razón no se emplea como diagnóstico de primera línea si no como una prueba adicional para la valoración de este tumor.

La utilidad de metoxitiramina en el diagnóstico de Feocromocitoma de acuerdo con Lenders et al⁵⁷. y Cano et al.⁵⁸. Describen que puede ser cuantificada a la vez con normetanefrina y metanefrina sea en plasma o en orina, donde se ha documentado que la función que cumple en casos donde los pacientes poseen una sospecha alta de padecer este tumor, a pesar de que presentan concentraciones de metanefrina y normetanefrina dentro de los valores de referencia, el valor de metoxitiramina se encuentra elevado.

Las diferentes pruebas mencionadas, marcaran una línea a seguir en cuanto se sospeche de la presencia de Feocromocitoma, sin embargo como se demuestra, no serán utilizadas en primeras estancias, dependerá mucho de los resultados previos de las pruebas, en caso que estas no llegaran a marcar niveles anormales se emplearán estas como ayuda diagnóstica, sin embargo la determinación con mejores resultados es la clonidina, debió a su especificidad y sensibilidad, siendo la más recomendada al momento de valorar la presencia de Feocromocitoma.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

Conclusiones

Para el diagnóstico de Feocromocitoma se demostró que la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es la más utilizada seguido del EIA, se evidenció que en ciertos estudios la determinación de metanefrinas libres ayuda a confirmar la presencia de la patología debido a su alta sensibilidad y especificidad del 100%, donde la posición adecuada para la toma de muestra es decúbito supino ya que el paciente debe estar relajado, siendo las muestras de suero/plasma las que se utilizan con mayor frecuencia y orina de 24h en menor proporción.

La revisión de casos clínicos publicados sobre feocromocitoma, constató que esta enfermedad no distingue entre géneros, la incidencia de esta patología se ve reflejado en la cuarta y quinta década de vida, las determinaciones que se elevan con recurrencia en estos pacientes son las metanefrinas en plasma y en orina donde se encuentran 3 veces más que su valor de referencia, donde se enmarca cuadros de cefalea, palpitaciones, náuseas y vómito en la mayoría de los casos, la hipertensión era uno de los antecedentes familiares y personales más frecuentes debido a que era un indicador de la enfermedad.

El análisis de la literatura científica sobre biomarcadores adicionales para el diagnóstico de Feocromocitoma, además de las catecolaminas y metanefrinas, la Gastrina, Clonidina, Enolasa neuroespecífica, y Metoxitiramina, son empleadas como pruebas complementarias en situaciones específicas, la Clonidina y Enolasa Neuroespecífica demostraron un mejor rendimiento en el diagnóstico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carballo Torres D, Caballero Aguirrechu I, Ortiz Roque J, Sánchez Rojas I, Gonzáles Argote J. Feocromocitoma maligno metastásico extraadrenal con una diseminación atípica. Reporte de un caso. Mexican Journal Of Oncology. 2021 Septiembre; 20(Supl).
2. Soriano J. Diagnóstico y tratamiento de los feocromocitomas y paragangliomas. Revista Finlay. 2021 Agosto; 11(3).
3. González D, Arguedas M, Rockbrand L. Feocromocitoma. Revista Clínica de la Escuela de Medicina UCR-HSJD. 2019 Abril; 9(2).
4. Octavio A, Riera P, Rodríguez P, Alemán E, Aranguren G, López J. Feocromocitoma maligno tratado con cirugía mínimamente invasiva. Rev Chil Cir. 2014 Febrero ; 66(1).
5. Fernández P, Ramos A, Ares J. Feocromocitoma, Paraganglioma, e Incidentalomas Suprarrenales. Nefrología al día. 2021 Diciembre.
6. Paredes B, Montalvo A, Costa R. Estrategia Nacional Para La Atención Integral Del Cáncer En El Ecuador. Quito: Ministerio de Salud Pública del Ecuador, Dirección Nacional de Estrategias de Prevención y Control; 2017.
7. Arquímedes R, Octavio C. PATOLOGÍA DE LA GLÁNDULA SUPRARRENAL. Manual de Urología. Clínica INDISA - Universidad Andrés Bello; 2020.
8. Jiménez García, L. Estudio comparativo sobre la precisión de las pruebas diagnósticas preoperatorias en la determinación del tamaño tumoral, en los tumores de la glándula suprarrenal. Trabajo de fin de grado. Valladolid: Universidad de Valladolid, Departamento Anatomía Patológica, Microbiología, Medicina Forense y Salud Pública, Medicina Legal y Forense; 2017. Report No.: <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/24379>.
9. Carracedo J, Ramírez R. Fisiología Renal. Nefrología al Día. 2020 Octubre; 3(3).
10. Peña J. La sabiduría del riñón III. La adaptación de la función renal a su daño progresivo. Acta Med GA. 2022; 20(2).
11. American Cancer Society. [Online].; 2020 [cited 2024 Mayo 20. Available from: <https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/6041.96.pdf>.

12. Gómez E. DETERMINACIÓN DE CATECOLAMINAS EN PLASMA Y ORINA. Tesis Fin de Grado. Madrid: UNIVERSIDAD COMPLUTENSE, FACULTAD DE FARMACIA; 2020.
13. Román A, Sierra J, Gutiérrez J, Builes C, Jiménez C. Feocromocitoma-Paraganglioma: revisión de tema. La Clínica y el Laboratorio. 2019 Abril; 21(5-6).
14. de la Calle EJ, Fernández G, Repollés M, Fraino A. Feocromocitoma adrenal. Claves para el diagnóstico radiológico. Radiología. 2022 Julio-agosto; 64(4).
15. Mariela V. Feocromocitoma una causa olvidada de hipertensión arterial. Revisión bibliográfica del impacto cardiovascular, conducta diagnóstica y terapéutica. Trabajo de titulación. Quito: UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS; 2021.
16. Santos Monzón Y, Plain Pozos C, Pérez A. Feocromocitoma. Presentación de un caso. Medisur. 2014 Agosto; 12(4).
17. Vietes A, Sansó G, Bergadá I, Barontini M. Feocromocitoma: nuevas perspectivas en diagnóstico y seguimiento. Rev. Hosp. Niños. 2018; 60(270).
18. Piriz Momblant Á, Vázquez Vilanora N. Feocromocitoma y neurofibromatosis: una rara asociación. Revisión del tema a propósito de un caso. Revista Información Científica. 2017; 96(0)).
19. Nagore Ancona F, Torres Silva C, Vargas Ávila AL, Añorve Bailón D, Mendoza Elizarraraz D, Sánchez Lora J. Feocromocitoma maligno con disfunción hemodinámica. Presentación de un caso y revisión bibliográfica. Mexical Journal of Oncology. 2021 Julio; 20(Supl).
20. Romero A, Navarro E, Casterás A. Protocolo de estudio y despistaje de Paragangliomas Feocromocitoma en pacientes portadores de mutaciones en SDHB, SDHC y SDHD. Protocolo de estudio. Sevilla-Barcelona: Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición, Endocrinología y Nutrición; 2022.
21. Papponetti. Feocromocitoma. IntraMed. 2022 Junio.
22. Céspedes Morón , Camargo Román , Rodríguez Gutarra , Mispireta Castañeda. Feocromocitoma: Enfoque Multidisciplinario, Consideraciones Perioperatorias. Revista De La Facultad De Medicina Humana. 2021 Julio; 21(3).

23. Siacar Bacarreza S, Mamani Antonio A, Burgoa Vargas J, Saldaña Imaña M, Tarqui Callisaya C, Ali Poma M, et al. Tumor de células cromafines: Feocromocitoma. Revista "Cuadernos". 2022; 63(2).
24. Miguel C, Javier E, Gabriel F, Stela F, David M, Beatriz S. Sociedad Española de Radiología Médica. [Online].; 2021 [cited 2023 Mayo 20. Available from: <https://piper.espacio-seram.com/index.php/seram/article/view/3891/2357>.
25. Duré Riveros CD, Ruiz Diaz L. Síndrome coronario agudo por feocromocitoma. Revista Virtual de la Sociedad Paraguaya de Medicina Interna. 2022 Septiembre; 9(2).
26. Williamson M, Snyder M. Wallach Interpretación Clínica de pruebas diagnósticas. 9th ed.: Wolters Kluwer.
27. Fernández Álvarez M. Tumores de Cresta Neural. Pediatría Integral. 2014 Septiembre;(7).
28. Román Gonzáles A, Sierra Zuluaga J, Gutiérrez Restrepo J, et all.. Feocromocitoma-Paraganclioma: Revisipon de un caso. La clínica y el laboratorio. 2015; 21(5-6).
29. Berlanga E, Álvarez E. DIAGNÓSTICO BIOQUÍMICO DEL FEOCROMOCITOMA. Educación Continuada en el Laboratorio Clínico. 2016 Junio; 22.
30. Macedo Moraes F, Pereira Falavigna GF, Maranhão Silva F, Neves Silva C, Rodrigues Mattiello L, Rodrigues de Souza. eocromocitoma: uma causa rara de hipertensão arterial sistêmicaa partir de uma revisão integrativa. Brazilian Journal of health Review. 2020 Noviembre - Diciembre; 3(6).
31. Galeano Naranjo C. Evaluación del efecto matriz en un ensayo ELISA competitivo usando muestras clínicas para la detección del biomarcador Ag38kD. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniera Biomédica. Envigado: Universidad EIA, Ingeniería Biomédica ; 2018.
32. Maya A. Manual de Procedimientos para la Prueba de ELISA. Tesis. San Juan de Pasto: Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias; 2019.
33. Polonía Andrade ÁN, Monroy Tovar LF, Alarcón Vargas ÁM, Barrios Torres C, Isaías Vargas H. Feocromocitoma. Med Int Méx. 2021; 37(2).
34. Antunes de Ramos , Ramos Pedrelli RG, Heitich Ferrazza , Borgmann , Plautz. Feocromocitoma: relato de caso. Revista RBAC. 2020; 52(4).

35. Feocromocitoma: experiencia clínica de tres décadas en un estudio multicéntrico. *Revista Clínica Española*. 2021 Enero; 221(1).
36. Vieites A, Levin G, Barontini M. Fisiopatología de la hipertensión arterial y feocromocitoma. In Hernan Gomez L, Piskorz. *Hipertensión Arterial, Epidemiología, Fisiopatología, Diagnóstico y Terapéutica*. Buenos Aires: Sociedad Argentina de Hipertensión Arterial; 2020. p. 261-264.
37. Pamo O, Hidalgo E, Guerra M, Lozano Z, Chian C. Feocromocitoma relacionado a mielolipoma. *Rev Soc Peru Med Interna*. 2019; 32(3).
38. Brenzoni P, Fabbro D, Taie S, Fares T, Garcia S, Gotta G, et al. Catecolaminas vs. metanefrinas en el diagnóstico bioquímico de feocromocitoma y paraganglioma. *Rev. argent. endocrinol. metab.*. 2018 Diciembre; 55(4).
39. Cerrato G, Fajardo F. FEOCROMOCITOMA: DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO. *REV MED HONDUR*. 2017; 85(1 y 2).
40. Villagómez Estrada MV. Feocromocitoma una causa olvidada de hipertensión arterial. Revisión bibliográfica del impacto cardiovascular, conducta diagnóstica y terapéutica. Tesis Especialista. Quito: Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Médicas; 2021.
41. Boot C, Toole B, Johnson SJ, Neely D. Ingle-centre study of the diagnostic performance of plasma metanephrines with seated sampling for the diagnosis of pheochromocytoma/paraganglioma. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2017; 54(1): p. 143-148.
42. Därr R. Accuracy of recommended sampling and assay methods for the determination of plasma-free and urinary fractionated metanephrines in the diagnosis of pheochromocytoma and paraganglioma: a systematic review. *Endocrine*. 2017; 56(3): p. 495-503.
43. Tanaka Y. Plasma free metanephrines in the diagnosis of pheochromocytoma: diagnostic accuracy and strategies for Japanese patients. *Endocr J*. 2014; 61(7): p. 667-673.
44. Kiriakopoulos A. Pheochromocytoma: a changing perspective and current concepts. *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2023 Octubre; 14.

45. Dorji T. Epistaxis, paroxysmal anxiety episodes, and hypertension in a child with SDHB-associated paraganglioma: A case report. *Clinical Case Reports*. 2022; 10(12).
46. Pérez M, García J, Martínez F. Cefalea e hipertensión como forma de presentación de un feocromocitoma y simulando un síndrome post-COVID-19. *Hipertensión y Riesgo Vascular*. 2024 Enero-marzo; 41(1).
47. Montes P, Herrera S, Blanco P, Santodomingo J, Martínez M, Hernández K, et al. FEOCROMOCITOMA COMO DIAGNÓSTICO INCIDENTAL EN ESTUDIO DE IMAGEN. A PROPÓSITO DE UN CASO. *Rev. SCHU*. 2022 Marzo; 87(2).
48. Jurado D, Pineda C, Arias L, Gutiérrez J. Feocromocitoma adrenal gigante derecho. Reporte de un caso. *Rev Colomb Cir*. 2021 Junio; 37.
49. Barrientos M, Gonzáles G. Feocromocitoma. Reporte de Caso. *Rev Guatem Cir*. 2018; 24.
50. Alberca A, Ruescas F, Bertelli J, Núñez P, Sánchez S, Gil A, et al. Feocromocitoma mixto productor de dopamina y adrenalina. Presentación de un caso clínico. *Rev Mex End, Met y Nut*. 2017; 4.
51. Portal M, Bertholt L, Rubio P, Fernández I, Pazos F, Freijo C. Feocromocitoma familiar secundario a mutación en VHL. *Rev Esp Endocrinol Pediatr*. 2024; 15(1).
52. Rodríguez Cruzata L, Santiesteban Bello A, Gonzáles Garrido M. Feocromocitoma Benigno vs Tumor Renal. Presentación de un caso.. *Medisur*. 2021; 19(4).
53. Lambrecht A IJYR. Abdominal pain with intra-adrenal bleeding as an initial presentation of pheochromocytoma. *BMJ Case Rep*. 2021; 14(1).
54. Wu HY G. Case Report: Pheochromocytoma in a 59-Year-Old Woman Presenting With Hypotension. *Front Cardiovasc Med*. 2021; 8.
55. Jalca N. Feocromocitoma Adrenal Izquierdo. Reporte de un caso. *Ciencia Latina Rev. Cien Multi*. 2024; 8(2).
56. Farrugia F. Pheochromocytoma, diagnosis and treatment: Review of the literature. *Endocrine Regulations*. 2017; 51(2): p. 168-181.
57. Lenders J, Eisenhofer G. Update on Modern Management of Pheochromocytoma and Paraganglioma. *Endocrinol Metab*. 2017 Mayo; 32.

58. Cano M, Rodriguea D, Fernández L, Sención G, Martínez P. Feocromocitoma-paraganglioma: del diagnóstico bioquímico al genético. Nefrología. 2016 Octubre; 36(5).

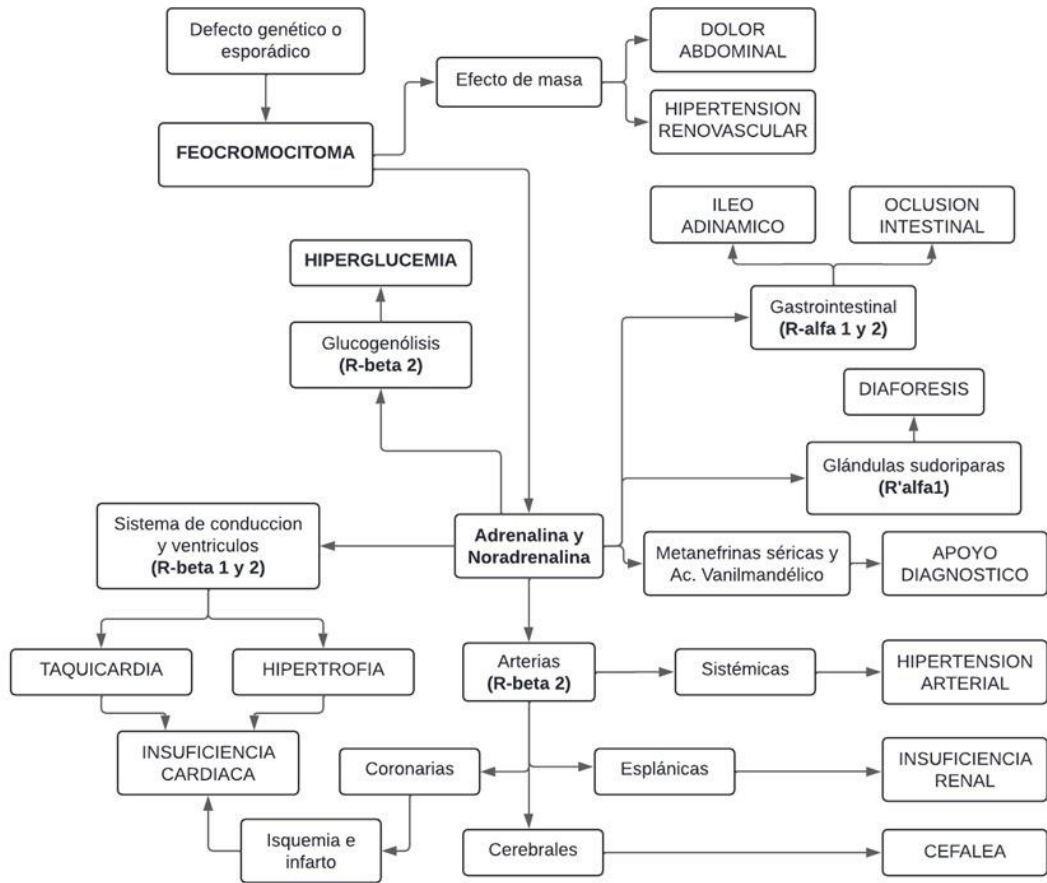
ANEXOS

Anexo 1. Foto macroscópica de glándula suprarrenal izquierda de bordes irregulares y de gran tamaño.



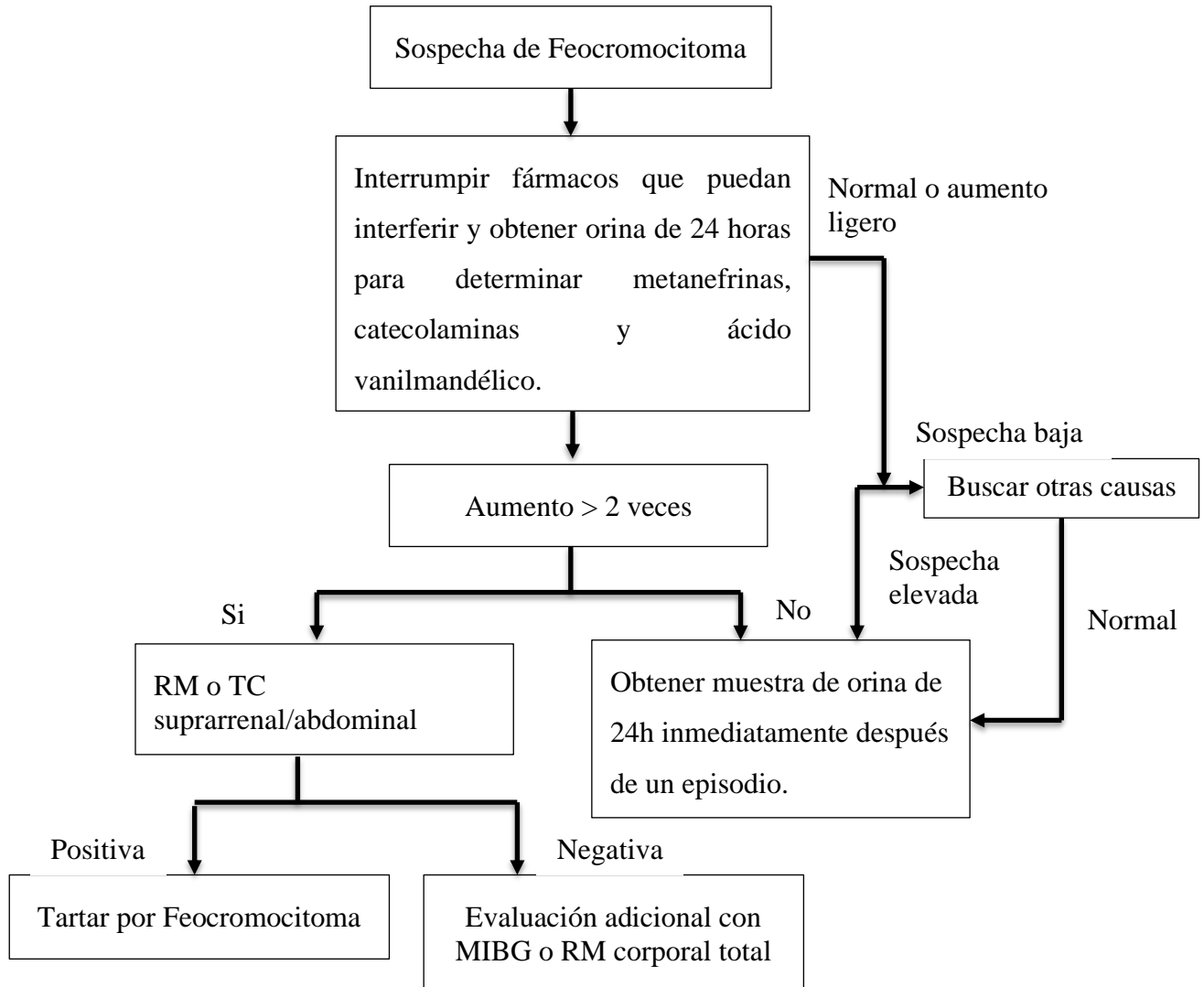
Fuente: Castillo O, Kerkebe M. Resección laparoscópica de feocromocitoma y quiste pancreático en un paciente con enfermedad de Von Hippel-Lindau. Recuperado de: <https://n9.cl/yvkxr>

Anexo 2. Fisiopatología del Feocromocitoma.




Fuente: Gutierrez V, Isauro R. La fisiopatología como base fundamental del diagnóstico clínico. Recuperado de: <https://n9.cl/ehwgb>

Anexo 3. Algoritmo de diagnóstico para Feocromocitoma



Fuente: Williamson M, Snyder M. Wallach Interpretación Clínica de pruebas diagnósticas. 9th ed.: Wolters Kluwer. Libro físico.

Anexo 4. Inserto de prueba para metanefrinas en orina.



Instrucciones de Uso

Metanephrine ELISA

Inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de metanefrina en orina humana.

REF RE59181

96

2°C / 8°C

EU: **IVD CE**

IBL INTERNATIONAL GMBH
 Flughafenstrasse 52a Phone: +49 (0)40-53 28 91-0 IBL@IBL-International.com
 D-22335 Hamburg, Germany Fax: +49 (0)40-53 28 91-11 www.IBL-International.com

Metanephrine ELISA (RE59181) ESPAÑOL

- USO PROPUESTO**
Inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de metanefrina en orina humana.
- IMPLICACIONES CLÍNICAS**
Las catecolaminas adrenalina, noradrenalina y dopamina se sintetizan en la médula adrenal, el sistema nervioso simpático y el cerebro. Ellas influyen prácticamente sobre todos los tejidos y están involucradas, junto con otros sistemas hormonales y neuronales en la regulación de una amplia variedad de procesos fisiológicos.
Las catecolaminas y sus metabolitos metanefrina y normetanefrina pueden ser empleadas con propósitos diagnósticos ya que son secretadas en grandes cantidades en diversas patologías.
En este contexto, el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades tumorales del sistema nervioso es de importancia vital. Esto es aplicable fundamentalmente al feocromocitoma, pero también al neuroblastoma y el ganglioneuroma.
El crecimiento maligno se describe en el 10% de los feocromocitomas. Es más, la elevación de las catecolaminas y sus metabolitos metanefrina y normetanefrina puede observarse en los carcinoides.
- PRINCIPIO DEL ENSAYO**
El procedimiento de ensayo sigue el principio básico de los ELISAs competitivos, donde existe competencia entre el antígeno biotinilado y el no biotinilado por un número fijo de sitios de unión. La cantidad de antígeno biotinilado unido al anticuerpo es inversamente proporcional a la concentración del analito en la muestra. Cuando el sistema está en equilibrio, el antígeno biotinilado libre se elimina con una etapa de lavado y el antígeno biotinilado unido al anticuerpo se determina empleando una estreptavidina fosfatasa alcalina como marcador y p-nitrofenil fosfato como sustrato. La cuantificación se logra por comparación de la actividad enzimática de la muestra desconocida con una curva de respuesta preparada con estándares conocidos.
- ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES**
 - Sólo para uso en diagnóstico *in-vitro*. Solo para uso profesional.
 - Antes de comenzar el ensayo lea las instrucciones completa y cuidadosamente. Use la versión válida del prospecto que se ofrece con el juego de reactivos. Asegúrese de entenderlo todo.
 - En caso de daño severo del estuche del juego de reactivos, contacte por favor a IBL o a su suministrador en forma escrita antes de transcurrida una semana de la recepción. No utilice los componentes dañados en los ensayos pero guárdelos en forma segura para la reclamación.
 - Tómese en cuenta el número de lote y la fecha de caducidad. No mezcle reactivos de diferentes lotes. No use reactivos vencidos.
 - Cumpla con las buenas prácticas de laboratorio y las pautas de seguridad. Use bata de laboratorio, guantes de látex desechables y gafas de protección cuando sea necesario.
 - Los reactivos de este juego que contienen materiales peligrosos pueden causar irritación ocular y cutánea. Vea MATERIAL SUMINISTRADO y las etiquetas para los detalles. Las Hojas de Datos de Seguridad de los materiales para este producto están disponibles en la página de internet de IBL o mediante solicitud directa a IBL.
 - Los reactivos químicos y los reactivos preparados o usados deben ser tratados como desechos peligrosos de acuerdo con las regulaciones nacionales sobre bioseguridad y pautas de seguridad.
 - El personal de limpieza debe ser capacitado por profesionales para el manejo de residuos peligrosos.
 - Evite el contacto con la Solución de Parada. Puede causar irritaciones y quemaduras en la piel.
- ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD**
El juego de reactivos es enviado a temperatura ambiente y debe ser almacenado a 2-8 °C. Manteniéndose alejado del calor o de la luz solar directa. El almacenamiento y estabilidad de muestras y reactivos preparados se detalla en los capítulos correspondientes.
La placa de microtitulación es estable hasta la fecha de caducidad del juego de reactivos aún cuando la bolsa haya sido abierta, siempre que se vuelva a cerrar herméticamente y se almacene a 2-8 °C.

Version 2018-09 1 / 6

Metanephrine ELISA (RE59181) ESPAÑOL

- TOMA Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

La liberación *in-vivo* de catecolaminas y metanefrinas está influenciada por varios medicamentos y alimentos. La Vitamina B₆, el café y los plátanos, la alfa metildopa, los inhibidores de la MAO y la CONIT así como los medicamentos relacionados con la hipertensión deben discontinuarse al menos 72 horas antes de la toma de muestra.

No se deben tomar muestras de pacientes que tomaron multivitaminas o suplementos que contienen biotina en las últimas 48 horas

Orina
Se puede emplear tanto la orina espontánea como la acumulada en 24 h. El volumen total de la orina excretada durante un periodo de 24 h debe ser recogida y mezclada en un solo recipiente que contiene 10-15 mL de 6 N HCl como preservativo. Determine el volumen total para el cálculo de los resultados.
Mezcle y centrifuge las muestras antes de ensayarlas.

Almacenamiento: ≤ -20 °C (Alícuotas) Manténgase alejado del calor o de la luz solar directa.
Estabilidad: 6 meses Evite congelar y descongelar repetidamente.
- MATERIALES SUMINISTRADOS**

Los reactivos suministrados con este kit son suficientes hasta para 96 determinaciones simples o hasta 48 duplicadas de metanefrina o de normetanefrina.

Cantidad	Símbolo	Componente
1 x 12 x 8	MTP	Placa de Microtitulación Tras separables, revestido con IgG anti-conejo (cabra, polidonal).
1 x 8 mL	ANTISERUM	Metanefrina Antisuero Coloreado en verde. Listo para usar. Contenido: Antisuero (conejo), Solución buffer fosfatasa, 0,1 % NaH ₂ PO ₄ .
1 x 8 mL	BIOTÍN	Metanefrina Biotina Listo para usar. Contenido: Metanefrina Biotina, Solución buffer fosfatasa, BSA, 0,1 % NaH ₂ PO ₄ .
1 x 400 µL	ENZCONJ CONC	Conjugado Enzimático Concentrado (50x) Contenido: estreptavidina fosfatasa alcalina, Solución Buffer Tris, 0,01 % NaH ₂ PO ₄ .
1 x 7 x 0,35 mL	CAL A-G	Estándar A-G 0; 26; 64; 160; 400; 1000; 2500 µg/L 0; 0,13; 0,33; 0,81; 2,03; 5,08; 12,7 µmol/L. Listo para usar. Contenido: Metanefrina, 0,1 M HCl.
1 x 2 x 0,5 mL	CONTROL 1+2	Control 1+2 Listo para usar. Por concentraciones exactas vea las etiquetas de las ampollas o el certificado Control de Calidad.
1 x 2,25 mL	ACYLREAG	Reactivo de Acilación Listo para usar. Contenido: dimetilformamida.
2 x 50 x	HYDR TUB	Tubos de Hidrolización Tubos de poliestireno desechables (sin revestir). Tubos adicionales para la hidrólisis se encuentran disponibles bajo el número de referencia REF. KEZ2861.
1 x 20 mL	HCL	HCl Listo para usar. 0,1 M HCl.
1 x 50 mL	ASSAY BUF CONC	Buffer de Ensayo Concentrado (10x) Contenido: Solución buffer fosfatasa, BSA, 1 % NaH ₂ PO ₄ .
1 x 11 mL	INDICATOR BUF	Solución Buffer Indicadora Coloreado en púrpura. Listo para usar. Contenido: Solución Buffer Tris, rojo fenol (Vaje de color a pH < 7,5).
2 x 100 mL	WASH BUF CONC	Solución Buffer de Lavado Concentrado (10x) Contenido: Solución Buffer Tris, HCl, Tween, 0,2 % NaH ₂ PO ₄ .
1 x 13 mL	PNPP SUBS	Solución de Sustrato PNPP Listo para usar. Contenido: fosfato de p-nitrofenil (PNPP).
1 x 15 mL	PNPP STOP	Solución de Parada PNPP Listo para usar. Contenido: 1 M NaOH, 0,25 M EDTA.
3 x	FOIL	Folio Adhesivo

Version 2018-09 2 / 6

Fuente: IBL International. Inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de metanefrinas en orina humana. Recuperado de: <https://n9.cl/n4r1h>

Metanephine ELISA (RE59181) ESPAÑOL

8. MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Micropipetas (Multipette Eppendorf o dispositivos similares, < 3 % CV). Volúmenes: 10, 50, 100, 1000 µL.
2. Tubos de vidrio desechables (12 x 75 mm)
3. Agitador orbital (200-900 rpm) (p.e. EAS 2/4, SLT)
4. Vórtex
5. Baño maría, 90°C, 37°C
6. Micropipeta multicanal de 8 canales con reservorio de reactivo
7. Frasco lavador, sistema automatizado o semi-automatizado de lavado de placas de microtitulación
8. Fotómetro para placas de microtitulación capaz de leer absorbancias a 405 nm (longitud de onda de referencia 600-650 nm)
9. Agua bidestilada o desionizada
10. Toallas de papel, puntas para las micropipetas y cronómetro
11. Marcador indeleble para la rotulación de los tubos de hidrólisis

9. INDICACIONES PARA EL PROCEDIMIENTO

1. Cualquier manipulación inadecuada de las muestras o modificación del procedimiento de ensayo puede alterar los resultados. Los volúmenes a pipetear, los tiempos de incubación, las temperaturas y etapas de pretratamientos tienen que ser efectuados estrictamente siguiendo las instrucciones. Use solo pipetas u otros dispositivos calibrados.
2. Una vez comenzado el ensayo, se deben completar todas las etapas sin interrupción. Asegúrese de que los reactivos, materiales y dispositivos necesarios estén listos en el momento adecuado. Permita que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente (18-25 °C) y agite suavemente por rotación cada vial de reactivo líquido o muestra antes del uso. Evite la formación de espuma.
3. Evite la contaminación de los reactivos, pipetas pocillos y/o tubos. Emplee una punta desechable nueva para cada reactivo, estándar o muestra. No intercalie las tapas. Tape siempre los viales que no estén en uso. No reutilice los pocillos, tubos o reactivos.
4. Se recomienda ensayar las muestras por duplicado para poder identificar errores potenciales de pipeteo.
5. Use un esquema de pipeteo apropiado según las dimensiones de la placa.
6. El tiempo de incubación afecta los resultados. Todos los pocillos deben ser manipulados en el mismo orden y secuencia de tiempo. Para el pipeteo de soluciones en los pocillos se recomienda una pipeta de 8 canales.
7. El lavado de la placa de microtitulación es un paso importante. Los pocillos insuficientemente lavados conllevan a resultados erróneos. Se recomienda emplear una pipeta multicanal o un sistema automático de lavado. No deje secar los pocillos entre incubaciones. Cuide de no dañar el recubrimiento de las placas durante el enjuague y/o la aspiración. Enjuague y agregue los reactivos cuidadosamente. Al enjuagar cámbiese que todos los pocillos estén completamente llenos con la Solución Buffer de Lavado y que no haya residuos en ellos.
8. La humedad afecta los pocillos y tubos recubiertos. No abra la bolsa hasta que alcance la temperatura ambiente. Los pocillos o tubos que no se empleen deben guardarse inmediatamente en la bolsa resellada con desecante.

10. INSTRUCCIONES PARA LA PREPARACIÓN DEL ENSAYO

Para la versión manual y automática:

El contenido para 96 determinaciones puede ser dividido en 3 ensayos separados. Los volúmenes indicados a continuación corresponden a un ensayo de 4 tiras (32 determinaciones). Si desea reducir el número de estándares de 7 a 6 puede omitir el estándar G. En tal caso el rango de medición se vea reducido a 1000 µg/L.

En caso de utilizar un mayor número de tiras, modifique los volúmenes en relación.

10.1. Preparación de componentes concentrados

No mezcle los Conjugados Enzimáticos de la Metanephina y Normetanephina en caso de que emplee el ELISA de Normetanephina en paralelo.

Version 2018-09 3 / 6

Metanephine ELISA (RE59181) ESPAÑOL

Diluya / disuelva	Componente	agregue	Diluyente	Relación	Notas	Almacenamiento	Estabilidad
15 mL	ASSAYBUF CONC	150 mL	agua bidest.	1:10		2-8 °C	2 semanas
80 mL	WASHBUF CONC	600 mL	agua bidest.	1:10		2-8 °C	4 semanas
120 µL	ENZCONJ CONC	6 mL	Buffer de Ensayo diluido	1:51	Prepare fresco y use sólo una vez.	18-25 °C	5 horas

10.2. Hidrólisis de las muestra de Orina, Estándares y Controles para Metanephina total (en Tubos de Hidrólisis)

La etapa de hidrólisis es necesaria para la determinación de normetanephina total y metanephina total. No se requiere la hidrólisis cuando se ensayan normetanephina y metanephina libres. La muestra sospechosa de contener concentraciones superiores al mayor de los estándares tienen que diluirse con 0.1 M HCl antes de la etapa de hidrólisis.

10.2.1. Preparación de las muestras en una sola etapa en los tubos de hidrólisis

1. Pipeteo 10 µL de cada Estándar, Control y muestra de orina en los tubos de hidrólisis adecuadamente etiquetados.
2. Pipeteo 40 µL de 0.1 M HCl en cada tubo.
3. Tape los tubos con tapón. Hidrolice 1 h a 90 °C (controle la temperatura con termómetro). Luego deje enfriar a temperatura ambiente. Vórtex.
4. Pipeteo 100 µL de Solución Buffer Indicadora en cada tubo. Vórtex.
5. Pipeteo 20 µL de Reactivo de Aclación en cada tubo. Mezclar con vortex cada tubo inmediatamente después de pipetear. Ponga atención en adicionar completamente el reactivo de aclación en el contenido de los tubos.
6. Tape los tubos con tapón. Incube 15 min a TA (18-25 °C).
7. Pipeteo 1 mL de Solución Buffer de Ensayo diluida en cada tubo. Vórtex.

11. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

En placa de microtitulación procedimiento automatizado y manual

1. Pipeteo 50 µL de cada Estándar aclado, Control aclado y muestra de paciente aclada en los respectivos pozos de la placa de microtitulación.
2. Pipeteo 50 µL de Metanephina Biotina en cada pozo.
3. Pipeteo 50 µL de Metanephina Antisuero en cada pozo. Agite la placa cuidadosamente.
4. Cubra la placa con un folio adhesivo. Sacuda cuidadosamente la placa. Incube durante 1 h a TA (18-25 °C) en un agitador orbital (500 rpm).
5. Remueva el folio adhesivo. Descargue la solución de incubación. Lave la placa con un automática 6 x con 250 µL de Solución Buffer de Lavado diluido (3 x manual). Remueva el exceso de solución golpeando cuidadosamente la placa invertida sobre una toalla de papel.
6. Pipeteo 150 µL de Conjugado Enzimático preparado fresco en cada pozo.
7. Cubra la placa con un nuevo folio adhesivo. Incube 30 min a TA (18-25 °C) en un agitador orbital (500 rpm).
8. Remueva el folio adhesivo. Descargue la solución de incubación. Lave la placa con un automática 6 x con 250 µL de Solución Buffer de Lavado diluido. (3 x manual) Remueva el exceso de solución golpeando cuidadosamente la placa invertida sobre una toalla de papel.
9. Para la adición de la Solución de Substrato y de Paro utilice, de ser posible, una pipeta de 8 canales. La adición de sustrato y solución de paro debe llevarse a cabo en intervalos de tiempo iguales. Evite la formación de burbujas pipeteando con sobrevolumen.
10. Pipeteo 100 µL de Solución de Substrato PNPP en cada pozo.
11. Incube 40 min a TA (18-25 °C) en un agitador orbital (500 rpm).
12. Detenga la reacción de sustrato con la adición de 100 µL de Solución de Parada PNPP en cada pozo. Mezcle el contenido brevemente agitando cuidadosamente la placa.
13. Mida la densidad óptica con un fotómetro 405 nm (Longitud de onda de referencia: 600-650 nm) antes de 60 min después de pipeteada la Solución de Parada.

Version 2018-09 4 / 6

Metanephine ELISA (RE59181) ESPAÑOL

12. CONTROL DE CALIDAD

Los resultados son válidos solamente si el ensayo ha sido realizado de acuerdo a las instrucciones. Además el usuario debe atenderse a las Prácticas de Buen Laboratorio (GLP) u otras normas o leyes comparables. Para la determinación del diagnóstico, el usuario y/o el laboratorio deben de tener un sistema validado de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP). Los valores de los controles del ensayo deben encontrarse dentro de los rangos de aceptación indicados en las etiquetas y el Certificado QC. Si este criterio no se cumple, el ensayo no es válido y debe repetirse. Cada laboratorio debe emplear muestras conocidas como controles adicionales. Se recomienda participar en los programas de aseguramiento de la calidad adecuados.

En caso de detectarse alguna desviación, se debe verificar lo siguiente: Fecha de vencimiento de los reactivos, condiciones de almacenamiento, pipetas, dispositivos, condiciones de incubación y método de lavado.

Notas para los participantes en los Esquemas de Aseguramiento de Control de la Calidad

IBL regularmente toma parte de los Esquemas de Aseguramiento de Control de la Calidad para los Inmunoensayos de Metanephina. Los organizadores de estos esquemas emplean metanephina racémica (+/-) por lo que el cliente, al medir muestras racémicas por Inmunoensayo en rango de concentración elevado, encontrará solo el 30-40% de los resultados obtenidos por HPLC.

Si los organizadores emplean muestras nativas de pacientes con metanephina elevada no se aprecia este problema. La razón es que el anticuerpo empleado en los kits reconoce la forma biológicamente activa de la metanephina. Por lo tanto, cheque la preparación de las muestras empleadas en el esquema de Control de la Calidad al interpretar los resultados.

13. CÁLCULO DE RESULTADOS

La DO de los estándares (eje-x, logarítmico) sea en papel semi-logarítmico o empleando un método automático. Se logra un buen ajuste con cubic spline, 4 Parameter Logistics or Logit-Log.

Para el cálculo de la curva estándares, Aplique cada señal de los estándares (los duplicados con un valor obviamente fuera de límites debe omitirse y emplearse el valor único más plausible). La concentración de las muestras se puede leer directamente de la curva estándar.

En caso de muestras diluidas los valores deberán multiplicarse por el factor de dilución correspondiente. Las muestras que presenten una señal mayor a la del estándar mayor tienen que ser diluidas según se describe en INSTRUCCIONES PARA LA PREPARACIÓN DEL ENSAYO y analizadas nuevamente. Calcule la excreción de 24 h para cada muestra de orina. µg/24 h = µg/L x L/24 h

Conversión:
1 ng/mL = 1 µg/L
Metanephina (µg/L) x 5.07 x 10⁻³ = µmol/L

Curva de Calibración Típica

(Ejemplo. (No usar para el cálculo!))

Estándar	Metanephina (µg/L)	DO _{405nm}	DO/DO _{max} (%)
A	0.0	1.867	100
B	26	1.670	89
C	64	1.473	79
D	160	1.153	62
E	400	0.776	42
F	1000	0.473	25
G	2500	0.245	13

Version 2018-09 5 / 6

Fuente: IBL International. Inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de metanefrinas en orina humana. Recuperado de: <https://n9.cl/n4rih>

14. VALORES ESPERADOS

Los resultados por sí solos no deben ser la única razón para un tratamiento terapéutico, sino que deben correlacionarse con observaciones clínicas y ensayos de diagnóstico.

Los sujetos aparentemente sanos presentan los siguientes valores:

Medio: 134 µg/d. Intervalo: 25 – 312 µg/d. (95 % percentil)

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores normales.

15. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Las muestras de pacientes que tomaron multivitaminas o suplementos que contienen biotina pueden contener cantidades de biotina que causarán interferencia con el ensayo. La toma de la muestra y almacenamiento tiene un efecto importante en los resultados. Vea TOMA DE MUESTRA Y ALMACENAMIENTO para mayores detalles.

Para reactividad cruzada, vea PRUEBAS FUNCIONALES.

16. PRUEBAS FUNCIONALES


Especificidad Analítica (Reactividad Cruzada)	Substancia	Reactividad Cruzada (%)	Reactividad cruzada de otras sustancias testeadas < 0.2 %
	Adrenalina	0.1	
	Normetanefrina	0.2	
	Ácido cafeico	0.1	
	(±)-Synephrine	0.8	
Sensibilidad Analítica (Límite de Detección)	Señal media (Estándar-Cero) - 2DS		12 µg/L
Precisión	Intervalo (µg/L)		CV (%)
	Intra-Ensayo		8.8-5.0
	Inter-Ensayo		7.3-11.3
Linealidad	Intervalo (µg/L)		Intervalo (%)
	Dilución en Serie hasta	1:8	85-125
Recuperación	Recuperación después del enriquecimiento		Intervalo (%)
	96		96-120
Metodo de Comparación versus ELISA comercial	y (IBL RE59181) = 0.89 (Otro ensayo) + 50.40		r ² = 0.93; r = 0.96; n = 75
Comparación de métodos: manual vs. Automático	versión manual = 1.05 (DSX) + 13.27		r ² = 0.99; r = 0.99; n = 13

17. REFERENCIAS SOBRE EL PRODUCTO

- Creces J, Appleton Ch.: Catecholamines and their Metabolites: Evaluation of a commercial ELISA. Clin. Biochem, QML Pathology, Brisbane QLD (2004)
- Wassell J et al. Freedom from drug interference in new immunoassays for urinary catecholamines and metanephrines. Clin Chem 45:12 2216-2223 (1999)
Address: Wassell Julie, Wythenshawe hospital, Manchester, UK
- Wothers BG, Kema IP, Volmer M, Wesemann R, Westermann J and Manz B. Evaluation of urinary metanephrine and normetanephrine enzyme immunoassay (ELISA) kits by comparison with isotope dilution mass spectrometry. Clin. Chem. 43: 114-120 (1997).
Address: Bert G. Wolthers, Central Laboratory for Clinical Chemistry, University Hospital, P.O. Box 30.001, 9700 RB Groningen, The Netherlands

Fuente: IBL International. Inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de metanefrinas en orina humana. Recuperado de: <https://n9.cl/n4rih>

Anexo 5. Inserto para la determinación de adrenalina, noradrenalina, dopamina en plasma y orina.



Instrucciones de Uso

TriCat TM ELISA

Immunoensayo enzimático de diagnóstico cuantitativo in-vitro manual y automatizado para la determinación de adrenalina, noradrenalina y dopamina en plasma y orina humanos.

REF

RE59395

Σ

3x96

i

*

/

2-8°C

EU: IVD

CE

IBL INTERNATIONAL GMBH
 Flughafenstrasse 52a Phone: +49 (0)40-53 28 91-0 IBL@IBL-International.com
 D-22335 Hamburg, Germany Fax: +49 (0)40-53 28 91-11 www.IBL-International.com

TriCat TM ELISA (RE59395) ESPAÑOL

1. USO PROPUESTO
 Immunoensayo enzimático de diagnóstico cuantitativo in-vitro manual y automatizado para la determinación de adrenalina (epinefrina), noradrenalina (norepinefrina) y dopamina en plasma y orina humanos.

2. IMPLICACIONES CLÍNICAS
 Las catecolaminas adrenalina, noradrenalina y dopamina se sintetizan en la médula adrenal, el sistema nervioso simpático y en el cerebro. Ellas influyen prácticamente sobre todos los tejidos y están involucradas, junto con otros sistemas hormonales y neuronales en la regulación de una amplia variedad de procesos fisiológicos. Las catecolaminas y sus metabolitos metanefrina y normetanefrina pueden ser empleadas con propósitos diagnósticos ya que son secretadas en grandes cantidades en diversas patologías. En este contexto, el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades tumorales del sistema nervioso es de importancia vital. Esto es aplicable fundamentalmente al feocromocitoma, pero también al neuroblastoma y el ganglioneuroma. A causa de la extracción al inicio del ensayo, el cliente puede usar todo tipo de material de especies animales. Se puede aplicar con ratas, ratones y otros. La estructura química de las catecolaminas es idéntica en todos los animales.

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO
 El ensayo immunoensayo sobre fase sólida (ELISA) está basado en el principio del sandwich. Los pocillos se encuentran recubiertos con un anticuerpo de cabra anti-conejo. El anticuerpo dirigido hacia una región específica de la molécula del antígeno se agrega en forma líquida y se une a la placa de microtitulación durante la incubación. La muestra se incuba en el pocillo recubierto con el conjugado enzimático del segundo anticuerpo (E-Ab), dirigido hacia una región diferente de la molécula del antígeno. La intensidad del color desarrollado por la reacción del sustrato es proporcional a la concentración de antígeno. Los resultados de las muestras se pueden determinar directamente usando la curva estándar.

4. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Sólo para uso en diagnóstico in-vitro. Sólo para uso profesional.
- Antes de comenzar el ensayo lea las instrucciones completa y cuidadosamente. Use la versión válida del prospecto que se ofrece con el juego de reactivos. Asegúrese de entenderlo todo.
- En caso de daño severo del estuche del juego de reactivos, contacte por favor a IBL o a su suministrador en forma escrita antes de transcurrida una semana de la recepción. No utilice los componentes dañados en los ensayos pero guárdelos en forma segura para la reclamación.
- Tomar en cuenta el número de lote y la fecha de caducidad. No mezcle reactivos de diferentes lotes. No use reactivos vencidos.
- Cumpla con las buenas prácticas de laboratorio y las pautas de seguridad. Use bata de laboratorio, guantes de látex desechables y gafas de protección cuando sea necesario.
- Los reactivos de este juego que contienen materiales peligrosos pueden causar irritación ocular y cutánea. Vea MATERIAL SUMINISTRADO y las etiquetas para los detalles. Las Hojas de Datos de Seguridad de los materiales para este producto están disponibles en la página de internet de IBL o mediante solicitud directa a IBL.
- Los reactivos químicos y los reactivos preparados o usados deben ser tratados como desechos peligrosos de acuerdo con las regulaciones nacionales sobre bioseguridad y pautas de seguridad.
- El personal de limpieza debe ser capacitado por profesionales para el manejo de residuos peligrosos.
- Evite el contacto con la Solución de Parada. Puede causar irritaciones y quemaduras en la piel.
- Todos los reactivos de este juego que contienen suero o plasma humano han sido ensayados y encontrados negativos para anti-HIV I/II, HBsAg and anti-HCV. Sin embargo, la presencia de estos u otros agentes infecciosos no puede ser excluida en forma absoluta, por lo que estos reactivos deben ser tratados como potencialmente biopeligrosos a los efectos de su manipulación y eliminación.

Version 2015-07 1 / 14

TriCat TM ELISA (RE59395) ESPAÑOL

5. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD
 El juego de reactivos es enviado a temperatura ambiente y debe ser almacenado a 2-8 °C. Manteniéndose alejado del calor o de la luz solar directa. El almacenamiento y estabilidad de muestras y reactivos preparados se detalla en los capítulos correspondientes.

La placa de microtitulación es estable hasta la fecha de caducidad del juego de reactivos aún cuando la bolsa haya sido abierta, siempre que se vuelva a cerrar herméticamente y se almacene a 2-8 °C.

6. TOMA Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Plasma (EDTA)
 La liberación in-vivo de catecolaminas y metanefrinas está influenciada por varios medicamentos y alimentos. La Vitamina B, el café y los plátanos, los inhibidores de la MAO y la COMT así como los medicamentos relacionados con la hipertensión deben discontinuarse al menos 72 horas antes de la toma de muestra.

La separación de plasma de la muestra de sangre mediante centrifugación debe llevarse a cabo antes de transcurridas las 2 horas desde la toma de la muestra. La muestra debe almacenarse a 2-8°C.

Se deben observar las precauciones usuales para la venipuntura. Es importante preservar la integridad química de la muestra de sangre desde el momento de su toma hasta el ensayo. No emplee muestras fuertemente hemolizadas, lipémicas o ictericas. Las muestras que presenten turbidez deben centrifugarse antes de ensayar para eliminar cualquier material particulado.

Almacenamiento:	2-8°C	<-20°C (Alcúotas)	Manténgase alejado del calor o de la luz solar directa.
Estabilidad:	6 horas	1 mes	Evite congelar y descongelar repetidamente. Para su empaque las muestras deben congelarse.

Orina
 Se puede emplear tanto la orina espontánea como la acumulada en 24 h. El volumen total de la orina excretada durante un período de 24 h debe ser recogida y mezclada en un solo recipiente que contenga 10-15 mL de 6 N HCl como preservativo. Determine el volumen total para el cálculo de los resultados. **Mezcle y centrifuge las muestras antes de ensayarlas.**

Almacenamiento:	≤ -20°C (Alcúotas)	Manténgase alejado del calor o de la luz solar directa.
Estabilidad:	6 meses	Evite congelar y descongelar repetidamente.

7. MATERIALES SUMINISTRADOS

Los reactivos previstos en este kit son suficientes para la preparación (extracción) de 96 determinaciones individuales: 88 muestras de pacientes, 8 estándares y 2 controles. Cada extracción es suficiente para determinaciones individuales de adrenalina, noradrenalina y dopamina Immunoensayo.

La placa de microtitulación puede ser usado por los 3 análisis: Adrenalina, Noradrenalina y Dopamina.

Cantidad	Símbolo	Componente
3 x 12x8	MTP	Placa de Microtitulación Tras separables, revestido con IgG anti-conejo (cabra, policlonal).
1 x 6 x 2.5 mL	CAL A-F	Estándar A-F Adrenalina: 0, 1.5, 5.0, 15, 50, 150 ng/mL (0, 6, 27, 82, 273, 819 nmol/L) Noradrenalina: 0, 3.0, 15, 50, 150, 500 ng/mL (0, 30, 150, 296, 887, 2955 nmol/L) Dopamina: 0, 60, 180, 540, 2300, 11470 ng/mL (0, 392, 1175, 3819, 15014, 74876 nmol/L) Líquido para usar. Contenido: [-] Adrenalina [-] Noradrenalina, [-] Dopamina (activo biológicamente), y 0.1 M HCl
1 x 2 x 2.5 mL	CONTROL 1+2	Control 1+2 Líquido para usar. Contenido: [-] Adrenalina, [-] Noradrenalina, [-] Dopamina (activo biológicamente), 0.1 M HCl. Por concentraciones exactas vea las etiquetas de las ampollas o el certificado Control de Calidad.
3 x 400 µL	ENZCONJ/CONC	Conjugado Enzimático Concentrado (50x) Contenido: Streptavidin fosfatasa alcalina, Solución Buffer Tris, estabilizadores.
4 x	EXTRPLATE	Placa de Extracción (Placa de Microtitulación) De 24 pocillos cada uno. Revestido con gel de afinidad boratado.

Version 2015-07 2 / 14

Fuente: IBL International. Immunoensayo enzimático de diagnóstico cuantitativo para la determinación de adrenalina, noradrenalina dopamina en plasma y orina humanos.

Recuperado de: <https://n9.cl/1dnbz>

TriCat TM ELISA (RE59395) ESPAÑOL

Cantidad	Símbolo	Componente
2 x 60 mL	EXTRBUF	Solución Buffer de Extracción coloreado en rosado. Listo para usar. Contenido: 0.016 % Na ₂ S ₂ O ₈ .
8 x 1.25 mL	COMT LYO	COMT liofilizado Contenido: <i>Colo-co-metiltransferasa</i> (hígado porcino), NaH ₂ P ₄ .
6 x 1.25 mL	COENZ	Solución Coenzimática Listo para usar. Contenido: S-adenosil-L-metionina, estabilizadores.
3 x 3 mL	ENZBUF	Solución Buffer Enzimática Listo para usar. Contenido: Solución Buffer Tris, HCl, estabilizadores.
1 x 100 mL	RELEASESBUF	Solución Buffer de Separación Coloreado en Amarillo. Listo para usar. Contenido: 0.1 M HCl, indicador.
2 x 3.0 mL	ACYLREAG	Reactivo de Aclilación Listo para usar. Contenido: dimetilformamida, Etanol Precaución! Tóxico Altamente inflamable.
2 x 100 mL	WASHBUF CONC	Solución Buffer de Lavado Concentrado (10x) Contenido: Solución Buffer Tris, HCl, Tween, 0.2 % NaH ₂ P ₄ .
2 x 2 mL	COMT ADD	COMT Aditivo Contenido: plasma humano, estabilizadores, 0.01 % Timersol.
1 x 8.0 mL	ANTISERUM AD	Adrenalina Antisuero Coloreado en verde. Listo para usar. Contenido: anticuerpos contra Adrenalina (conejo), Solución buffer, estabilizadores.
1 x 8.0 mL	ANTISERUM NAD	Noradrenalina Antisuero Coloreado en azul. Listo para usar. Contenido: anticuerpos contra Noradrenalina (conejo), Solución buffer, estabilizadores.
1 x 8.0 mL	ANTISERUM DO	Dopamina Antisuero de color violeta Listo para usar. Contenido: anticuerpos contra Dopamina (conejo), Solución buffer, estabilizadores.
3 x 25 mL	PNPP SUBS	Solución de Substrato PNPP Listo para usar. Contenido: fosfato de p-nitrofenil (PNPP).
3 x 15 mL	PNPP STOP	Solución de Parada PNPP Listo para usar. Contenido: 1 M NaOH, 0.25 M EDTA.
9 x	FOIL	Folio Adhesivo

8. MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Micropipetas (Multipette Eppendorf o dispositivos similares, < 3 % CV). Volúmenes: 10; 10-100; 100-1000 µL
- Agitador orbital (200-900 rpm) (p.e. EAS 2/4, SLT)
- Vortex
- Micropipeta multicanal de 8 canales con reservorio de reactivo
- Frasco lavador, sistema automatizado o semi-automatizado de lavado de placas de microtitulación
- Fotómetro para placas de microtitulación capaz de leer absorbancias a 405 nm (longitud de onda de referencia 600-650 nm)
- Agua bidestilada o desionizada
- Toallas de papel, puntas para las micropipetas y cronómetro
- Tubos de desechables para la dilución de las muestras
- 0.1 M HCl, para la dilución de las muestras (Orina)

9. INDICACIONES PARA EL PROCEDIMIENTO

- Cualquier manipulación inadecuada de las muestras o modificación del procedimiento de ensayo puede alterar los resultados. Los volúmenes a pipetear, los tiempos de incubación, las temperaturas y etapas de pretratamientos tienen que ser efectuados estrictamente siguiendo las instrucciones. Use solo pipetas u otros dispositivos calibrados.
- Una vez comenzado el ensayo, se deben completar todas las etapas sin interrupción. Asegúrese de que los reactivos, materiales y dispositivos necesarios estén listos en el momento adecuado. Permita que todos los reactivos y muestras alcancen la temperatura ambiente (18-25 °C) y agite suavemente por rotación cada vial de reactivo líquido o muestra antes del uso. Evite la formación de espuma.
- Evite la contaminación de los reactivos, pipetas pocillos y/o tubos. Emplee una punta desechable nueva para cada reactivo, estándar o muestra. No intercambie las tapas. Tape siempre los viales que no estén en uso. No reutilice los pocillos, tubos o reactivos.

Version 2015-07 3 / 14

TriCat TM ELISA (RE59395) ESPAÑOL

- Se recomienda ensayar las muestras por duplicado para poder identificar errores potenciales de pipeteo.
- Emplee un esquema de pipeteo según las dimensiones de la placa. Un esquema de pipeteo que cubre tanto el pretratamiento de las muestras como el ensayo está disponible en la página inicial del sitio web de IBL.
- El tiempo de incubación afecta los resultados. Todos los pocillos deben manipularse en el mismo orden y respetando las secuencias de tiempo. Se recomienda el empleo de una micropipeta de 8 canales para pipetear las soluciones en todos los pozos.
- El lavado de las placas de microtitulación es importante. Los pocillos lavados inadecuadamente darán resultados erróneos. Se recomienda el empleo de una micropipeta multicanal o de un sistema de lavado automático. No deje secar los pocillos entre incubaciones. No dañe el recubrimiento de los pocillos durante los procesos de aspiración y enjuague. En el enjuague chequee que todos los pocillos estén totalmente llenos de buffer de enjuague y de que no queden residuos en ellos.
- La humedad afecta los pocillos y tubos recubiertos. No abra la bolsa hasta que alcance la temperatura ambiente. Los pocillos o tubos que no se empleen deben guardarse inmediatamente en la bolsa resellada con desecante.

10. PROCEDIMIENTO MANUAL

10.1. INSTRUCCIONES PARA LA PREPARACIÓN DEL ENSAYO

El contenido de los 3 x 96 determinaciones del kit, puede ser dividido en 2 ensayos separados.

Cantidades de gel visible puede ser separado de la superficie de extracción de la placa durante la duración del procedimiento. Estos no tiene ninguna influencia sobre los resultados de la prueba.

Debe evitarse en cualquier caso la contaminación con desinfectantes que contengan peróxido usados para la limpieza de superficies ó polvo de los equipos, como por ejemplo, VIRKON[®], VIRKON[®] es una marca registrada de DuPont.

10.1.1. Dilución de Muestras

Las muestras, cuya concentración se sospecha mayor a la del mayor estándar, deben ser diluidas como se indica a continuación:

Muestra	para ser diluido	con	Notas
Orina	> estándar más alto	agua bidest.	antes de la extracción
	> estándar más alto	0.1 N HCl	antes de la extracción

10.1.2. Extracción de Muestras, Estándares y Controles (Placa de Extracción) (versión manual)

- Pipetee 20 µL de cada Estándar, Control y muestra de orina y 500 µL de cada muestra de plasma en los pocillos respectivos de la placa de extracción. Adicione 500 µL de agua bidest. a todos los pocillos excepto a los de muestras de plasma para corregir las diferencias de volumen.
- Pipetee 1000 µL de Solución Buffer de Extracción en cada pocillo.
- Cubra la placa con un folio adhesivo. Extraiga 30 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (600-900 rpm). Durante la extracción la superficie del líquido debe mojar la lámina adhesiva, pero el nivel del líquido no debe exceder los 2/3 del pozo. Las salpicaduras no afectan los resultados.
- Remueva el folio adhesivo. Vacíe la placa inmediatamente y elimine el líquido residual sobre una toalla de papel.
- Pipetee 2 mL de agua bidest. en cada pocillo.
- Cubra la placa con un nuevo folio adhesivo. Agite 5 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (600-900 rpm). Las salpicaduras no afectan los resultados.
- Remueva el folio adhesivo. Vacíe la placa inmediatamente y elimine el líquido residual sobre una toalla de papel. Remover el líquido totalmente.
- Pipetee 150 µL de Solución Buffer de Extracción en cada pocillo. A cada pocillo adicione 50 µL de Reactivo de Aclilación. Mezcle inmediatamente luego de pipetear.
- Extraiga 20 min a TA (18-25°C) (sin lámina adhesiva) en un agitador orbital (400-600 rpm).

Version 2015-07 4 / 14

TriCat TM ELISA (RE59395) ESPAÑOL

- Vacíe la placa inmediatamente y elimine el líquido residual sobre una toalla de papel. Remover el líquido totalmente.
- Pipetee 2 mL de agua bidest. en cada pocillo.
- Cubra la placa con un nuevo folio adhesivo. Agite 5 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (600-900 rpm). Las salpicaduras no afectan los resultados.
- Remueva el folio adhesivo. Vacíe la placa inmediatamente y elimine el líquido residual sobre una toalla de papel. Remover el líquido totalmente.
- Pipetee 300 µL de Solución Buffer de Separación en cada pocillo.
- Agite 30 min a TA (18-25°C) (sin lámina adhesiva) en un agitador orbital (400-600 rpm). Las muestras preparadas deben ser ensayadas en el mismo día. De no ser esto posible, guarde la placa de extracción a 2-8°C cubierta con un folio adhesivo durante la noche.

Importante para la medición de Dopamina.
La dilución de los estándares y controles extraídos debe realizarse en un tubo extra antes de pipetear los pocillos de la Placa de Microtitulación. Así como las muestras de orina prediluidas.
Por lo tanto diluya los Estándares, Controles y muestras de orina extraídos 1:51 con la Solución Buffer de Separación en tubos desechables. (10 µL muestras extraídas + 500 µL de Solución Buffer de Separación).
Las muestras extraídas de plasma no requiere de esta dilución.

10.1.3. Preparación de componentes concentrados

Los volúmenes declarados más abajo son para un ensayo con 3 x 6 tiras (3 x 48 determinaciones)

Diluya / disuelva	Componente	con	Diluyente	Relación	Notas	Almacena- miento	Estabilidad
75 mL	WASHBUF CONC	675 mL	agua bidest.	1:10	Mezcle vigorosamente.	2-8°C	4 semanas
300 µL	ENZCONJ CONC	15 mL	WASHBUF (diluido)	1:51	Prepare fresco y use sólo una vez. Mezcle sin formar espuma.	18-25°C	5 horas

10.2. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO (versión manual)

10.2.1. Preparación de la Solución Enzimática COMT

La Solución Enzimática de la COMT debe ser fresca, prepárela antes del uso.
Disuelva cada componente de COMT liofilizado del kit en 1.25 mL de agua bidestilada y mezcle el COMT disuelto*
Luego pipetee 1.25 mL de Solución Coenzimática seguida por 1.25 mL de Solución Buffer Enzimática y 0.40 mL de Aditivo COMT en cada frasco mezclado hasta un volumen final de 4.15 mL de COMT Solución Enzimática por frasco.
Mezcle tres (3) frascos para realizar 48 determinaciones de adrenalina y 48 determinaciones de noradrenalina y 48 determinaciones de dopamina. La solución puede presentar turbidez. Mezcle sin formar espuma. La solución COMT es estable a temperatura ambiente por 1 hora.
* Si solamente se necesita una alícuota de COMT, retire el volumen necesario del frasco de COMT. El resto de la solución de COMT debe ser congelada en forma inmediata a -20°C en alícuotas. En estas condiciones la solución COMT es estable por 1-2 meses.

10.2.2. Derivados Enzimáticos de Muestras, Estándares y Controles (Placa de Microtitulación)

Si pipetea con desplazamientos positivos, devuelva el líquido residual de la punta de la pipeta a los correspondientes pocillos de extracción de la placa, de otro modo podría no haber suficiente extracto para la determinación de los otros análisis.
Es necesario mantener la placa de extracción en una posición inclinada.
Antes de la utilización de las placas de microtitulación, definir y etiquetar los pocillos de Adrenalina, Noradrenalina y Dopamina.

Version 2015-07 5 / 14

Fuente: IBL International. Inmunoensayo enzimático de diagnóstico cuantitativo para la determinación de adrenalina, noradrenalina dopamina en plasma y orina humanos.
Recuperado de: <https://n9.cl/1dnbz>

TriCat TM ELISA (RE59395) ESPAÑOL

10.2.3. Para la investigación de tejido homogéneo y sobrenadantes de cultivo celular se puede dar las siguientes recomendaciones generales:
El trabajo con sobrenadante de cultivo celular dependerá de la matriz así como de las concentraciones esperadas.
Según el protocolo de las muestras de orina (extracción al menos de 20 µL de sobrenadante) se puede esperar una sensibilidad para la adrenalina de 0.3 ng/mL, de la noradrenalina de 0.6 ng/mL y de dopamina de 5 ng/mL para la muestra diluida.
En el caso de matrices con adición de suero (FCS) utilice el protocolo de plasma (extracción de 500 µL de sobrenadante). (Véase el PRUEBAS FUNCIONALES en el punto 16)
Para la obtención de tejidos homogéneos no usar el ácido perclórico homogenado. Para más información preguntar a IBL.

10.2.4. Adrenalina para orina y plasma

- Pipetee 75 µL de Solución Enzimática COMT recién preparada en cada pocillo de la Placa de Microtitulación. Sacuda brevemente la placa.
- Pipetee 100 µL de cada Estándar, Control y muestra extraída en cada pocillo respectivo. Durante este paso mantenga las puntas directamente sobre la solución COMT. El color cambia a rosa. Sacuda brevemente la placa.
- Pipetee 50 µL de Antisuero de Adrenalina (color verde) en cada pocillo.
- Cubra la placa con un folio adhesivo. Incube 120 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (400-600 rpm).

10.2.5. Noradrenalina para orina y plasma

- Pipetee 25 µL de Solución Enzimática COMT recién preparada en cada pocillo de la Placa de Microtitulación. Sacuda brevemente la placa.
- Pipetee 25 µL de cada Estándar, Control y muestra extraída en cada pocillo respectivo. Durante este paso mantenga las puntas directamente sobre la solución COMT. El color cambia a rosa. Sacuda brevemente la placa.
- Pipetee 50 µL de Antisuero de Noradrenalina (color azul) en cada pocillo.
- Cubra la placa con un folio adhesivo. Incube 120 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (400-600 rpm).

10.2.6. Dopamina en orina y plasma

- Pipetee 75 µL del preparado fresco de la Solución Enzimática COMT en los respectivos pocillos de la Microplaca. Agitar brevemente.
- Para orina:** Pipetee 100 µL de Estándares, Controles y muestra de orina pre-diluidos (1:51) y extraídos en los respectivos pocillos.
Durante este paso pipetee directamente la solución COMT. El color cambia a rosa, agitar brevemente.
Para plasma: Pipetee 100 µL de Estándares, Controles pre-diluidos (1:51) y extraídos y muestra de plasma puro y extraída en los respectivos pocillos.
Durante este paso pipetee directamente sobre la solución COMT. El color cambia a rosa, agitar brevemente.
- Pipetee 50 µL de Antisuero de Dopamina (color violeta) en cada pocillo.
- Cubra la placa con folio adhesivo. Incubar 120 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (400-600 rpm)

Version 2015-07 6 / 14

TriCat TM ELISA (RE59395) ESPAÑOL

10.2.7. ELISA
El siguiente procedimiento debe ser realizado para Adrenalina, Noradrenalina y Dopamina.


- Remueva el folio adhesivo. Descargue la solución de incubación. Lavar la placa 6 x con 250 – 300 µL del Buffer de Lavado. Remueva el exceso de solución golpeando cuidadosamente la placa invertida sobre una toalla de papel.
- Pipetee 100 µL de Conjugado Enzimático preparado fresco en cada pocillo
- Cubra la placa con un nuevo folio adhesivo. Incube 60 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (400-600 rpm).
- Remueva el folio adhesivo. Descargue la solución de incubación. Lavar la placa 6 x con 250 – 300 µL del Buffer de Lavado. Remueva el exceso de solución golpeando cuidadosamente la placa invertida sobre una toalla de papel.
- Para la adición de la Solución de Substrato y de Paro utilice, de ser posible, una pipeta de 8 canales. La adición de sustrato y solución de paro debe llevarse a cabo en intervalos de tiempo iguales. Evite la formación de burbujas pipeteando con sobrevolumen.
- Pipetee 200 µL de Solución de Substrato PNPP en cada pocillo.
- Incube 40 min a TA (18-25°C) (sin folio adhesivo) en un agitador orbital (400-600 rpm).
- Detenga la reacción del sustrato adicionando 50 µL de Solución de Paro PNPP en cada pocillo. Mezcle el contenido brevemente agitando cuidadosamente la placa.
- Mida la densidad óptica con un fotómetro a 405 nm (Longitud de onda de referencia: 620-650 nm) durante 60 min después de pipetear la Solución de Paro. No se deben observar burbujas de aire.

11. PROCEDIMIENTO AUTOMÁTICO

11.1. INSTRUCCIONES PARA LA PREPARACIÓN DEL ENSAYO (versión automática)

El contenido de los 3 x 96 determinaciones del kit, puede ser dividido en 2 ensayos separados.

 Cantidades de gel visible puede ser separado de la superficie de extracción de la placa durante la duración del procedimiento. Estos no tiene ninguna influencia sobre los resultados de la prueba.

 Debe evitarse en cualquier caso la contaminación con desinfectantes que contengan peróxido usados para la limpieza de superficies ó polvo de los equipos, como por ejemplo, VIKRON®, VIKRON® es una marca registrada de DuPont.

11.1.1. Dilución de Muestras
Las muestras, cuya concentración se sospecha mayor a la del mayor estándar, deben ser diluidas como se indica a continuación:

Muestra	para ser diluido	con	Notas
Plasma	> estándar más alto	agua bidest.	antes de la extracción
Orina	> estándar más alto	0.1 N HCl	antes de la extracción

Version 2015-07 7 / 14

TriCat TM ELISA (RE59395) ESPAÑOL

11.1.2. Extracción de Muestras, Estándares y Controles (Placa de Extracción) (versión automática)

- Pipetee 30 µL de cada Estándar, Control y muestra de orina y 750 µL de cada muestra de plasma en los pocillos respectivos de la placa de extracción. Adicione 750 µL de agua bidest. a todos los pocillos excepto a los de muestras de plasma para corregir las diferencias de volumen.
- Pipetee 1000 µL de Solución Buffer de Extracción en cada pocillo.
- Cubra la placa con un folio adhesivo. Extraiga 30 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (600-900 rpm). Durante la extracción la superficie del líquido debe mojar la lámina adhesiva, pero el nivel del líquido no debe exceder los 2/3 del pozo. Las salpicaduras no afectan los resultados.
- Remueva el folio adhesivo. Vacie la placa inmediatamente y elimine el líquido residual sobre una toalla de papel.
- Pipetee 2 mL de agua bidest. En cada pocillo.
- Cubra la placa con un nuevo folio adhesivo. Agite 5 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (600-900 rpm). Las salpicaduras no afectan los resultados.
- Remueva el folio adhesivo. Vacie la placa inmediatamente y elimine el líquido residual sobre una toalla de papel. Remover el líquido totalmente.
- Pipetee 150 µL de Solución Buffer de Extracción en cada pocillo. En cada pocillo adicione 50 µL de Reactivo de Acilación. Mezcle inmediatamente luego de pipetear.
- Extraiga 20 min a TA (18-25°C) (sin lámina adhesiva) en un agitador orbital (400-600 rpm).
- Vacía la placa inmediatamente y elimine el líquido residual sobre una toalla de papel. Remover el líquido totalmente.
- Pipetee 2 mL de agua bidest. En cada pocillo.
- Cubra la placa con un nuevo folio adhesivo. Agite 5 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (600-900 rpm). Las salpicaduras no afectan los resultados.
- Remueva el folio adhesivo. Vacie la placa inmediatamente y elimine el líquido residual sobre una toalla de papel. Remover el líquido totalmente.
- Pipetee 450 µL de Solución Buffer de Separación en cada pocillo.
- Agite 30 min a TA (18-25°C) (sin lámina adhesiva) en un agitador orbital (400-600 rpm).

Las muestras preparadas deben ser ensayadas en el mismo día. De no ser esto posible, guarde la placa de extracción a 2-8°C cubierta con un folio adhesivo durante la noche.

Importante para la medición de Dopamina.
La dilución de los estándares y controles extraídos debe realizarse en un tubo extra antes de pipetear los pocillos de la Placa de Microtitulación. Así como las muestras de orina prediluidas.

 Por lo tanto diluya los Estándares, Controles y muestras de orina extraídos 1:51 con la Solución Buffer der Separación en tubos desechables. (10 µL muestras extraídas + 500 µL de Solución Buffer der Separación).
Las muestras extraídas de plasma no requiere de esta dilución.

11.1.3. Preparación de componentes concentrados

 Los volúmenes declarados más abajo son para un ensayo con 3 x 6 tiras (3 x 48 determinaciones)

Diluya / disuelva	Componente	con	Diluyente	Relación	Notas	Almacenamiento	Estabilidad
75 mL	WASHBUF CONC	675 mL	agua bidest.	1:10	Mezcle vigorosamente.	2-8°C	4 semanas
380 µL	ENZCONJ CONC	19 mL	WASHBUF (diluido)	1:51	Prepara fresco y use sólo una vez. Mezcle sin formar espuma.	18-25°C	5 horas

11.2. PROCEDIMIENTO DE ENSAYO (versión automática)

11.2.1. Preparación de la Solución Enzimática COMT

 La Solución Enzimática de la COMT debe ser fresca, prepararlo antes del uso.

Version 2015-07 8 / 14

Fuente: IBL International. Inmunoensayo enzimático de diagnóstico cuantitativo para la determinación de adrenalina, noradrenalina dopamina en plasma y orina humanos.
Recuperado de: <https://n9.cl/1dnbz>

TriCat TM ELISA (RE59395) ESPAÑOL

Disuelva cada componente de COMT liofilizado del kit en 1.25 mL de agua bidestilada y mezcle el COMT disuelto.
Luego pipetee 1.25 mL de Solución Coenzimática seguida por 1.25 mL de Solución Buffer Enzimática y 0.40 mL de Aditivo COMT en cada frasco mezclado hasta un volumen final de 4.15 mL de COMT Solución Enzimática por frasco.
Mezcle tres (3) frascos para realizar 48 determinaciones de adrenalina y 48 determinaciones de noradrenalina y 48 determinaciones de dopamina. La solución puede presentar turbidez. Mezcle sin formar espuma. La solución COMT es estable a temperatura ambiente por 1 hora.
^a Si solamente se necesita una alícuota de COMT, retire el volumen necesario del frasco de COMT. El resto de la solución de COMT debe ser congelada en forma inmediata a -20°C en alícuotas. En estas condiciones la solución COMT es estable por 1-2 meses.

11.2.2. Para la investigación de tejido homogéneo y sobrenadantes de cultivo celular se puede dar las siguientes recomendaciones generales:
El trabajo con sobrenadante de cultivo celular dependerá de la matriz así como de las concentraciones esperadas. Según el protocolo de las muestras de orina (extracción al menos de 20 µL de sobrenadante) se puede esperar una sensibilidad para la adrenalina de 0.3 ng/mL, de la noradrenalina de 0.6 ng/mL y de dopamina de 5 ng/mL para la muestra diluida.
En el caso de matrices con adición de suero (FCS) utilice el protocolo de plasma (extracción de 500 µL de sobrenadante). (Véase el PRUEBAS FUNCIONALES en el punto 16)
Para la obtención de tejidos homogéneos no usar el ácido perclórico homogenizado. Para más información preguntar a IBL.

11.2.3. Derivados Enzimáticos de Muestras, Estándares y Controles (Placa de Microtitulación)

11.2.4. Adrenalina en plasma y orina

- Pipetee 75 µL COMT Solución Enzimática recién preparada en cada pocillo de la Placa de Microtitulación. Agitar la placa 1 min.
- Pipetee 100 µL de cada Estándar, Control y muestra extraída en cada pocillo respectivo. Agitar la placa 1 min.
- Pipetee 50 µL de Antisuero de Adrenalina (color verde) en cada pocillo.
- Cubra la placa con un folio adhesivo. Incube 120 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (400-600 rpm).

11.2.5. Noradrenalina en plasma y orina

- Pipetee 25 µL Solución Enzimática COMT recién preparada en cada pocillo de la Placa de Microtitulación. Agitar la placa 1 min.
- Pipetee 25 µL de cada Estándar, Control y muestra extraída en cada pocillo respectivo. Agitar la placa 1 min.
- Pipetee 50 µL de Antisuero de Noradrenalina (color azul) en cada pocillo.
- Cubra la placa con un folio adhesivo. Incube 120 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (400-600 rpm).

11.2.6. Dopamina en plasma y orina

- Pipetee 75 µL del preparado fresco de la Solución Enzimática COMT en los respectivos pocillos de la Microplaca. Agitar brevemente.
- Para orina: Pipetee 100 µL de Estándares, Controles y muestra de orina diluidos (1:51) y extraídos en los respectivos pocillos. Durante este paso pipetee directamente la solución COMT. El color cambia a rosa, agitar brevemente.
Para plasma: Pipetee 100 µL de Estándares, Controles diluidos (1:51) y extraídos y muestra de plasma puro en los respectivos pocillos. Durante este paso pipetee directamente sobre la solución COMT. El color cambia a rosa, agitar brevemente.
- Pipetee 50 µL de Antisuero de Dopamina (color violeta) en cada caso
- Cubra la placa con folio adhesivo. Incubar 120 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (400-600 rpm).

Version 2015-07 9 / 14

TriCat TM ELISA (RE59395) ESPAÑOL

11.2.7. ELISA
El siguiente procedimiento debe ser realizado para Adrenalina, Noradrenalina y Dopamina.

- Descargue la solución de incubación. Lave la placa 6 x con 250-300 µL de Solución Buffer de Lavado diluida.
- Pipetee 100 µL de Conjugado Enzimático en cada pocillo.
- Cubra la placa con un folio adhesivo. Incube 60 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (400-600 rpm).
- Descargue la solución de incubación. Lave la placa 6 x con 250-300 µL de Solución Buffer de Lavado diluida.
- La adición de Solución de Substrato y de Parada debe llevarse a cabo en intervalos de tiempo iguales.
- Pipetee 200 µL de Solución de Substrato PNPP en cada pocillo.
- Incube 40 min a TA (18-25°C) en un agitador orbital (400-600 rpm). Si la temperatura del automático supera los 25°C, acortar el tiempo de incubación a 30 min para evitar la señal de desborde.
- Detenga la reacción del sustrato adicionando 50 µL de Solución de Parada PNPP en cada pocillo. Mezcle el contenido brevemente agitando cuidadosamente la placa.
- Mida la densidad óptica con un fotómetro a 405 nm (Longitud de onda de referencia: 620-650 nm) durante 60 min después de pipetear la Solución de Parada.

12. CONTROL DE CALIDAD
Los resultados son válidos solamente si el ensayo ha sido realizado de acuerdo a las instrucciones. Además el usuario debe atenderse a las Prácticas de Buen Laboratorio (GLP) u otras normas o leyes comparables. Para la determinación del diagnóstico, el usuario y/o el laboratorio deben de tener un sistema validado de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP). Los valores de los controles del ensayo deben encontrarse dentro de los rangos de aceptación indicados en las etiquetas y el Certificado QC. Si este criterio no se cumple, el ensayo no es válido y debe repetirse. Cada laboratorio debe emplear muestras conocidas como controles adicionales. Se recomienda participar en los programas de aseguramiento de la calidad adecuados.
En caso de detectarse alguna desviación, se debe verificar lo siguiente: Fecha de vencimiento de los reactivos, condiciones de almacenamiento, pipetas, dispositivos, condiciones de incubación y método de lavado.

13. CÁLCULO DE RESULTADOS
La DO obtenida de los estándares (eje-y, lineal) se plotean contra su concentración (eje-x, logarítmico) ya sea en papel semi-logarítmico o empleando un método automático. Se logran buenos ajustes empleando cubic spline, Logístics 4 Parámetros o Logit-Log.
Para el cálculo de la curva estándar, utilice las mediciones obtenidas de los estándares.
La concentración de los Controles y de las muestras de orina se pueden leer directamente de la curva estándar correspondiente.
Los resultados de Adrenalina y Noradrenalina en las muestras de plasma, para expresarse en ng/mL se deben dividir por 25. Este factor de corrección corresponde a la diferencia antes mencionados durante el procedimiento de extracción y de la diferencia en el pipeteo del volumen de los estándares y muestras extraídas (Para la versión manual 20 µL de estándar versus 500 µL de plasma – versión automática: 30 µL de estándares versus 750 µL de plasma). Para expresar en pg/mL multiplique por 1000.
Los resultados de Dopamina en las muestras de plasma, se deben dividir por 1275. Este factor de corrección corresponde a la diferencia antes mencionado durante el procedimiento de extracción y la predilución 1:51 de los estándares. Para expresar en pg/mL multiplique por 1000.
En caso de muestras diluidas los valores deberán multiplicarse por el factor de dilución correspondiente.
Las muestras que presenten una señal mayor a la del estándar mayor tienen que ser diluidas según se describe en INSTRUCCIONES PARA LA PREPARACIÓN DEL ENSAYO y analizadas nuevamente.
Calcule la excreción de 24h para cada muestra de orina: µg/24h = µg/L x L/24h

Version 2015-07 10 / 14

TriCat TM ELISA (RE59395) ESPAÑOL

Conversión:
1000 pg/mL = 1 ng/mL
Adrenalina (µg/L) x 5.458 = nmol/L
Noradrenalina (µg/L) x 5.911 = nmol/L
Dopamina (µg/L) x 6.528 = nmol/L

Curva de Calibración Típica
(Ejemplo. No usar para el cálculo)

Estándar	Adrenalina (ng/mL)	DO _{405nm}	DO/DO _{max} (%)
A	0.0	0.068	3.1
B	1.5	0.167	6.8
C	5.0	0.368	12.8
D	15	0.795	27.6
E	50	1.579	54.8
F	150	2.881	100

Estándar	Noradrenalina (ng/mL)	DO _{405nm}	DO/DO _{max} (%)
A	0	0.223	0.0
B	5	0.322	6.7
C	15	0.539	21.3
D	50	0.984	51.2
E	150	1.438	81.8
F	500	1.708	100

Estándar	Dopamina (ng/mL)	DO _{405nm}	DO/DO _{max} (%)
A	0	0.135	0
B	60	0.287	8.4
C	180	0.500	15.3
D	585	1.113	41.0
E	2300	2.105	82.5
F	11470	2.522	100

14. VALORES ESPERADOS
Los resultados por sí solos no deben ser la única razón para un tratamiento terapéutico, sino que deben correlacionarse con observaciones clínicas y ensayos de diagnóstico.
Los sujetos aparentemente sanos presentan los siguientes valores. (5% - 95% percentil)
Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores normales.

	Orina		Plasma	
	µg/d	nmol/d	pg/mL	nmol/L
Adrenalina	< 20	< 110	< 125	< 0.68
Noradrenalina	< 90	< 535	< 600	< 3.55
Dopamina	< 600	< 3917	< 100	< 0.65

15. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO
La toma de la muestra y almacenamiento tiene un efecto importante en los resultados. Vea TOMA DE MUESTRA Y ALMACENAMIENTO para mayores detalles.
Para reactividad cruzada, vea PRUEBAS FUNCIONALES.
Los siguientes componentes sanguíneos no tienen un efecto significativo (+/-20%) en los resultados hasta las concentraciones declaradas:
Hemoglobina 2.0 mg/mL
Bilirrubina 1.0 mg/mL
Triglicéidos 91 mg/mL

Version 2015-07 11 / 14

Fuente: IBL International. Inmunoensayo enzimático de diagnóstico cuantitativo para la determinación de adrenalina, noradrenalina dopamina en plasma y orina humanos.
Recuperado de: <https://n9.cl/1dnbz>

TriCat TM ELISA (RE59395) ESPAÑOL

17. PROTOCOLO CORTO TRICAT (Adrenalina, Noradrenalina y Dopamina) ELISA

Tiempo Total de Ensayo	~ 7 horas
Muestra	EDTA Plasma, Orina
Extracción y Acilación	
Estándares, Controles y muestra de orina	20 µL (Versión automatizada 30 µL)
Muestra de plasma	500 µL (Versión automatizada 750 µL)
Agregado de agua bidestilada a los Estándares, Controles y Muestras de Orina	500 µL (Versión automatizada 750 µL)
Solución Buffer de Extracción	1 mL
Incubación	30 min; TA; en un agitador orbital (600-900 rpm)
Lave con agua bidest.	2 mL
Incubación	5 min; TA; en un agitador orbital (600-900 rpm)
Solución Buffer de Extracción	150 µL
Reactivo de Acilación	50 µL
Incubación	20 min; TA; en un agitador orbital (400-600 rpm)
Lave con agua bidest.	2 mL
Incubación	5 min; TA; en un agitador orbital (600-900 rpm)
Solución Buffer de Separación	300 µL (Versión automatizada: 450 µL)
Incubación	30 min; TA; en un agitador orbital (400-600 rpm)

Se puede almacenar la Placa de Extracción cubierta a 2°-8°C para el día siguiente.

Version 2015-07 13 / 14

TriCat TM ELISA (RE59395) ESPAÑOL

Sólo para Dopamina:
Diluya los estándares extraídos, controles y muestras de orina con la Solución Buffer de Separación en tubos desechables.

10 µL + 500 µL

Ahora las muestras están listas para el ELISA

Procedimiento de la Placa de Microtitulación

	Adrenalina	Noradrenalina	Dopamina
Solución Enzimática COMT	75 µL	25 µL	75 µL
Estándares de Dopamina, Controles y Muestras de Orina precluidos e extraídos.	-	-	100 µL
Muestras de Plasma de Dopamina extraídas (sin predilución)	-	-	100 µL
Estándar, Controles y muestras extraída (orina y plasma)	100 µL	25 µL	-
Antisuero	50 µL (verde)	50 µL (azul)	50 µL (violeta)
Incubación	120 min; TA; en un agitador orbital (400-600 rpm)		
Lavado	6 x 300 µL		
Conjugado Enzimático	100 µL		
Incubación	60 min; TA; en un agitador orbital (400-600 rpm)		
Lavado	6 x 300 µL		
Sustrato	200 µL		
Incubación	40 min (30 min versión automatizada); TA; en un agitador orbital (400-600 rpm)		
Solución de Paro	50 µL		
Mida la Densidad Óptica	durante 60 min. a 405 nm / 620-650 nm		

18. REFERENCIAS SOBRE EL PRODUCTO

- Rust MB, Faulhaber J et. al. Neurogenic Mechanisms Contribute to Hypertension in Mice with Disruption of the K-Cl Cotransporter KCC3. *Circulation Research*, January (2006)
- Creces J., Appleton Ch.: Catecholamines and their Metabolites: Evaluation of a commercial ELISA. *Clin. Biochem., QML Pathology, Brisbane QLD* (2004)
- Adams, J. M. et al. Effects of 17β-Estradiol on hypoglycemia-induced increases in plasma catecholamines in the rat. *Poster Society for Neuroscience, Annual Meeting, New Orleans* (2003)
- Westermann J, Hubel W, Kaiser N, Salewski L. Simple, rapid and sensitive determination of epinephrine and norepinephrine in urine and plasma by non-competitive enzyme immunoassay, compared with HPLC method. *Clin. Lab.*, 48: 61-71 (2002)

Version 2015-07 14 / 14

Fuente: IBL International. Inmunoensayo enzimático de diagnóstico cuantitativo para la determinación de adrenalina, noradrenalina dopamina en plasma y orina humanos.
Recuperado de: <https://n9.cl/1dnbz>

Anexo 6. Inserto para la determinación cuantitativa de Enolasa neuroespecífica.

Inmunoensayo

REF CMB1102

100 pruebas

Micropartículas NSE CLIA

Este ensayo se basa en un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (Micropartículas CLIA) para la determinación cuantitativa de NSE (Enolasa específica de neuronas) en suero humano.

Todas las marcas registradas son propiedad de sus respectivos dueños.

Clave para los símbolos gráficos utilizados

	código de lote		uso para
	fabricante		Contenido suficiente para <n> pruebas
	dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		limitación de temperatura
	número de catálogo		consulte instrucciones para uso
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		

	OBELIS S.A. Bd. Général Wahnis, 53 1030 Brussels Belgium	
	AUTOBIO DIAGNOSTICS CO., LTD No.87 Jingbei Yi Road National Eco-Tech Development Area Zhengzhou China 450016	

Para asistencia técnica por favor contáctese con nosotros en Inglés a: Email: customerservice@autobio.com.cn
 Contáctese con los distribuidores locales para todas las preguntas relacionadas a los productos en su lenguaje local

April 25, 2018 / Autobio Diagnostics

Introducción

La enzima glucolítica enolasa (2-fosfo-D-glicerato hidrolásica) existe como varias isoenzimas dimericas (ou, pf, iv y yy) compuestas por tres subunidades distintas, a, B y y. Se encuentran tres isoenzimas en el cerebro humano: ou, iv y yy¹. Las isoenzimas ou y yy-enolasa también se conocen como enolasas específicas de neuronas (NSE), ya que estas isoenzimas se detectaron inicialmente en neuronas y células neuroendocrinas.

Los niveles elevados de NSE se encuentran comúnmente en pacientes con tumores malignos con diferenciación neuroendocrina, especialmente cáncer de pulmón de células pequeñas y neuroblastoma²⁻⁴. Aproximadamente el 20% del cáncer de pulmón es cáncer de pulmón de células pequeñas. Los pacientes con cáncer de pulmón de células pequeñas muestran diversas proporciones de isoenzima ou y yy⁵.

Se ha informado que la NSE es un marcador diagnóstico útil para el cáncer de pulmón, neuroblastoma, melanoma, seminoma⁶⁻⁸ y en la lesión del sistema nervioso central. Además de lo anterior, la NSE puede ser una herramienta valiosa en el seguimiento del efecto de la quimioterapia del cáncer de pulmón de células pequeñas, en la evaluación pronóstica de pacientes con cáncer de pulmón de células pequeñas y en el diagnóstico diferencial entre cáncer de pulmón de células y células no pequeñas, cáncer de pulmón.

Principio de medición

Este ensayo se basa en el método de sándwich de dos pasos. En el primer paso, se agregan la muestra, el diluyente de muestra y las micropartículas recubiertas anti-NSE. Durante la incubación, la NSE presente en la muestra se une a los anticuerpos que recubren las micropartículas; después del lavado, en el segundo paso, los anticuerpos NSE unidos a las micropartículas se unen reaccionar con anticuerpos ligados a enzimas. Después del segundo lavado, se genera un complejo entre las micropartículas, la NSE dentro de la muestra y los anticuerpos ligados a enzimas por reacciones inmunológicas. Luego se agrega el sustrato quimioluminiscente y se cataliza por este complejo, lo que resulta en una reacción quimioluminiscente. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como RLU. La RLU es proporcional a la concentración de NSE en la muestra del paciente.

Materiales provistos

- Calibradores. En la siguiente tabla se muestran 6 calibradores lotificados A a F con las concentraciones aproximadas de NSE correspondientes. La matriz es una solución tampón de fosfato (PBS) que contiene BSA (albumina de suero bovino). Contiene 0.02% de conservante de azida sódica. Reconstituya cada calibrador lotificado con 1,0 ml de agua destilada. Deje reposar el material reconstituido durante al menos 5 minutos. Luego invierte el calibrador para mezclarlo completamente.

Calibrador	Concentración NSE (U/ml)
A	0
B	5
C	25
D	50
E	100
F	300

- Paquete de Reactivos. Paquete de reactivos proporcionado listo para usar.
 - Conjugado de enzima. Cada vial contiene 11,0 ml de anti-NSE monoclonal de ratón marcado con HRP (peroxidasa de rábano picante) en PBS que contiene BSA

(albumina de suero bovino). Contiene 0.2% de conservante ProCin 3000.

- Solución de Micropartículas
 - Vial que contiene 2,3 ml de micropartículas recubiertas monoclonales de ratón en PBS que contiene caseína. Contiene 0.02% de azida sódica y 0,1% de conservantes ProCin 3000.
- Diluyente de muestra.
 - Vial con 5,5 ml de solución salina fisiológica. Contiene 0.1% de conservante ProCin 3000.

Analizadores de ensayo en los que se puede utilizar el kit

- Autolumo A2000
- Autolumo A2000 Plus
- Inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (Micropartículas CLIA) está diseñado para su uso en Analizador de Ensayos, que es Autolumo A2000 o Autolumo A2000 Plus.

Materiales Requeridos pero no provistos

- Analizador de ensayo
- Recipientes) de reacción para muestra reactivo de reacción
- Copa(s) de muestra o tubo(s) para contener muestra
- Diluyente Universal
- Sustrato Quimioluminiscente
- Sistema de lavado para el lavado de la aguja de pipeta.
- Tampón de lavado utilizado en el procesamiento de lavado
- Agua destilada o desionizada.

Trazabilidad Metrológica De Calibradores

El mensurando o analito en calibradores NSE es rastreable a los calibradores de trabajo del fabricante. El proceso de trazabilidad se basa en la norma EN ISO 17511. Los valores asignados se establecieron utilizando muestras representativas del mismo lote de calibrador y son específicos de los metodologías de ensayo de los reactivos. Los valores asignados por otras metodologías pueden ser diferentes. Tales diferencias, si están presentes, pueden ser causadas por un sesgo inter-método.

Advertencias y Precauciones

Información de salud y seguridad

Para los calibradores, solución de micropartículas, conjugado enzimático, que contienen 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-urilo y 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, se aplican las siguientes declaraciones

H313 Causa irritación de la piel.
 H319 Provoca irritación ocular grave.
 H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
 H417 Nocivo para la vida acuática con efectos de larga duración.

P261 Evitar respirar polvo/aerosol/gas/vapor/neblina/spray.
 GHS 07
 Advertencia

P280 Usar guantes protectores/indumentaria de protección/protección ocular/protección facial.
 P273 Evitar su liberación al medio ambiente.
 P506-H351-H338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuague cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quite las lentes de contacto, si

están presentes y son fáciles de hacer. Continuar enjuagando.

P321 Tratamiento específico (ver en esta etiqueta).
 P501 Eliminar el contenido del recipiente de acuerdo con las regulaciones locales (regionales/nacionales)/internacionales.

- Para uso profesional solamente.
- Siga las instrucciones de uso con cuidado. La confiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si hay alguna desviación de las instrucciones en este manual de uso.
- Consulte la hoja de datos de seguridad del material y la etiqueta del producto para conocer los peligros químicos que pueden estar presentes en este ensayo.
- Maneje los materiales y desechos potencialmente contaminados de manera segura de acuerdo con los requisitos locales.
- Este ensayo contiene materiales de origen animal. Los componentes bovinos se originan en países donde no se ha notificado encefalopatía espongiforme (EEB).
- Algunos reactivos que contienen ProCin 300[®] pueden causar sensibilización por contacto con la piel. Debe evitarse el contacto con la piel. Este material y su recipiente deben clasificarse de forma segura. En caso de ingestión, consulte a un médico inmediatamente y muestre este envase a etiqueta.
- No fume, beba, coma o use cosméticos en el área de trabajo.
- Use ropa protectora y guantes desechables cuando trate con muestras y reactivos. Lávase las manos luego de las operaciones.
- Tenga cuidado al manipular muestras de pacientes para evitar contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas desechables o puntas de pipeta.
- Conduzca el ensayo lejos de malas condiciones ambientales por ejemplo aire ambiente que contiene alta concentración de gas ozono, como ácido clorhídrico sódico, alcalino, acetaldehído, etc., o que contiene polvo.
- No utilice reactivos más allá de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- No mezcle ni use componentes de kits con diferentes códigos de lote.
- Cuando almacene los calibradores, asegúrese de que los viales estén bien sellados.
- Asegúrese de que las micropartículas estén resuspendidas antes de cargarse en el analizador.
- Evite formación de espuma en todos los reactivos y tipos de muestras (muestras, calibradores y controles).
- No sustituya ningún reactivo en este kit de otros fabricantes u otros kits.
- Cuando se observe cualquier daño al empaque protector o cualquier cambio en el rendimiento analítico no use el kit.

Almacenamiento

- Almacenar el kit a 2-8°C. No congelar. Evite la luz fuerte. Cuando se almacena según las indicaciones, todos los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad.
- Refrigere el paquete de reactivos a 2-10°C durante un mínimo de 2 horas antes de su uso.
- No utilice muestras con contaminación microbiana obvia.
- Almacene el paquete de reactivos en posición vertical a 2-10°C en el analizador. Pueden almacenarse en el analizador por un máximo de 28 días. Después de 28 días, el paquete de reactivos debe desecharse. Una vez que se retiran del analizador, guárdelos a 2-8°C en posición vertical. Para los reactivos almacenados fuera del analizador, se recomienda que se almacenen en sus bandejas y capsulas originales para garantizar que permanezcan en posición vertical.
- Una vez que el paquete de reactivos está abierto, se puede almacenar a 2-8°C durante 1 mes.
- Si se desactiva los calibradores reconstituidos a 2-8°C, bajo condiciones se mantendrá la estabilidad durante 1 mes, para un

uso más prolongado, almacene los calibradores reconstituidos en alcohólicos y congele a -20°C. Evite los ciclos múltiples de congelación y descongelación.

Muestra

- Recolte muestras de suero de acuerdo con las prácticas médicas corrientes.
- No utilice muestras inactivadas por calor. No use conservante de ácido de sodio en las muestras.
- Los sedimentos y los sólidos suspendidos en las muestras pueden interferir con el resultado de la prueba, que debe eliminarse mediante centrifugación. Asegúrese de que haya tenido lugar la formación completa de coágulos en las muestras de suero antes de la centrifugación. Algunas muestras, especialmente las de pacientes que reciben tratamiento con anticoagulantes o trombolíticos, pueden presentar un aumento del tiempo de coagulación. Si la muestra se centrifuga antes de que se forme un coágulo completo, la presencia de fibrina puede causar resultados erróneos. Asegúrese de que las muestras no estén descompuestas antes de usarse.
- Antes del envío, se recomienda retirar las muestras del coágulo, del separador de suero o de los glóbulos rojos.
- El procesamiento insuficiente de la muestra o la interrupción de la muestra durante el transporte puede causar resultados depósitos.
- Evite muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
- Tapé y almacene las muestras a 18-25 °C durante no más de 8 horas, para un uso más prolongado, las muestras se deben tapar y almacenar de 2 a 8 °C hasta 48 horas. O bien, congele las muestras que deben almacenarse o transportarse durante más de 48 horas a -20°C. Evitar múltiples ciclos de congelación y descongelación. Mezcle bien las muestras descongeladas mediante vórtice de baja velocidad o inversión 10 veces. Inspeccione visualmente las muestras; si observo capas o estratificación, continúe mezclando hasta que las muestras sean visualmente homogéneas. Después de descongelar, llevar a temperatura ambiente y mezclar bien agitando suavemente.
- Controlar las muestras descongeladas que contienen glóbulos rojos o material particulado, o que tengan una apariencia brumosa o turbia, etc., antes de su uso para garantizar la consistencia en los resultados.
- Tenga en cuenta que los niveles de interferencia de fibrina pueden estar presentes en muestras que no tienen partículas visibles o evidentes.
- Si no se puede verificar la reactivación y preparación adecuadas de la muestra, o si las muestras se han alterado debido al transporte o manejo de la muestra, se recomienda un paso de centrifugación adicional. Las condiciones de centrifugación deben ser suficientes para eliminar las partículas.
- Para obtener resultados óptimos, inspeccione todas las muestras para detectar burbujas. Elimine las burbujas con una punta antes de su análisis. Use una nueva punta para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

Procedimiento de medición

- Compruebe los materiales consumibles.
- Verifique que haya un volumen adecuado de materiales consumibles antes de realizar la prueba.
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
- Cargar el kit.
- Mezcle el contenido de los paquetes de reactivos nuevos (sin portar) invertiendo suavemente el paquete varias veces antes de cargarlo en el analizador. Evitar la formación de espuma en todos los reactivos. No invierta los paquetes abiertos (perforados). Si es necesario, agite suavemente para mezclar

Fuente: Autobio Diagnostics. Inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes determinación cuantitativa Enolasa específica de neuronas en suero humano.
 Recuperado de: <https://n9.cl/gei00>

horizontalmente después de la primera carga.

- Lea el código de barras en el paquete de reactivos automáticamente para obtener los parámetros requeridos para la prueba.
- Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
- Orden de pruebas:
 - Coloque los vasos o tubos de muestra en el porta muestras, 25 µl de muestras y calibradores para cada prueba. Pero teniendo en cuenta el contenedor de muestra y 150 µl de volúmenes muertos del sistema, que pueden consultarse en los manuales apropiados del analizador de ensayos para obtener el volumen mínimo de muestra requerido.
 - Cargue el soporte de muestra e ingrese la información de muestra en la interfaz del software del sistema.
 - Seleccione "Ejecutar" para iniciar la prueba, el analizador automáticamente ejecuta las pruebas. Realice las siguientes funciones:
 - Mueva la muestra al punto de ajuste.
 - Carga un recipiente de reacción en la ruta del proceso.
 - Aspire y transfiera la muestra al recipiente de reacción.
 - Agrega solución de micropartículas y diluyente de muestra al recipiente de reacción.
 - Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción.
 - Agrega conjugado de enzima al recipiente de reacción.
 - Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción.
 - Añadir Substrato Quimioluminiscente
 - Mide la emisión de quimioluminiscencia para determinar la cantidad de NSE en la muestra.
 - Descarta el recipiente de reacción usado.
 - Calcula el resultado.
- Consulte el manual de operación del analizador de ensayos.
- Calibrar la curva
- El analizador puede leer el código de barras en el paquete de reactivos automáticamente para obtener los parámetros necesarios para la prueba.
- Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
- Transfiera los calibradores a los vasos o tubos de muestra y colóquelos en el soporte de muestra. Realizar la dilución de duplicados en el sistema.
- Cargue el soporte de muestra y la información de los calibradores de entrada en la interfaz del software del sistema.
- Seleccione "Ejecutar" para iniciar la prueba y generar la curva de calibración; se requiere una calibración cada 28 días.
- Una vez que se acepta y almacena una curva de calibración, todas las muestras posteriores pueden analizarse sin más calibración a menos que:
 - Los controles están fuera de rango después de mediciones repetidas
 - Se utiliza un kit de reactivos y un sustrato quimioluminiscente con un nuevo código de lote.
 - Más allá de la fecha de vencimiento de una curva de calibración
 - Partes importantes del analizador son reemplazadas o reparadas.
- Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

3. Usar la muestra.

Las muestras con un valor NSE superior a 300 ng/ml se pueden diluir con el método de dilución automatizado. El Diluyente Universal se utiliza para diluir las muestras. Después de la dilución con el analizador, el software automáticamente toma en cuenta la dilución al calcular la concentración de la muestra.

- La concentración de la muestra después de la dilución no debe ser inferior a 30 ng/ml.

Resultados de medición

Los resultados de las pruebas de muestra son determinados

automáticamente por el software del sistema utilizando un método de reducción de datos de ajuste de curva de 4 parámetros. La cantidad de NSE en la muestra se determina a partir de la producción de luz medida por medio de los datos de calibración almacenados. Los resultados de las pruebas de muestra pueden revisarse con una computadora o imprimirse. Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos para ver los resultados de las muestras.

Procedimiento de control

El requisito de control recomendado para este ensayo es comprar los materiales de control por separado y probarlos junto con las muestras dentro de la misma ejecución. El resultado es válido si los valores de control se encuentran dentro de los rangos de concentración impresos en las etiquetas. Cuando un valor de control está fuera del rango especificado, puede indicar un deterioro de los reactivos o errores en la técnica. Los resultados de las pruebas asociadas pueden ser inválidos y pueden requerir una nueva prueba. Puede ser necesaria la recalibración del ensayo. Se recomienda que cada laboratorio establezca su rango aceptado para garantizar el rendimiento adecuado de la prueba.

Limitaciones del Procedimiento

- Este ensayo pretende ser una ayuda para el diagnóstico clínico. Lleve a cabo este análisis junto con el examen clínico, el historial médico del paciente y los resultados de otras pruebas.
- Si los resultados son inconsistentes con la evidencia clínica, pruebas adicionales se sugiere confirmar el resultado.
- Los anticuerpos heterofílicos en suero humano pueden reaccionar con inmunoglobulinas reactivas, lo que interfiere con los inmunoensayos in vitro. Los pacientes exóticos raramente a sí mismos o productos de suero animal pueden ser propensos a esta interferencia y se pueden observar valores anómalos. Se puede requerir información adicional para el diagnóstico. Este tipo de muestras no es adecuado para ser analizado por este ensayo.
- El rendimiento de esta prueba no se ha establecido con muestras neonatales.
- Los pacientes que han recibido anticuerpos monoclonales de ratón para el diagnóstico o la terapia pueden desampliar HAMA (anticuerpos humanos anti-ratón). HAMA puede producir valores falsamente altos o falsamente bajos en inmunoensayos que utilizan anticuerpos monoclonales de ratón. Se puede requerir información adicional para el diagnóstico.
- Esta prueba mide concentraciones dentro del rango de 0.5-300 ng/ml. Si se expresan concentraciones de NSE por encima del rango de medición, se recomienda diluir las muestras con el Diluyente Universal; la dilución mínima es 1:10 de esta prueba, lo que permite que las muestras se cuantifiquen hasta aproximadamente 3000 ng/ml.

Intervalo Biológico de Referencia

Al analizar muestras de suero de 375 individuos definidos como normales por un médico, los resultados son los siguientes: 20 ng/ml (percentil 95%) 17.89-20.45 ng/ml (intervalo de confianza del 95% del percentil). Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango normal, que puede ser exclusivo de la población a la que sirve, según los factores geográficos, del paciente, de la dieta o ambientales.

Características de rendimiento

- Precisión de medida.**
Este ensayo está diseñado para tener una precisión dentro de la ejecución de <10%. Se analizaron 2 miembros de panel basados en suero humano (1 y 2), utilizando 1 lote de reactivos, en réplicas de 10. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Miembros del Panel	Lote	n	Medida	Precisión dentro de corrida	
				SD	%CV
1	1	10	27.61	1.31	4.75
2	1	10	93.66	4.85	5.17

Este ensayo está diseñado para tener una precisión entre ejecuciones de <15%. Se analizaron 2 miembros de panel basados en suero humano (1 y 2), utilizando 1 lote de reactivo, en réplicas de 10, una vez al día durante 3 días de prueba. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Miembros del Panel	Lote	n	Medida	Precisión entre corridas	
				SD	%CV
1	1	30	28.06	1.39	4.96
2	1	30	92.20	4.88	5.30

2. Sensibilidad Analítica

La sensibilidad analítica, definida como la concentración correspondiente a las RLU medias de 20 repeticiones del calibrador A más 2 desviaciones estándar, es ≤ 0.5 ng/ml.

3. Especificidad Analítica

No hay interferencia con 100 ng/ml de bilirrubina, 1500 mg/dl de triglicéridos.

4. Precisión de la Medición por Correlación

Se realizó un estudio en el que se analizaron muestras utilizando este ensayo y una prueba NSE que ya estaba disponible en el mercado. Los datos fueron analizados y se resumen en la siguiente tabla.

Método de correlación	Número de muestras	Intercepto	Inclinación	Coefficiente de Correlación
Regresión Lineal	296	23.705	0.9571	0.9762

Literatura de Referencia

- Multifunctional α-enolase: its role in diseases, Cell Mol Life Sci, 58 (7):502-20.
- Molecular structure of the human muscle-specific enolase gene (ENO3). Biochem J, 275 (Pt 2): 427-33.
- Larsen, JE; Minna D. Molecular biology of lung cancer: clinical implications. Clinics in Chest Medicine 32 (4): 703-740. 2011.
- Wibe E., Paus E., Aamdal S., Neuron Specific Enolase (NSE) in serum of Patients with Malignant Melanoma. Cancer Letters, 52:29-31,1980.

Approved by



Mr. Gongcheng Fan
Manager of R&D center, Autobio

郑州艾博生物工程技术有限公司
AUTOBIO DIAGNOSTICS CO., LTD

Fuente: Autobio Diagnostics. Inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes determinación cuantitativa Enolasa específica de neuronas en suero humano.
Recuperado de: <https://n9.cl/gei00>

Anexo 7. Artículos Seleccionados

N°	Año	Base de Datos	Idioma	Autor(es)	Título Original
1	2017	Medigraphic/Revista Información Científica	Español	Piriz Momblant Angel, Vázquez Vilanora Rosa Nelly.	Feocromocitoma y neurofibromatosis: una rara asociación. Revisión del tema a propósito de un caso.
2	2021	Scielo/Revista de la Facultad de Medicina Humana	Español	Céspedes Morón Miryam , Camargo Román Roxana , Rodríguez Gutarra Nicanor , Mispireta Castañeda Alicia.	Feocromocitoma: enfoque multidisciplinario, consideraciones perioperatorias
3	2022	Scielo/ Cuadernos Hospital de Clínicas	Español	Siacar Bacarreza Sandra, Mamani Antonio Adolfo, Burgoa Vargas Javier , Saldaña Imaña Marcos, Tarqui Callisaya Carla, Ali Poma Mirza, Sandi Ossio Javier.	Tumor de células cromafines: Feocromocitoma
4	2016	Central American Journals Online	Español	Berlanga Escalera Eugenio, Álvarez García Elías.	Diagnóstico bioquímico del feocromocitoma.

5	2021	Medigraphic/Medicina Interna de México 33	Español	Polanía Andrade Álvaro Nicolás, Monroy Tovar Laura Fernanda, Alarcón Vargas Ángela María, Barrios Torres Juan Camilo, Isaías Vargas Hernán.	Feocromocitoma
6	2019	ResearchGate/ Medicina Interna de México	Español	Pomo Reyna Oscar, Hidalgo Arroyo Edwin, Guerra Raygada Mauricio, Lozano Miranda Zenaida, Chian García César.	Feocromocitoma relacionado a mielolipoma
7	2018	Scielo/Revista argentina de endocrinología y metabolismo	Español	Brenzonía P, Fabbroa F, Fares Taiea S, Garciaa S, Gotta G, Lotero Polesela D, Riccia R, Kozakb R	Catecolaminas vs. metanefrinas en el diagnóstico bioquímico de feocromocitoma y paraganglioma
8	2017	Central American Journals Online	Español	Cerrato Rivera Cerrato Rivera, Fajardo Leitzelar Fernando Arturo.	Feocromocitoma: diagnóstico y tratamiento

9	2021	Repositorio Universidad Central	Español	Villagómez Estrada Mariela Viviana	Feocromocitoma una causa olvidada de hipertensión arterial. Revisión bibliográfica del impacto cardiovascular, conducta diagnóstica y terapéutica
10	2016	PubMed	Ingles	Boot Christopher, Toole Barry, Neely Dermot.	Single-centre study of the diagnostic performance of plasma metanephrines with seated sampling for the diagnosis of pheochromocytomañosp paraganglioma
11	2017	PubMed	Ingles	Därr, Roland, Kuhn Matthias, Christoph Bode, Bornstein Stefan, Pacak Karel, Lenders Jacques, Eisenhofer Graeme.	Accuracy of recommended sampling and assay methods for the determination of plasma-free and urinary fractionated metanephrines in the diagnosis of pheochromocytoma and paraganglioma: a systematic review
12	2014	PubMed	Ingles	Yuko Tanaka, Kazumasa Isobe, Enbo Ma, Tsuneo Imai, Toyone Kikumori, Tadashi Matsuda, Yuji Maeda, Akihiro Sakurai, Sanae Midorikawa, Yuji Hataya, Taiya	Plasma free metanephrines in the diagnosis of pheochromocytoma: diagnostic accuracy and strategies for Japanese patients

				Kato, Kei Kamide, Yukihiro Ikeda, Yosuke Okada, Masahiro Adachi, Toshihiko Yanase, Hideto Takahashi, Chie Yokoyama, Yusuke Arai, Koichi Hashimoto, Hitoshi Shimano, Hisato Hara, Yasushi Kawakami, Kazuhiro Takekoshi	
13	2023	PubMed	Ingles	Kiriakopoulos Andreas, Giannakis Periklis, Menenakos Evangelos	Pheochromocytoma: a changing perspective and current concepts
14	2022	PubMed	Inglés	Dorji Thinley, Vishesh Verma, Anil Menon	Epistaxis, paroxysmal anxiety episodes, and hypertension in a child with SDHB-associated paraganglioma: A case report
15	2014	Scielo/Revista Chilena Cirugía	Español	Octavio A, Castillo C, Riera P, Rodríguez Y, Alemán E, Aranguaren G, López J.	Feocromocitoma maligno: comunicación de 2 casos tratados con cirugía de mínima invasión

16	2022	Scielo/ Revista Virtual de la Sociedad Paraguaya de Medicina Interna	Español	César Damián Duré Riveros, Leda Ruiz Diaz	Síndrome coronario agudo por feocromocitoma
17	2020	Portal Regional da BVS	Portugues	Antunes de Ramos Jacqueline, Ramos Pedrelli Rúbia, Soratto Heitich Magda, Borgman Gabriela, Plautz Katherine.	Feocromocitoma: relato de caso
18	2024	Elsevier	Español	Pérez García M, García Granado J, Martínez Martín F.	Cefalea e hipertensión como forma de presentación de un feocromocitoma y simulando un síndrome post-COVID-19
19	2022	Revista chilena de urología	Español	Montes Pablo, Herrera Sandra, Blanco Paola, Santodomingo Julio, Martínez María, Henández Katya, Pérez Camilo	Feocromocitoma como diagnóstico incidental en estudio de imagen. a propósito de un caso

20	2022	Scielo/Revista colombiana de Cirugía	Español	Jurado Gómez Daniel Alberto, Pineda Garcés Catalina, Fernando Arias Luis, Gutiérrez Montoya	Feocromocitoma adrenal gigante derecho. Reporte de un caso
21	2018	Revista Guatemala de Cirugía	Español	Barrientos Rivera Moisés, González Reynoso Gustavo	Feocromocitoma. Reporte de Caso
22	2017	Biblat	Español	Ana Alberca Páramo, Francisco Javier Ruescas García, Esther Pilar García Santos, José Luis Bertelli Puche, Paloma Núñez Guerrero, Susana Sánchez García, Aurora Gil-Rendo Marina Alberca Páramo	Feocromocitoma mixto productor de dopamina y adrenalina. Presentación de un caso clínico.
23	2024	Elsevier	Español	Marina Portal Buenagaa , Laura Bertholt Zuberá, Pablo Alonso Rubioa, Inmaculada Fernández Jiménezb, Fernando Pazos Toralc, Concepción Freijo Martína	Feocromocitoma familiar secundario a mutación en VHL

24	2021	Scielo/Medisur	Español	Rodríguez Cruzata Lesyibeth, Santiesteban Bello Aida Nelis, Gonzáles Garrido.	Feocromocitoma Benigno vs Tumor Renal. Presentación de un caso
25	2021	PubMed	Ingles	Astrid Lambrecht, Joshua M Inglis , Robert Young.	Abdominal pain with intra-adrenal bleeding as an initial presentation of pheochromocytoma
26	2021	PubMed	Ingles	Hao-Yu Wu, Tian-Jiao Gao, Yi-Wei Cao., and Lei Liang	Case Report: Pheochromocytoma in a 59-Year-Old Woman Presenting With Hypotension
27	2024	Lilacs	Español	Nathaly del Pilar Jalca Idrovo, Katherine Yessenia Morales Jaramillo, Rody Bladimir Carvajal Estrada, Wilson Samir Molina Chávez, Ana Karen Ramírez Egas	Feocromocitoma Adrenal Izquierdo. Reporte de Caso
28	2014	Scielo	Español	Yamir Santos Monzón , Claribel Plain Pozos , Anel Pérez de Alejo Alemán	Feocromocitoma. Presentación de un caso.

29	2020	Libro	Español	Williamson M, Snyder M	Wallach Interpretación Clínica de pruebas diagnóstica
30	2015	Dialnet	Español	Román González Alejandro, Sierra Zuluaga, Juliana, Gutiérrez Restrepo Johnayro, Builes Barrera, Carlos , Jiménez Vásquez, Camilo.	Feocromocitoma-Paraganglioma. Revisión de tema
31	2017	PubMed	Ingles	Farrugia F, Martikos G, Tzanetis P, Charalampopoulos A, Misiakos E, Zavras N, Sotiropoulos D.	Pheochromocytoma, diagnosis and treatment: Review of the literature
32	2021	Scielo	Español	Carballo Torres Danie, Caballero Aguirrechu Iraida, Ortiz Roque Jorge, Sánchez Rojas Irlis, Gonzáles Argote Javier.	Feocromocitoma maligno metastásico extraadrenal con una diseminación atípica. Reporte de un caso.
33	2017	PubMed	Ingles	Lenders Jacques, Eisenhofer Graeme	Update on Modern Management of Pheochromocytoma and Paraganglioma.

34	2016	Scielo	Español	Marta Cano Megías, Diego Rodríguez Puyol, Loreto Fernández Rodríguez, Gloria Lisette Sención Martínez, Patricia Martínez Miguel.	Feocromocitoma-paraganglioma: del diagnóstico bioquímico al genético
35	2019	Elsevier/ Medicina Interna de México 37	Español	Pomo Reyna Oscar, Hidalgo Arroyo Edwin, Guerra Raygada Mauricio, Lozano Miranda Zenaida, Chian García César.	Feocromocitoma relacionado a mielolipoma