



ASOCIACIÓN  
BIOQUÍMICA  
ARGENTINA

# ByPC

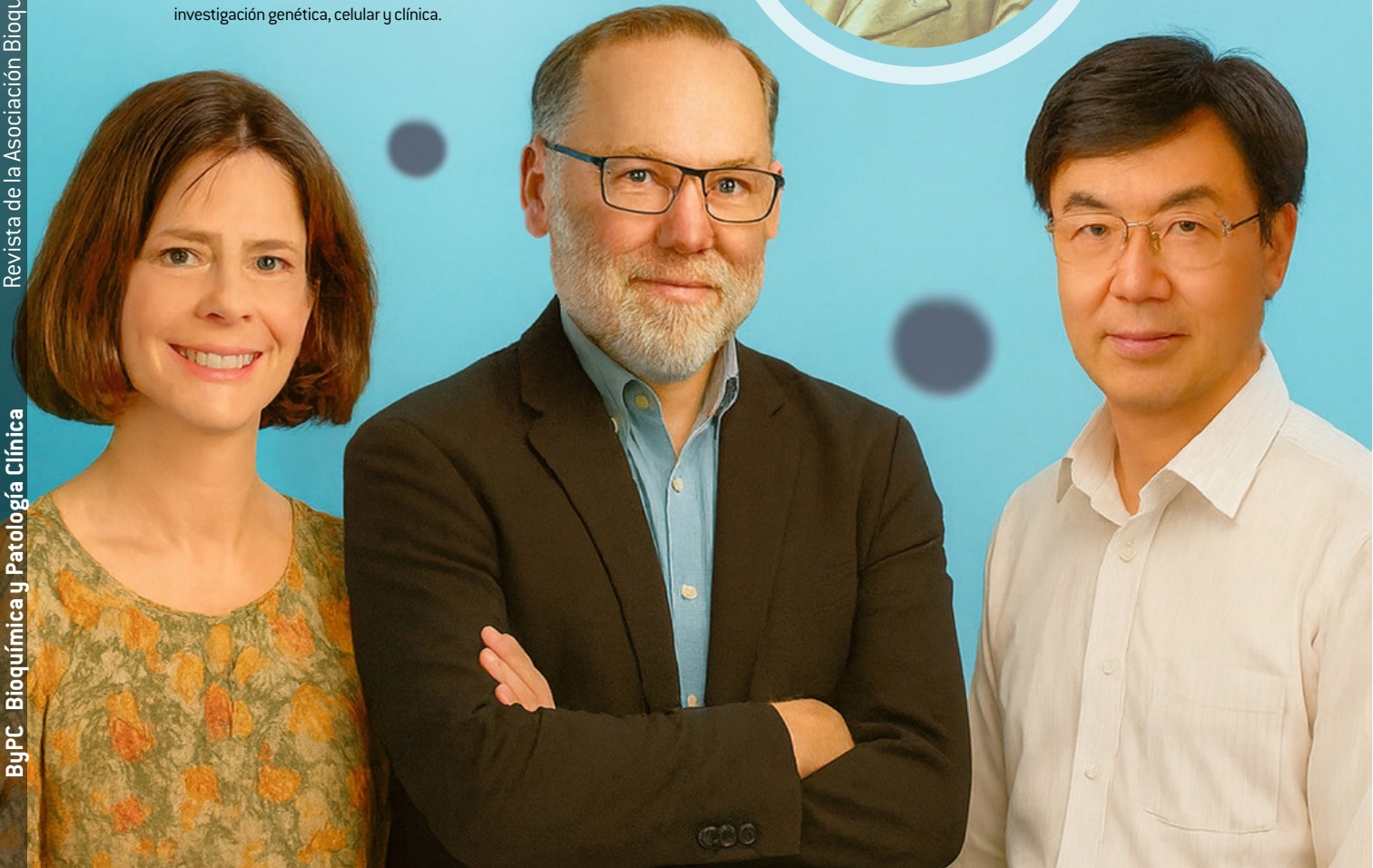
# Bioquímica y Patología Clínica

Revista de la Asociación  
Bioquímica Argentina

Vol. 90 - N°1  
Ene.- Abr. de 2026

Ciudad de Bs. As. Argentina  
ISSN 1515-6761 Ed. Impresa  
ISSN 2684-0359 Ed. electrónica

**Mary E. Brunkow, bióloga molecular e inmunóloga, Fred Ramsdell, inmunólogo, y Shimon Sakaguchi, inmunólogo** reciben el Premio Nobel de Fisiología o Medicina 2025 por sus descubrimientos sobre la tolerancia inmunitaria periférica, es decir, la capacidad del sistema inmunitario para regularse a sí mismo. Con sus hallazgos sobre las células T reguladoras han abierto un nuevo capítulo en inmunología y han puesto de manifiesto la estrecha interconexión que existe entre la investigación genética, celular y clínica.



## EDITORIAL

- Pág. 09 **Tolerancia inmunológica: del "horror autotóxico" a la inmunorregulación moderna.**

*Immune tolerance: from 'horror autotoxicus' to modern immunoregulation.*

Carballo, Orlando Gabriel.

## ARTÍCULOS ORIGINALES

- Pág. 11 **Prevalencia y perfil de sensibilidad antimicrobiana de microorganismos aislados en infecciones urinarias de adultos de la comunidad de la Ciudad de Córdoba, Argentina.**

*Prevalence and antimicrobial susceptibility profile of microorganisms isolated in urinary infections of adults in the community from Córdoba city, Argentina.*

Ribotta, María Eugenia; Boggio, Elisa; Ruiz, Susana Eugenia; Carrizo, Silvia Guadalupe.

- Pág. 18 **Paciente con trauma abdomino-pélvico y eyaculación retrógrada.**

*Patient with abdominopelvic trauma and retrograde ejaculation.*

Alonso, Verónica Alejandra; Repetto, Herberto Ernesto Héctor; Chenlo, Patricia Haydee; Ariagno, Julia Irene; Monsalvo, Valeria Romina; Cohen, Mariano Isaac; Zeitler, Elena; Mendeluk, Gabriela Ruth.

- Pág. 22 **Estudio comparativo entre un método mecánico automatizado y un método óptico semiautomatizado para la medición de las pruebas básicas del área de hemostasia.**

*Comparative study between an automated mechanical method and a semiautomated optical method for the measurement of hemostasis tests.*

Ruggiero, María Agustina; Chioli, Agustina María; Ojeda, Milagro; Iacono, Paula María; Ferrinda, Maía; Forte, Irina Magalí; Arca García, Manuela; Morales, Fabián.

- Pág. 27 **Evaluación externa de la calidad en laboratorios públicos de hematología de la provincia de Córdoba.**

*External Quality Assessment in Public Hematology Laboratories in the Province of Córdoba, Argentina.*

Scharagrodsky, Marcos; Rodríguez, Luis Adrián; Eynard, Josefina; Puchatt, Lara; Peralta, Silvia; Giorgini, María Fernanda; Collino, César.

- Pág. 35 **Análisis de la longitud telomérica como biomarcador del riesgo y progresión de enfermedades metabólicas.**

*Analysis of telomere length as a biomarker of risk and progression of metabolic diseases.*

Millán, Andrea Liliana; Pautasso, María Constanza; Rojo, Mailén; Frechtel, Gustavo Daniel.

- Pág. 43 **Tumor corticosuprarrenal en paciente pediátrico: desarrollo de un caso clínico.**

*Adrenal cortical tumor in a pediatric patient.*

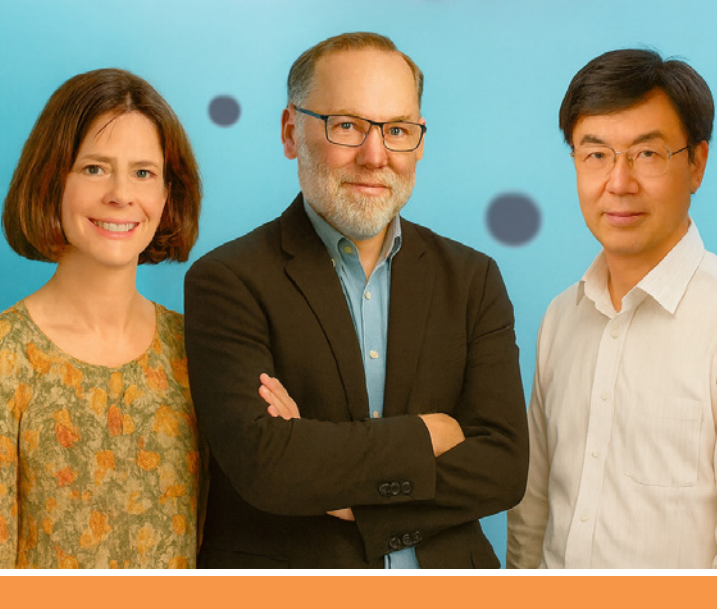
Montenegro-Martínez, Jorge; Rubio-Sánchez, Ricardo; Lepe-Balsalobre, Esperanza.

## ARTÍCULO DE REVISIÓN

- Pág. 47 **Bioteología y biotecnología farmacéutica: una perspectiva integral en el diagnóstico y tratamiento de la artritis reumatoide.**

*Biotechnology and pharmaceutical biotechnology: a comprehensive perspective in the diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis.*

Ametller, Leiza; Carromba, Martina; Genovesio, Paula; Louge, Delfina; Sobré, Olivia; Sterin Prync, Aida Edith.



## Premio Nobel de Medicina 2025 por el descubrimiento de las células T reguladoras

El sistema inmunitario humano es una obra maestra de la evolución: lo suficientemente potente como para repeler diariamente millones de patógenos potenciales y, a la vez, finamente regulado para preservar los tejidos propios. Cómo se logra ese equilibrio fue durante mucho tiempo, un enigma. Tres investigadores han contribuido de forma decisiva a resolverlo: Mary E. Brunkow, bióloga molecular e inmunóloga, Fred Ramsdell, inmunólogo, y Shimon Sakaguchi, inmunólogo.

Reciben el Premio Nobel de Fisiología o Medicina 2025 por sus descubrimientos sobre la tolerancia inmunitaria periférica, es decir, la capacidad del sistema inmunitario para regularse a sí mismo. Con sus hallazgos sobre las células T reguladoras han abierto un nuevo capítulo en inmunología y han puesto de manifiesto la estrecha interconexión entre la investigación genética, celular y clínica. En medicina, estos conocimientos son esenciales para comprender y tratar enfermedades autoinmunes como la diabetes tipo 1, la esclerosis múltiple o la artritis reumatoide, y tienen además implicaciones en oncología y en medicina de trasplantes.

El problema de la autolesión: El sistema inmunitario detecta patógenos mediante células T dotadas de receptores altamente variables. Esa diversidad garantiza el reconocimiento de virus o bacterias emergentes, pero conlleva un riesgo: entre las millones de variantes de células T surgen inevitablemente clones que reconocen estructuras propias.

Durante décadas predominó la idea de que el timo elimina esas células T mal dirigidas mediante un proceso denominado tolerancia central. No obstante, pese a esa selección, siguen apareciendo células autorreactivas. ¿Por qué, entonces, el sistema inmunitario normalmente no ataca al propio organismo? Una hipótesis de los años 80 recobra relevancia, la idea de las llamadas células T supresoras cayó en descrédito por hallazgos experimentales contradictorios. Pocos investigadores mantuvieron la hipótesis de que debía existir un freno en el sistema inmunitario. Uno de ellos fue Shimon Sakaguchi, cuando se desempeñaba en el *Aichi Cancer Center Research Institute* de Nagoya, Japón. Mediante experimentos quirúrgicos en ratones observó que los

animales desarrollaban graves enfermedades autoinmunes. Sakaguchi aisló posteriormente un subconjunto de células T CD4+ capaces de suprimir esas respuestas inmunitarias.

Tras más de una década de trabajo intenso, en 1995 identificó una población de células T hasta entonces desconocida, que expresaba además la proteína de membrana CD25. Las denominó células T reguladoras (Tregs), los guardianes del sistema inmunitario. El hallazgo de Sakaguchi suscitó escepticismo inicial, pero sentó las bases de un nuevo campo de investigación. La confirmación definitiva llegó desde estudios genéticos en Estados Unidos.

Evidencias experimentales procedieron también de otra fuente: ya en los años 40 llamó la atención en un laboratorio estadounidense, una línea de ratones con aspecto escamoso, tenían órganos linfoides aumentados y vida corta. La llamada mutación *scurfy* se hereda ligada al cromosoma X y, décadas después, resultó clave para entender la biología de las células T reguladoras.

En los años 90, los biólogos Mary Brunkow y Fred Ramsdell, entonces en la empresa biotecnológica Celltech Chiroscience, investigaron la base genética de esa mutación. Tras años de trabajo minucioso, en 2001 identificaron el gen responsable: FOXP3. Este codifica un factor de transcripción que regula la actividad de otros genes. Brunkow y Ramsdell demostraron que mutaciones en el gen FOXP3 en humanos causan el síndrome IPEX (inmuno-deregulación, poliendocrinopatía y enteropatía ligada al cromosoma X), un raro y grave trastorno autoinmune congénito que afecta casi exclusivamente a varones recién nacidos.

Es así, que empezó a quedar claro que, la ausencia de proteínas FOXP3 funcionales conducen a una actividad inmunitaria descontrolada. Los investigadores consideraron en ello la prueba genética de la existencia de las células T reguladoras descritas por Sakaguchi.

Solo dos años después del descubrimiento del gen FOXP3, Sakaguchi y otros grupos demostraron de forma concluyente que el FOXP3 es clave para el desarrollo de las células T reguladoras. Sin este gen no se generan células T reguladoras y el sistema inmunitario pierde su autocontrol. De este modo, la tolerancia inmunitaria periférica se consolidó como un segundo sistema protector esencial: mientras que el timo elimina células T peligrosas en la tolerancia central, las células T reguladoras controlan la respuesta inmunitaria en todo el organismo y previenen reacciones inapropiadas.

El descubrimiento de las células T reguladoras ha revolucionado la inmunología, como uno de los mecanismos de tolerancia periférica más relevantes. Hoy se conoce su influencia en casi todos los ámbitos en los que participa el sistema inmunitario: en la autoinmunidad, la medicina de trasplantes y en oncología.

El sistema inmunitario solo puede funcionar si los mecanismos de ataque y de autoprotección permanecen en equilibrio. Los descubrimientos de los galardonados impulsaron el campo de la tolerancia periférica, promoviendo el desarrollo de tratamientos médicos para el cáncer y las enfermedades autoinmunes, y podría conducir a trasplantes más exitosos. Varios de estos tratamientos se encuentran actualmente en etapa de investigación a través de ensayos clínicos.

**ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA**

Fundada el 3 de septiembre de 1934

**COMISIÓN DIRECTIVA**

**PRESIDENTE**

**Dra. Silvia B. González**

**VICEPRESIDENTE**

**Dra. Patricia Otero**

**SECRETARIA**

**Dra. Viviana Osta**

**TESORERA**

**Dra. Isabel Desimone**

**VOCALES**

**1° Vocal Titular**

**Dra. María José Rial**

**2° Vocal Titular**

**Dr. Eduardo Mormandi**

**3° Vocal Titular**

**Dra. María Rugiero**

**1° Vocal Suplente**

**Dr. Alberto Villagra**

**2° Vocal Suplente**

**Dra. M. de la Paz Domínguez**

**3° Vocal Suplente**

**Dra. Alejandra Svartz**

**COMISIÓN REVISORA DE CUENTAS**

**Titular 1°**

**Dra. Silvia Morilla**

**Titular 2°**

**Dra. Estella Meyer**

**Titular 3°**

**Dra. Silvia Cajiao**

**1° Vocal Suplente**

**Dra. Florencia Minotti**

**2° Vocal Suplente**

**Dra. Laura Colitto**

**COMISIONES INTERNAS**

**PRENSA Y DIFUSIÓN**

**Presidente: Dra. Rocío Romero**

**Secretaria: Dra. Florencia Minotti**

**Vocales: Dr. Eduardo Mormandi**

**Dra. Fabrina Capece**

**Dra. Nuria Cañellas**

**CERTIFICACIÓN**

**Presidente: Dr. Alberto Villagra**

**Secretaria: Dra. Viviana Osta**

**Vocal: Dra. María José Rial**

**COMISIÓN CULTURA**

**Presidente: Dra. Silvia Morilla**

**Secretario: Dr. Alberto Villagra**

**CURSOS**

**Presidente: Dra. Silvia González**

**Secretaria: Dra. María Soledad**

**Caldirola**

**Vocales: Dra. María José Rial**

**Dra. María de la Paz**

**Domínguez**

**Dra. Alejandra Svartz**

**Dra. Rocío Romero**

**Dra. Laura Colitto**

**COMITÉ CIENTÍFICO ASESOR**

**Dra. Mónica Aixalá**

**Dr. Gloria Alvarez**

**Dra. Liliana Arias**

**Dra. Alicia Blanco**

**Dr. Orlando Gabriel Carballo**

**Dra. Silvia González**

**Dr. César Colino**

**Dr. Eduardo Mormandi**

**Dr. Jorge Rey**

**Dra. María José Rial**

**Dra. Sandra Rozental**

**Dra. Gabriela Santiso**

**Dra. Nora Slobodianik**

**PREMIOS Y DISTINCIONES**

**Dra. Alicia Blanco**

**Dr. Fernando Brites**

**Dra. Nilda Fink**

**Dr. Néstor Litwin**

**Dr. Miguel Angel De Cristóforo**

# REGLAMENTO DE PUBLICACIONES

## Instrucciones para los autores

Los trabajos enviados a la Revista ByPC deben ser originales y no deben haber sido publicados o estar postulados simultáneamente en otras revistas u órgano de difusión científica nacional o extranjero, tanto en forma impresa como electrónica.

Para la preparación de manuscritos, se siguen los requerimientos de las Recomendaciones para la preparación, presentación, edición y publicación de trabajos académicos en revistas médicas (ICMJE, según su sigla en inglés) disponible en:

<http://www.icmje.org/icmjerecommendations.pdf>

Asimismo, se recomienda consultar las guías para publicación de distintos tipos de trabajos en:

<http://www.espanol.equator-network.org>

La recepción de trabajos se realizará mediante el sistema OJS en la web oficial de la Revista ByPC:

<http://www.revistabypc.org.ar/>

Cualquier duda podrá despejarse ingresando al instructivo o solicitar asistencia a: [revistabypc.aba@gmail.com](mailto:revistabypc.aba@gmail.com)

Para incluir material de otras fuentes con derechos de autor en artículos a publicar en la revista, se debe obtener el correspondiente permiso, y adjuntar copia del mismo al artículo propuesto para publicación.

## 1. Requisitos para el envío de manuscritos

- Doble espacio en todas las partes del manuscrito.
- Empezar cada sección o componente en una nueva página.
- Revisar la secuencia: título; autores; lugares de trabajo; número de ORCID; datos del autor de correspondencia; resumen y palabras clave en castellano; título, resumen y palabras clave en inglés americano; introducción; materiales y métodos; resultados; discusión; agradecimientos, referencias bibliográficas, leyendas de las figuras; tablas; y figuras (cada una en página separada).
- Las ilustraciones no deben ser más grandes que 203 x 254 mm
- Incluir los permisos para reproducir material publicado previamente o usar imágenes que pueden identificar a las personas.

## 2. Carta al Director

Carta dirigida al Director de la Revista en la cual se solicita la publicación del artículo. Debe contener el título del trabajo, categoría a la cual pertenece (ver ítem 3), nombre y apellido de todos los autores, número de ORCID, dirección, teléfonos y dirección de e-mail del autor de contacto, una dirección de e-mail alternativa, una frase con valor de declaración jurada en la que se manifieste que el artículo cumple con todos los requisitos de publicación en ByPC, y que la última versión del manuscrito ha sido leída y aprobada por todos los autores.

## 3. Secciones de la revista

SECCIONES	EXTENSIÓN MÁXIMA PALABRAS	RESUMEN EXTENSIÓN PALABRAS	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS MÁX.	N° MÁX. TABLAS Y FIGURAS	N° MÁX. FOTOS
Artículo original	2500	250	40	6	2
Comunicación breve y Casos clínicos	1400	150	15	4	-
Actualización o Revisión*, o Artículos especiales	2000 4000	150	20 40		
Comentarios	1300	-	10		
Consensos y guías*	sin especificar	150			
Cartas al editor*	1500	-	5		
Comentarios a libros	800				

► \* **Revisiones, Cartas al Editor, guías y consensos:** Las revisiones, cartas al editor, guías y consensos serán usualmente solicitados por el Comité Editorial de la Revista a autores considerados expertos en el campo, la disciplina o la especialidad en cuestión. Sin embargo, serán consideradas para su publicación las que fueran enviadas espontáneamente. Deberán seguir los lineamientos expuestos para la publicación de artículos originales, con la diferencia de que su texto no necesitará contar con resultados y discusión.

## 4. Preparación de los manuscritos

### 4.1. Generalidades:

El archivo deberá ser nombrado solamente con el apellido del primer autor y la leyenda "y col." si correspondiese (Ej.: Pérez y col).

El texto debe estar dividido en secciones con los títulos de Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión. Los artículos extensos pueden requerir subtítulos dentro de algunas secciones (especialmente en las secciones de Resultados y Discusión) para aclarar sus contenidos.

Debe estar escrito en procesador de texto Word, en tamaño de página A4, con márgenes de al menos 25 mm, empleando letra Arial tamaño 12. Usar doble espacio, incluyendo la página del título, resumen, texto, agradecimientos, referencias bibliográficas,

tablas individuales y leyendas.

Numerar las páginas consecutivamente empezando con la página del título. Poner el número de la página en la esquina inferior derecha de cada página.

#### 4.2 La primera página debe contener:

- a) El título, que debe ser conciso pero informativo.
- b) El apellido y luego, separado por coma, los nombres completos de los autores, lo cual debe ir seguido de punto y coma, y los datos del siguiente autor. A continuación del nombre de cada autor, se debe colocar, a modo de superíndice, el número que haga referencia al lugar de trabajo al que pertenece dicho autor; y el número de ORCID. El autor al cual debe ir dirigida la correspondencia debe ser destacado con un asterisco también a modo de superíndice [Ej.: Ramírez, Juan Carlos<sup>1\*</sup>; Benítez, Laura<sup>2</sup>; Romero, Mario<sup>3</sup>].
- c) Cada lugar de trabajo con el número asignado al autor correspondiente. No se deben emplear abreviaturas. Debe constar primero el nombre del servicio o laboratorio, luego el correspondiente al departamento y por último el de la institución, todo separado por comas y seguido de punto. A continuación, se debe incluir el nombre de la ciudad, la provincia y el país, también separados por comas y con punto final [Ej.: Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina].
- d) Nombre completo del autor responsable de recibir la correspondencia, su lugar de trabajo, la dirección postal, y la dirección de e-mail.

#### 4.3 La segunda página debe contener:

- a) El resumen en castellano de no más de 250 palabras. Debe estar estructurado de la siguiente manera: introducción, objetivos, materiales y métodos, resultados y conclusiones. Se deben incluir dichos subtítulos de manera explícita. El resumen debe establecer los propósitos del estudio o investigación, procedimientos básicos (selección de los sujetos de estudio o animales de laboratorio; métodos de observación y analíticos), los hallazgos principales y las conclusiones más relevantes. Debería enfatizarse en los aspectos nuevos e importantes del estudio u observaciones. Se recomienda incluir los valores correspondientes a los hallazgos más relevantes acompañados de la forma de expresión de los mismos [Ej.: Media  $\pm$  D.E.] y el tratamiento estadístico, si correspondiese. En el resumen no se deben utilizar abreviaturas.
- b) Palabras clave. Los autores deben colocar, e identificar como tales, tres a diez palabras clave o frases cortas que servirán para la indización cruzada del artículo y deben ser publicadas con el artículo.

#### 4.4 La tercera página debe contener:

- a) Título en inglés americano. Debe cumplir los mismos requisitos que el título en castellano.
- b) Resumen en inglés americano [Abstract]. Debe cumplir los mismos requisitos que el resumen en castellano e incluir los siguientes subtítulos: Introduction, Objectives, Materials and Methods, Results y Conclusions.

- c) Palabras clave en inglés americano (Key words). Deben cumplir los mismos requisitos que las palabras clave en castellano.

#### 4.5 Las páginas subsiguientes, comenzando cada sección en página aparte, deben contener:

- a) Introducción. En la introducción, se debe expresar el contexto o los antecedentes del estudio (por ejemplo, la naturaleza del problema y su importancia) y enunciar el propósito específico u objetivo de la investigación o la hipótesis que se pone a prueba en el estudio u observación. A menudo, la investigación se centra con más claridad cuando se plantea como pregunta. Tanto los objetivos principales como los secundarios deberán estar claros, y deberá describirse cualquier análisis de subgrupos predefinido. Se deben incluir sólo las referencias que sean estrictamente pertinentes y no añadir datos o conclusiones del trabajo que se presenta.
- b) Materiales y Métodos. Debe describir detalladamente los sujetos experimentales (humanos o animales), el equipamiento, los reactivos y los procedimientos utilizados, con la inclusión de las marcas registradas cuando corresponda y referencias al utilizar métodos establecidos. Indicar las consideraciones éticas que correspondan si han participado en el estudio seres humanos (aprobación por comités de ética y obtención de consentimiento informado). ByPC adhiere a las normas éticas establecidas por el Comité de Ética de las Publicaciones [Committee on Publication Ethics -COPE- <https://publicationethics.org/>]. También, indicar las consideraciones éticas que correspondan si se han utilizado en el estudio animales de experimentación (Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, CICUAL). Se recomienda dividir la sección Materiales y Métodos mediante el empleo de subtítulos en el caso de ser demasiado extenso. Incluir una sección de "Análisis de datos" en la cual se describan las formas de expresión de los resultados y los métodos estadísticos empleados, si correspondiese. Estos deben ser descriptos con suficiente detalle para permitir que un lector experto con acceso a los datos originales pueda comprobar los resultados que se presentan. Cuando sea posible, cuantificar los hallazgos y presentarlos con los indicadores de medida de error o de incertidumbre adecuados (como los intervalos de confianza). Evitar basarse únicamente en la comprobación de hipótesis estadísticas, como el uso de valores p, que no dan información sobre la magnitud del efecto. Siempre que sea posible, las referencias sobre el diseño del estudio y los métodos estadísticos deberán corresponder a manuales o artículos habitualmente citados para tal fin (con los números de página incluidos). Definir también los términos estadísticos, abreviaturas y la mayoría de símbolos. Especificar el software utilizado. En caso que corresponda, se sugiere incluir una sección de "Cálculo del tamaño muestral".
- c) Resultados. Presentar los resultados siguiendo una secuencia lógica en el texto, tablas e ilustraciones, y destacando en primer lugar los hallazgos más importantes. No repetir en el texto los datos de las tablas o ilustraciones; resaltar o resumir sólo las observaciones más importantes. Los materiales extra o suplementarios y los detalles técnicos pueden situarse en un anexo donde se puedan consultar para no interrumpir la secuencia

del texto. Cuando los datos se resuman en este apartado, los resultados numéricos no sólo deben presentar los derivados (por ejemplo, porcentajes) sino también los valores absolutos a partir de los cuales se calcularon, y especificar los métodos estadísticos utilizados para analizarlos. Limitar el número de tablas y figuras a las estrictamente necesarias para ilustrar el tema del artículo y para evaluar su grado de apoyo. Usar gráficos como alternativa a las tablas con muchas entradas; no duplicar datos en los gráficos y tablas. Evitar usos no técnicos de términos estadísticos, como “azar” (que implica un dispositivo de aleatorización), “normal,” “significativo,” “correlaciones” y “muestra”. Cuando sea científicamente adecuado, incluir análisis en función de variables como edad y sexo.

d) **Discusión.** Destacar los aspectos más novedosos e importantes del estudio y las conclusiones que de ellos se deducen, contextualizándolos en el conjunto de las evidencias más accesibles. No repetir en detalle datos u otro material que aparezca en la Introducción o en el apartado Resultados. En el caso de estudios experimentales, es útil empezar la discusión resumiendo brevemente los principales resultados; a continuación, explorar los posibles mecanismos o explicaciones de dichos hallazgos, comparar y contrastar los resultados con los de otros estudios relevantes, exponer las limitaciones del estudio, y explorar las implicaciones de los resultados para futuras investigaciones y para la práctica clínica. Relacionar las conclusiones con los objetivos del estudio, evitando hacer afirmaciones rotundas y sacar conclusiones que no estén debidamente respaldadas por los datos. En particular, evitar afirmaciones sobre los costes y beneficios económicos a menos que el manuscrito incluya datos económicos con sus correspondientes análisis. Evitar afirmaciones o alusiones a aspectos de la investigación que no se hayan llevado a término. Cabe la posibilidad de establecer nuevas hipótesis cuando tengan base, pero calificándolas claramente como tales.

e) **Agradecimientos.** Una o más declaraciones deben especificar:

- Las contribuciones que necesitan agradecerse pero que no justifican una autoría, tales como apoyo general por una jefatura de departamento;
- Agradecimientos al apoyo técnico;
- Agradecimiento al apoyo financiero y material, que debe especificar la naturaleza del apoyo; y
- Las relaciones que pueden tener un conflicto de intereses. Las personas que han contribuido intelectualmente al artículo, pero cuyas contribuciones no justifican una autoría, pueden ser mencionadas y sus funciones o contribuciones pueden ser descriptas - por ejemplo, “asesor científico”, “revisión crítica de los propósitos del estudio”, “recolección de información” o “participación en el ensayo clínico”; tales personas deben haber dado sus permisos para ser mencionadas. Los autores son responsables de obtener los permisos escritos de las personas a quienes se agradece. La ayuda técnica debe ser agradecida en un párrafo aparte de los agradecimientos de otras contribuciones.

## 5. Aspectos que deben tenerse en cuenta en la redacción del manuscrito (Normas Vancouver actualizadas a 2016)

### 5.1 Citas bibliográficas:

Es la presentación textual o resumida, de ideas expresadas por otros autores que sirven de apoyo al investigador, se contraponen

a lo que él dice o aportan mayor información sobre un tema determinado. Las citas son un tipo de texto incrustado en otro texto. Las citas en estilo Vancouver por lo general utilizan un sistema de secuencia numérica. Son numeradas consecutivamente en el orden de aparición en el texto. Se identifican con números arábigos entre corchetes, ejemplo [1].

#### a) Tipo de citas

- **Cita directa:** La que se transcribe textualmente. Ejemplo: “La cita textual breve, de menos de cinco renglones, se inserta dentro del texto entre comillas, y el número correspondiente se coloca al final, después de las comillas y antes del signo de puntuación” [3].
- **Cita corta:** Menos de cinco renglones.
- **Cita larga:** Más de cinco renglones. Se escribe fuera del texto, dejando doble espacio y sangría, entre comillas y en bastardilla.
- **Cita indirecta:** Mención de las ideas de un autor con palabras de quien escribe. Se escribe dentro del texto sin comillas, el número de la referencia se escribe inmediatamente después de citar su idea. Ejemplo: La mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín [5].

#### b) Tipo de cita según redacción

- **Cita integral:** Es aquella donde el nombre del autor forma parte de la oración. El nombre se integra dentro del texto. El número de la referencia se escribe después del apellido del autor y antes de citar su idea. Ejemplos: Como dice Londoño [5] la mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín. Cita Indirecta Según Sanz Pinyol [1] “Desde el punto de vista de la caracterización de los discursos, en el aula suelen producirse diferentes géneros” Cita directa
- **Cita no integral:** No se menciona el nombre del autor dentro del texto. Ejemplos:  $\epsilon$  la mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín [5]. Cita Indirecta “Desde el punto de vista de la caracterización de los discursos, en el aula suelen producirse diferentes géneros” [1]. Cita directa.

### 5.2 Referencias bibliográficas:

- Conjunto de datos suficientemente detallados que permite identificar un documento. En el caso de que la referencia citada disponga de un identificador de objeto digital (DOI) u otro homologable (ARK, Handle, etc) esta información deberá formar parte de la referencia de acuerdo a las normas de Vancouver. Deben ser numeradas consecutivamente en el orden en que son mencionadas en el texto. Identificar las referencias en el texto, cuadros y leyendas con números arábigos entre corchetes. Las referencias citadas sólo en los cuadros o en las leyendas de las figuras deben ser numeradas de acuerdo con la secuencia establecida por la primera identificación en el texto del cuadro o figura particular.
- Usar el estilo basado en los formatos utilizados por la US National Library of Medicine (NLM) en el Index Medicus. Los títulos de las revistas deben ser abreviados de acuerdo al estilo que utiliza el Index Medicus. Consultar la lista de revistas indizadas en el Index Medicus, publicado anualmente como una separata por la NLM y como una relación en el volumen del mes de enero del Index Medicus.
- Evitar el uso de los resúmenes como referencias. Las referencias a artículos aceptados pero no publicados deben ser desig-

- nadas como “en prensa” o “en avance”; los autores deben obtener permiso por escrito para citar tales artículos así como la verificación de que ellos han sido aceptados para publicación. La información de los manuscritos remitidos pero no aceptados debe ser citada en el texto como “observaciones no publicadas” con el consentimiento escrito de los autores.
- No citar una “comunicación personal” a menos que proporcione información esencial no disponible de una fuente pública, en cuyo caso el nombre de la persona y la fecha de la comunicación deben ser citados entre paréntesis en el texto. Para los artículos científicos, los autores deben obtener permiso por escrito y confirmación de exactitud de la fuente de la comunicación personal.
  - Las referencias deben ser verificadas por el autor o autores en los documentos originales.
  - El estilo de Requisitos Uniformes (de Vancouver) se basa principalmente en el estilo estándar ANSI adaptado por la NLM para su base de datos.
- a) Artículos de revistas
- Si una revista lleva paginación continua a través de un volumen (como muchas revistas médicas lo hacen), el mes y el número del volumen deben ser omitidos: Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996; 124: 980-3.
  - Más de seis autores: Parkin DM, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Friedl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br J Cancer* 1996; 73: 1006-12.
  - La organización como autor: The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 164:2824.
  - Sin autor mencionado: Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84: 14.
  - Artículo no escrito en inglés: Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral inftapatellar seneruptur hos tidligere frisk kv-vinne. *Tdsskr Nor Laegeforen* 1996; 116: 412.
  - Volumen con suplemento: Shen M Zhang QF. Risk assesement of nikel carcinogenicity and occupational lung cancer *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1: 275-82.
  - Número con suplemento: Paybe DK, Sullivan ME, Massie MJ. Women’s psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996; 23 [1 Suppl 2. 89-97].
  - Volumen con parte: Ozben T, Nacirarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in noninsulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995; 32 (Pt 3): 303-6.
  - Número con parte: People GH, Mills SM. One Hundred consecutive cases offlap lacerations of the leg in ageing patients. *N Z Med J* 1994,107 [986 PH]: 377-8.
  - Número sin volumen: Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995; [320]: 110-4.
  - Sin número, ni volumen: Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr Opin Gen Surg* 1993; 325-33.
  - Compaginación en números romanos: Fisher GA, Sikie BI. Drug in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr 9[2]: xi xii.
  - Tipo de artículo indizado tal como es requerido: Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson’s disease [carta]. *Lancet* 1996; 347 1337. Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [resumen] *Kidney Int* 1992; 42: 1285.
  - Artículo conteniendo una retractación: Garcy CE, Schwarzman AL, Rise ML. Ceruloplasmin gene defect associated with epilepsy in EL mice [retraction de Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML. In: *Nat Genet* 1994; 6.: 426-31]. *Nat Genet* 1995,11: 104.
  - Artículo retractado: Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBPgene expression during mouse development (retractado en *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 31271. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 1083-8.
  - Artículo con errata publicada: Hamlim JA, Kahn AM. Herniorraphy in symptomatic patients following inguinal hernia repair [publicado con errata en *West J Med* 1995; 162.2781]. *West J Med* 1995; 162 28-31.
- b) Libros y otras monografías
- Autor (o autores) personal: Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publisher; 1996.
  - El editor(es), compilador(es) como autor: Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York; Churchill Livingstone; 1996.
  - Una organización como autor y editor: Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medical program. Washington (DC): The Institute; 1992].
  - Un capítulo en un libro: Phillips SJ, Whisnant JP Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Kaven Press; 1995. p. 465-78.
  - Libro de congreso: Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings ofthe 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 199 Oct 1519; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.
  - Ponencia de un congreso: Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degouler P, Piemme TE, Rienhoff O, editors MEDINFO 92 m Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10, Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.
- c) Informe científico o técnico
- Emitido por la agencia financiante o auspiciadora: Smith P, Golladay K Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report Dallas (TX):

Dept. of Health and Human Services (US), Office of Evaluation and Inspections; 1994 Oct. Report N° HHSIG0E169200860.

- Emitido por la agencia ejecutante:  
Field MJ, Tranquada RE, Feasley JC, editors. Health services research: work force and educational issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract N° AHCP282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and Research.
- d) Disertación  
Kaplan SJ. Post-hospital home health care; the elderly's access and utilization [dissertation]. St Louis (MO): Washington Univ; 1995.
- e) Patente  
Larsen CE, Trip R, Johnson CR, inventors; Novoste Corporation, assignee. Methods for procedures related to the electrophysiology of the heart. US patent 5.529,067, 1995 Jun Material publicado.
- f) Artículo de periódico  
Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 5000 admissions annually. The Washington Post 1996; jun 21; Sect. A:3 [col5].
- g) Material audiovisual  
HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassette]. St Louis (MO): Mosby-Year Book 1995.
- h) Material legal  
Ley Pública  
Preventive Health Amendments of 1993, PubL. N° 103-183, 107 Stat, 2226 (Dec. 14, 1993).  
Dispositivo no decretado  
Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong. 1st Sess (1995).  
Código de regulaciones federales  
Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441. 257 (1995).
- i) Material inédito  
• En prensa o "en avance":  
Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Eng J Med. En prensa 1997
- j) Material electrónico  
• Artículo de una revista en formato electrónico:  
Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis [serial on line] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5], 1(1): [24 screens]. Available from: VRL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.
- Monografía en formato electrónico:  
CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM]. Reeves JRT, Malbach H, CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 20. San Diego: CMEA; 1995.
- Archivo computarizado:  
Hemodynamics 111: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2 Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

## 6. Tablas

Todas las tablas deben agruparse a continuación de las leyendas de las figuras, cada una en página separada. Deberán estar numeradas secuencialmente con números romanos, contener un título antes de la tabla y aclaraciones al pie, si fuese necesario. Al pie de cada tabla debe figurar la aclaración de las abreviaturas empleadas, así como toda la información relacionada con la forma de expresión de los resultados y el tratamiento estadístico que los autores consideren necesaria. Las tablas deben ser comprensibles por sí mismas. Para la elaboración de las tablas, se recomienda utilizar el procesador de texto Word y seleccionar el Estilo de Tabla "Tabla básica 1".

## 7. Figuras

Todas las figuras deben agruparse a continuación de las tablas, cada una en página separada. Deberán estar numeradas secuencialmente con números arábigos. Las fotografías y las figuras podrán tener colores, aunque, en el caso de las figuras, el fondo debe ser blanco. El título de las figuras no debe incluirse junto a las mismas sino en la sección "Leyendas de Figuras". En dicha leyenda, debe incluirse el título de la figura, la aclaración de las abreviaturas empleadas y toda la información relacionada con la forma de expresión de los resultados y el tratamiento estadístico que los autores consideren necesaria. En caso de figuras, fotografías o tablas tomadas de otra publicación, se debe citar la fuente y además enviar el permiso escrito otorgado por el propietario intelectual de dicho material para que el mismo sea publicado en ByPC.

## 8. Ortografía y formas de expresión

- Se debe evitar la utilización de palabras en otros idiomas y, cuando ello sea indispensable, deberán ser colocadas en itálica [Ej.: *in vitro*].
- El estadístico "p" debe ser escrito en minúscula.
- En la expresión de los resultados, se debe dejar espacio entre la cifra y los símbolos o las unidades [Ej.:  $p < 0,05$ ;  $32 \pm 2$  g/L].
- Unidades: se deben emplear las unidades utilizadas más frecuentemente en nuestro medio para cada analito [Ej.: glucosa, urea, ácido úrico, lípidos, lipoproteínas, apoproteínas en mg/dL].
- Las abreviaturas deben ser aclaradas la primera vez que aparecen en el texto ubicándolas entre paréntesis, a pesar de que se trate de abreviaturas ampliamente conocidas [Ej. hemoglobina (Hb)].
- En la expresión de los resultados, tanto la media como la mediana deben contener la misma cantidad de decimales que sus respectivos desvíos estándar, errores, percentilos o rangos [Ej.  $9,25 \pm 0,78$ ].
- En la expresión de los resultados, la separación entre el entero y los decimales se debe hacer mediante comas y no con puntos, lo cual es propio del idioma inglés (3,25), excepto para el resumen en inglés (Abstract), en el cual se deben emplear puntos (3.25).
- En el texto, cuando un número aparece al principio de la oración, deberá ser escrito en letras [Ej. Veinte pacientes].

## Tolerancia inmunológica: del “horror autotoxicus” a la inmunorregulación moderna

En medicina, el término “tolerancia” se aplicó inicialmente a la resistencia frente a venenos. Ya un siglo antes de Cristo, Mitrídates VI (El Grande), Rey del Ponto, introdujo el concepto de *mitridatismo*: estado en que el organismo se vuelve resistente (tolerante) a la acción de determinados tóxicos, debido a la ingestión sucesiva, y en pequeñas dosis, del mismo tóxico. Este uso temprano del término sentó una analogía conceptual, que siglos más tarde sería retomada por la inmunología para describir otro tipo de resistencia: “La tolerancia inmune”. Éste, es un estado de falta de respuesta específica a un determinado antígeno, inducido por exposición previa al mismo. Aunque, puede inducirse tolerancia a antígenos no propios, el aspecto más interesante es el que hace referencia a la autotolerancia, es decir, que el organismo evita la respuesta inmune frente a los propios antígenos. Este estado de tolerancia a lo propio, se impide en procesos altamente complejos y sofisticados que tienen lugar durante el desarrollo y no está codificado genéticamente.

De la misma manera que el concepto de “tolerancia”, la noción de inmunidad también atravesó una transformación semántica antes de adquirir su significado biológico actual, con un origen extra médico. En la antigüedad se aplicaba a personas liberadas de impuestos u obligaciones. Luego comenzó a usarse para describir a quienes no adquirían una enfermedad infecciosa. La primera referencia médica clara aparece en el año 434 a.C. cuando Tucídides en *La guerra del Peloponeso*, describe una plaga que devastó gran parte de Atenas. Las personas que habían sobrevivido quedaban “libres” de la enfermedad, es decir, inmunes.

Recién a comienzo del siglo XX, Paul Ehrlich, considerado el padre de la inmunología, introdujo el concepto de anticuerpos (*Antikörper*, en alemán) y propuso la existencia de “cadenas laterales” en la superficie celular – primer modelo de receptor inmunitario – capaces de unirse específicamente a toxinas y antígenos. Estas cadenas producidas en exceso, serían liberadas al suero como anticuerpos, anticipando, además, la idea de memoria inmunológica. Sin evidencia experimental directa, su intuición se adelantó de forma sorprendente, a lo que más tarde demostraría la biología molecular. Ehrlich, introdujo también la idea de “tolerancia a lo propio”, postulando que el organismo debe reconocer los antígenos propios y que, si no lo hiciera, podría reaccionar contra sí mismo, concepto que denominó “horror autotoxicus”. Ehrlich y su discípulo Ilja Metchnikoff recibieron, en 1908, el Premio Nobel de Medicina por sus aportes fundamentales a la inmunidad.

Posteriormente, en 1938 Traub indujo tolerancia específica al administrar a un ratón, intraútero, virus de la coriomeningitis linfocitaria, cuando estos ratones en su vida adulta

eran enfrentados nuevamente con el virus no generaban una respuesta inmune. Sin embargo, esta infección, en ratones normales adultos, producía una fuerte respuesta de anticuerpos neutralizantes.

Un hito fundamental en la comprensión moderna de la tolerancia inmunológica se produjo cuando, en 1945, R.D. Owen realizó una observación, considerada un “experimento de la naturaleza”, al estudiar mellizos bicigotos bovinos, donde advirtió que compartían grupos sanguíneos idénticos pese a poseer genotipos diferentes. Demostró que dicha concordancia no derivaba de la identidad genética, sino del intercambio de células hematopoyéticas entre los fetos a través de la anastomosis placentaria, lo que generaba un quimerismo hematológico estable desde etapas tempranas del desarrollo. Estas observaciones proporcionaron una evidencia crucial: el sistema inmune en desarrollo es capaz de aceptar como “propias” células genéticamente ajenas cuando la exposición ocurre en el período fetal.

Fue Peter Medawar (1953) quien explicó la tolerancia inmunológica, al observar que ratones de una cepa A expuestos en la etapa embrionaria a células de ratones de la cepa B ya en la etapa adulta, aceptaban trasplantes hísticos de la cepa B pero rechazaban los de la cepa C. Estos experimentos iban de la mano de lo propuesto por Frank Macfarlane Burnet (1957) quien formuló la teoría de la selección clonal, proponiendo que cada antígeno que penetra en el organismo, luego del nacimiento, selecciona un determinado inmunocito que se divide y da lugar a un clon de células hijas, todas con la misma especificidad. Sin embargo, los antígenos presentes antes del nacimiento dan lugar a la delección clonal de dichas células, a las que denominó “clones prohibidos”. Burnet y Medawar recibieron el Premio Nobel en 1960.

Ya en los años 60 y 70 se definieron los mecanismos de tolerancia central en linfocitos T, con los trabajos de Zinkernagel y Doherty (Premio Nobel 1996), quienes manifestaron que la eliminación clonal de linfocitos T en el timo, el papel esencial de la interacción entre el receptor celular T (TCR) y el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC).

Paralelamente, los trabajos de David Nemazee indicaron que los linfocitos B inmaduros autorreactivos pueden ser eliminados o someterse a la edición del receptor para continuar con su ruta de maduración. De manera independiente, Martin Weigert demostró que los linfocitos B son capaces de modificar sus genes de inmunoglobulinas para dejar de ser autorreactivos. Esto consolidó el concepto de edición del receptor como mecanismo central de tolerancia B.

En un esfuerzo colectivo, los grupos de Diane Mathis, Mark Anderson, Christofer Goodnow y Adrian Liston dilucidaron la función del gen AIRE (Autoimmune Regulator). Este factor

promueve la transcripción en el epitelio medular tímico, de numerosos genes específicos de antígenos presentes en tejidos periféricos. Esta expresión ectópica de Ag permite la eliminación (o educación) de linfocitos T autorreactivos durante la selección negativa. Las mutaciones en el gen AIRE causan el síndrome autoinmune poliglandular tipo 1 (APECED).

Aun así, la tolerancia central no elimina todas las células autorreactivas. De hecho, es fisiológico que existan linfocitos y anticuerpos con cierto grado de autorreactividad, necesarios para funciones de homeostasis, vigilancia y eliminación de componentes celulares y antígenos.

En la periferia, intervienen mecanismos de tolerancia, que evitan que linfocitos autorreactivos que escapan de la selección central se activen de forma inadecuada en los tejidos. Estos incluyen:

- Anergia clonal, por reconocimiento de antígenos sin coestimulación.
- Supresión por linfocitos reguladores (Treg), naturales o inducibles.
- Deleción clonal periférica, por apoptosis intrínseca (vía Bim/p53) o extrínseca (Fas/FasL).
- Ignorancia clonal, cuando el antígeno está en baja concentración o está secuestrado.
- Mecanismo inhibitorio de la respuesta inmune a través del factor de transcripción FOXP3 y generación de linfocitos T reguladores (LTreg).

Finalmente, es relevante mencionar la teoría de la red idiotipo – antiidiotipo propuesta por Niels K Jerne quien recibió el Premio Nobel en 1984. Los idiotipos (Id) son determinantes antigénicos (epitopes) propios de la inmunoglobulina, pueden ser públicos, si están en la región constante, o privados si están en la región variable. Los Id privados son únicos de cada inmunoglobulina. Uno de los Id en particular, el que está dirigido contra el sitio de unión al antígeno y que es inhibible por el mismo, va a ser la imagen del antígeno al cual está dirigido el anticuerpo. A su vez, este anti-Id privado, denominado Ab2 $\beta$ , tiene un anticuerpo anti-anti-Id y así sucesivamente, hasta formar una gran red regulatoria. Esta red tiene como función mantener el equilibrio inmune, limitar las respuestas excesivas, contribuir a la memoria y autorregular el sistema.

La tolerancia inmune se sostiene mediante mecanismos centrales y periféricos, y resulta esencial para preservar el equilibrio dinámico, celular y macromolecular del organismo, garantizando el reconocimiento de lo propio sin activar la respuesta autoinmune anormal. Su estudio ha sido central en las ciencias biomédicas, desde las primeras intuiciones de Paul Ehrlich hasta los aportes fundamentales de Mary E. Brunkow, Fred Ramsdell y Shimon Sakaguchi (Premio Nobel 2025) en la regulación inmunitaria a través de los LTreg. Este recorrido intelectual y experimental transformó nuestra comprensión del sistema inmune y fue reconocido al más alto nivel, contribuyendo a la obtención de varios Premios Nobel vinculados a este campo.

## Referencias bibliográficas

- Sanchez-Ramón S, Butnaru D. Modelos de reconocimiento inmunológico: tolerancia e inmunidad en el marco de la evolución del conocimiento científico. *Inmunología*. 2013;32(4):1390-147, <https://www.elsevier.es/es-revista-inmunologia-322-articulo-modelos-reconocimiento-inmunologico-tolerancia-e-S0213962613000760>
- Owen RD. Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. *Science*. 1945;102(2651):400-1, <https://doi.org/10.1126/science.102.2651.400>
- Siachique HM, Valero O, Iglesias AG. Tolerancia inmunológica, un recorrido en el tiempo: ¿Cómo discriminar entre lo propio y lo extraño? *Rev. Colomb. Reumatol.* 2013;20(4):237-249, [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-81232013000400008](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-81232013000400008)
- Ribatti D. Peter Brian Medawar and the discovery of acquired immunological tolerance. *Immunol Lett*. 2015;167(2):63-6, <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2015.07.004>
- Silverstein AM. *A history of immunology*. 2<sup>nd</sup> ed. San Diego: Academic Press, 2009
- Abba AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and molecular immunology*. 9<sup>th</sup> ed Philadelphia: Elsevier; 2018

## Dr. Orlando Gabriel Carballo

Bioquímico - Especialista en Inmunología

Laboratorio de Autoinmunidad, Centro Diagnóstico Rossi. Profesor Consulto, Universidad Hospital Italiano, Unidad Académica Ciencias Aplicadas, Carrera de Farmacia y Bioquímica. Cátedra de Microbiología e Inmunología. Buenos Aires. Argentina.



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

ARTÍCULO ORIGINAL

# Prevalencia y perfil de sensibilidad antimicrobiana de microorganismos aislados en infecciones urinarias de adultos de la comunidad de la Ciudad de Córdoba, Argentina

## Prevalence and antimicrobial susceptibility profile of microorganisms isolated in urinary infections of adults in the community from Córdoba city, Argentina

Ribotta, María Eugenia<sup>1\*</sup>; Boggio, Elisa<sup>2</sup>; Ruiz, Susana Eugenia<sup>3</sup>; Carrizo, Silvia Guadalupe<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio Central, Hospital de Pronto Atención "Madre Teresa de Calcuta". Córdoba, Córdoba, Argentina.

<sup>2</sup>Laboratorio Central, Departamento de Bacteriología Clínica, Clínica y Maternidad del Sol. Córdoba, Córdoba, Argentina.

<sup>3</sup>Laboratorio Central, Área de Microbiología, Laboratorio LACE S.A.. Córdoba, Córdoba, Argentina.

<sup>4</sup>Laboratorio Central, División Microbiología, Hospital Rawson. Córdoba, Córdoba, Argentina.

\*Contacto: Ribotta, María Eugenia; Hospital de Pronto Atención "Madre Teresa de Calcuta". Córdoba, Córdoba (X5000), Argentina; [eugribotta@hotmail.es](mailto:eugribotta@hotmail.es)

### Resumen

Introducción: Las infecciones del tracto urinario (ITU) constituyen una de las patologías más frecuentes. Su incidencia varía según la edad y el sexo. Evaluar la prevalencia de los uropatógenos y el perfil de sensibilidad antibiótica es fundamental para un correcto manejo del cuadro estableciendo tratamientos precoces que reduzcan la gravedad, morbilidad y selección de resistencia. Objetivos: Describir la prevalencia, resistencias antibióticas y mecanismos de resistencia de los agentes de ITU en la comunidad. Materiales y métodos: Se analizaron 6824 urocultivos desde el 1° de abril al 30 de septiembre del 2022 en pacientes con sospecha de ITU de la comunidad, en el Laboratorio LACE S.A., Córdoba, Argentina. Se evaluó la etiología global y la distribución de uropatógenos por edad y sexo. Resultados: Se reportó 24,0% de urocultivos positivos. La edad media de la población fue de 58 años (DE=19,83). La ITU tuvo mayor prevalencia en mujeres y aumentó con la edad. *Escherichia coli* fue el microorganismo principalmente aislado, que representó el 72,6% del total y mantuvo dicha prevalencia en todos los grupos etarios y en ambos sexos. Los porcentajes de resistencia de los principales antimicrobianos para *Enterobacteriales* fueron los siguientes: ampicilina: 64,9%, ciprofloxacina: 42,3%, ampicilina/sulbactam: 39,9% y trimetoprima/sulfametoxazol (TMS): 36,2%. Además, en este grupo de microorganismos, 12,6% produjo betalactamasas de espectro extendido y 1,1% carbapenemasas. Conclusión: *Escherichia coli* fue el microorganismo principalmente aislado en este entorno, con tasas de resistencia superiores al 20% para ampicilina, ciprofloxacina y TMS. Por lo tanto, según recomendaciones del Consenso Argentino de Intersociedades de Infecciones Urinarias, estos antibióticos no deberían utilizarse empíricamente. Este trabajo destaca la importancia de orientar el tratamiento empírico considerando edad y perfil de resistencia local, además de realizar estudios periódicos de vigilancia.

**Palabras clave:** infección del tracto urinario, prevalencia, resistencia antibiótica, mecanismos de resistencia, tratamiento empírico.

### Abstract

Introduction: Urinary tract infections (UTIs) are among the most common pathologies. Their incidence varies according to age and sex. Evaluating the prevalence of uropathogens and the antibiotic sensitivity profile is essential for proper management, establishing early treatments to reduce severity, morbidity and resistance selection. Objectives: To describe the prevalence, antibiotic resistance and resistance mechanisms of UTI agents in the community from Córdoba city, Argentina. Materials and methods: A total of 6824 urine cultures from patients with suspected UTIs in the community were analyzed from April 1<sup>st</sup> to September 30<sup>th</sup> 2022, at the LACE S.A. Laboratory, Córdoba, Argentina. The overall etiology and distribution of uropathogens by age and sex were evaluated. Results: About 24.0% of urine cultures were positive for UTIs. The mean age of the population evaluated was 58 years (SD=19.83). UTIs were more prevalent in women than in men and increased with age. The microorganism mainly isolated was *Escherichia coli*, representing 72.6% of the total, maintaining this prevalence in all age groups and in both sexes. The resistance percentages to the main antimicrobials for Enterobacteriales were: ampicillin 64.9%, ciprofloxacin 42.3%, ampicillin/sulbactam 39.9% and trimethoprim/sulfamethoxazole (TMS) 36.2%. Additionally, in this group of microorganisms, 12.6% produced extended-spectrum beta-lactamases and 1.1% carbapenemases. Conclusion: *Escherichia coli* was the microorganism mainly isolated, with resistance rates higher than 20% for ampicillin, ciprofloxacin and TMS. Therefore, according to the recommendations of the "Argentine Intersociety Consensus on Urinary Tract Infections", these antibiotics should not be used empirically. This context highlights the importance of guiding empirical treatment considering age and local resistance profile, and conducting periodic surveillance studies.

**Keywords:** urinary tract infection, prevalence, antibiotic resistance, resistance mechanisms, empirical treatment.

## Introducción

Las infecciones del tracto urinario (ITU) representan un desafío clínico en la práctica médica actual y son la segunda causa de consulta primaria. Su incidencia varía con el sexo y la edad. Afecta principalmente a mujeres de todas las edades, a excepción de los primeros 3 meses de vida, período en el cual predomina en varones<sup>1-4</sup>. Los factores predisponentes en el sexo femenino se relacionan con una menor longitud uretral, las prácticas sexuales, alteraciones en la microbiota vaginal, factores hormonales, entre otros<sup>1,2,4,7</sup>.

Las ITU abarcan una amplia gama de presentaciones clínicas, tales como cistitis (síndrome que comprende disuria, polaquiuria, tenesmo, entre otros síntomas) o pielonefritis aguda (caracterizada por dolor y/o sensibilidad en la fosa renal y fiebre), entre otras afecciones, que pueden conducir a condiciones crónicas y potencialmente mortales, si no se tratan adecuadamente<sup>4,5</sup>.

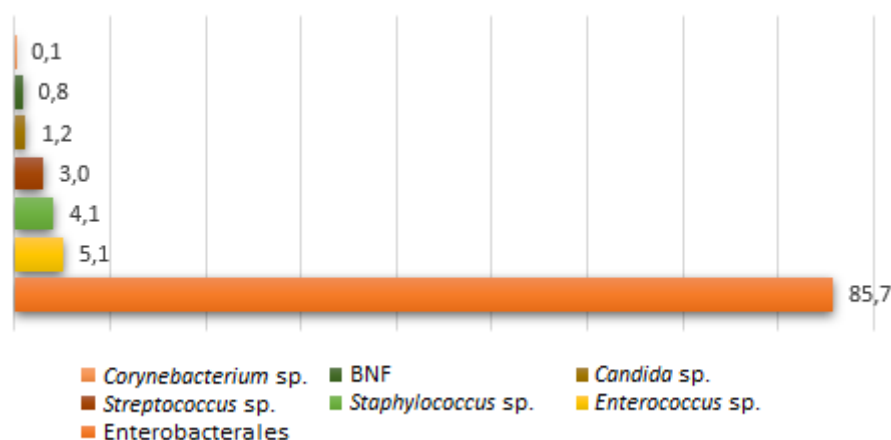
La fisiopatología de las ITU involucra un proceso complejo donde las particularidades del uropatógeno interactúan con las características propias del huésped. La mayoría de estas infecciones se producen por vía ascendente como consecuencia de la colonización de la zona periuretral y uretral con microorganismos de origen intestinal. La microbiota fecal constituye un importante reservorio para uropatógenos, sobre todo *Escherichia coli* (*E. coli*). De acuerdo con estudios previos, más del 90% de las ITU son monomicrobianas<sup>8</sup>. La etiología es diversa, si bien *E. coli* es el principal microorganismo aislado en pacientes sin comorbilidades. Sin embargo, no se puede subestimar la importancia de otros patógenos, como *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Enterococcus* spp. y *Staphylococcus saprophyticus* (*S. saprophyticus*), que también pueden desempeñar un papel significativo. En cuanto a *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), su rol etiológico está en aumento y ha sido asociada con ITU tanto comunitarias como nosocomiales, que presentan un desafío clínico adicional debido a su capacidad para desarrollar resistencia a múltiples antibióticos. Por otro lado,

*Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*) exhibe una notable virulencia y capacidad para formar cálculos urinarios, lo que contribuye a la cronicidad y complicaciones de las ITU. Además, *Enterococcus* spp., generalmente asociado con infecciones intrahospitalarias, está en aumento como agente de ITU en el nivel comunitario. Finalmente, *S. saprophyticus*, aunque menos frecuente que otros agentes, es relevante especialmente en mujeres jóvenes sexualmente activas<sup>3-5</sup>.

En los últimos años, se ha producido un incremento de la resistencia a antimicrobianos, principalmente en bacilos Gram negativos. Esto ha generado preocupación debido a su impacto en la eficacia de los tratamientos médicos y la propagación de microorganismos resistentes. En las ITU, generalmente, la terapia antibiótica se instaura empíricamente, por lo que es necesario conocer la epidemiología y frecuencia de las resistencias locales. La Sociedad Argentina de Infectología (S.A.D.I.), en su "Consenso Argentino de Intersociedades de Infecciones Urinarias" recomienda el uso de nitrofurantoína, cefalexina y fosfomicina trometamol como tratamiento empírico de ITU baja no complicada, considerando que la tasa de resistencia de un antibiótico debe ser menor del 20% para utilizarse ante sospecha de esta afección<sup>4-6</sup>. Respecto de la trimetoprima/sulfametoxazol (TMS) y la ciprofloxacina, los estudios regionales realizados en la provincia de Córdoba muestran tasas de resistencia variables, pero, en general, se encuentran en torno al 30%, por lo tanto, se desaconseja su uso de manera empírica<sup>2-4,6,8</sup>.

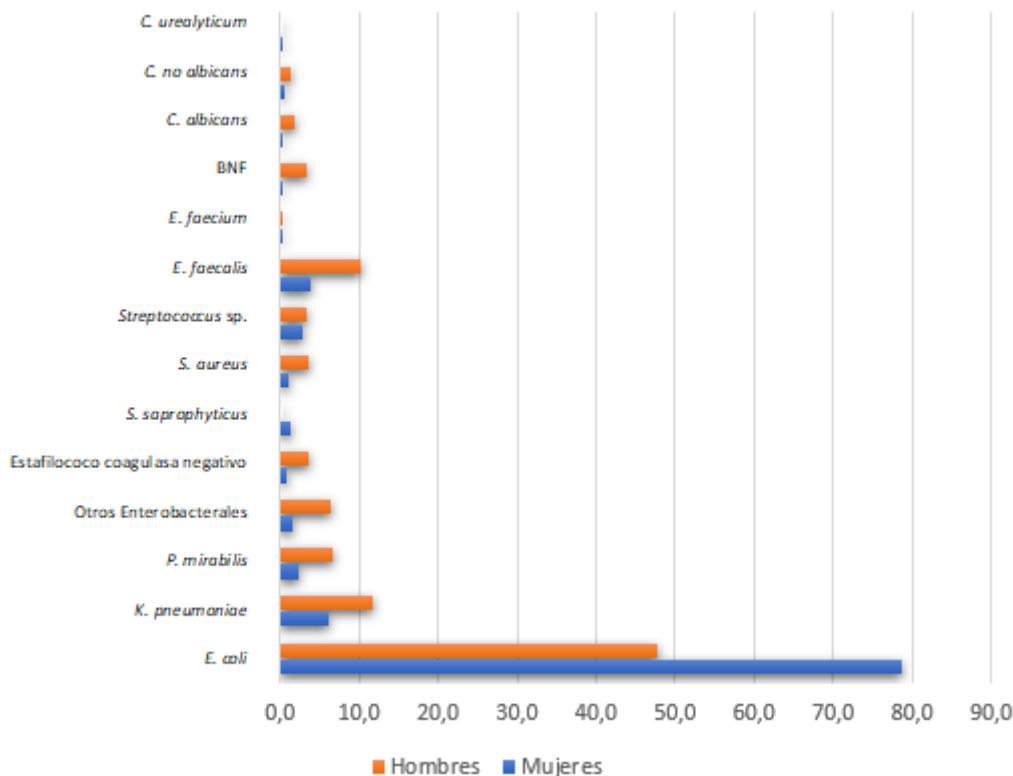
La variabilidad en la sensibilidad antibiótica se atribuye en gran medida a la adquisición de mecanismos de resistencia por parte de los microorganismos, tales como la expresión de las enzimas betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas, que confieren resistencia a la mayoría de los antibióticos beta-lactámicos provocando una disminución en la efectividad de los tratamientos con falla terapéutica. Por estos motivos, vigilar los mecanismos de resistencia circulantes en la comunidad aporta información en la toma de decisiones de la terapia empírica inicial<sup>8</sup>.

**Figura 1.** Microorganismos aislados de urocultivos positivos de adultos de la comunidad: distribución por grupos, en orden de frecuencia.



► Representación de microorganismos aislados de urocultivos positivos de adultos de la comunidad, distribuidos por grupos, en orden de menor a mayor frecuencia: *Corynebacterium* sp., bacilos no fermentadores de la glucosa (BNF), *Candida* sp., *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Enterococcus* sp. y Enterobacterales.

**Figura 2.** Microorganismos aislados de urocultivos positivos de adultos de la comunidad: distribución por sexo, en orden de frecuencia.



► El siguiente gráfico representa la frecuencia de los principales microorganismos causantes de ITU en la comunidad, discriminados por sexo y ordenados de mayor a menor: *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, otros enterobacterales, *Staphylococcus coagulasa negativa*, *S. saprophyticus*, *S. aureus*, *Streptococcus sp.*, *E. faecalis*, *Enterococcus faecium* [*E. faecium*], bacilos no fermentadores de la glucosa (BNF), *C. albicans*, *C. no albicans*, *Corynebacterium urealyticum* [*C. urealyticum*].

En este contexto, el objetivo de este trabajo es describir la prevalencia, resistencias antibióticas y mecanismos de resistencia de los microorganismos causales de ITU en pacientes ambulatorios que asistieron al laboratorio privado LACE S.A. de la provincia de Córdoba, Argentina.

### Materiales y métodos

Se realizó un estudio retrospectivo, transversal, descriptivo y observacional de los resultados de los urocultivos de pacientes con diagnóstico de ITU que concurrieron al laboratorio privado LACE S.A. de la provincia de Córdoba, Argentina, desde el período comprendido del 1° de abril al 30 de septiembre de 2022.

La población estudiada abarcó adultos de 18 a 99 años, de ambos sexos, con sospecha de ITU adquirida en la comunidad. Para profundizar en el análisis, se los dividió en tres grupos etarios: grupo 1 (18-40 años), grupo 2 (41-60 años) y grupo 3 (más de 61 años). Además, se realizó un estudio comparativo de la etiología de ITU entre ambos sexos, sin considerar la edad de los pacientes.

Se excluyeron individuos con tratamiento antibiótico previo, alteraciones estructurales y/o funcionales de las vías urinarias (vejiga neurogénica, litiasis urinaria, anomalías anatómicas de las vías urinarias, reflujo vesicoureteral), con cateterismo urinario permanente o intermitente, inmunosuprimidos, oncológicos y hospitalizados por más de 72 h.

Debido a que el estudio fue retrospectivo, la información recolectada se tomó de una base de datos randomizados

sin requerir consentimiento informado de los pacientes.

Se analizaron los urocultivos positivos del período de tiempo antes mencionado, y aquellos que cumplían con los criterios de inclusión del estudio fueron tabulados en una hoja de cálculo (Microsoft Excel) para su posterior análisis.

Las muestras de orina se obtuvieron por micción espontánea con la técnica de chorro medio descrita por Lopardo, H.<sup>9</sup> y se procesaron dentro de las 2 horas de recolección o se conservaron a 4° C durante 24 horas. Aquellas con recuento de leucocitos de más de 5/campo de 400x en el examen microscópico del sedimento urinario se consideraron con respuesta inflamatoria positiva. Las coloraciones de Gram de las muestras en estudio no fueron realizadas.

Todas las muestras fueron sembradas con ansa calibrada de 5 µL en agar cromogénico (agar chromID® CPS, Biomerieux) e incubadas en aerobiosis a 35°C durante 24 h. Aquellas que presentaron respuesta inflamatoria, pero sin desarrollo en el cultivo inicial, fueron resembradas en agar chocolate (agar chocolate + PolyVitex (PVX), Biomerieux) e incubadas en microaerofilia a 35°C durante 48 h con la finalidad de investigar microorganismos fastidiosos.

La identificación bacteriana y la sensibilidad antibiótica fueron realizadas por el método automatizado VITEK®2 Compact (VITEK®2 Compact, Biomerieux). La interpretación de los perfiles de sensibilidad se basó en los puntos de cortes establecidos por el Clinical and Laboratory Standards Institute<sup>10</sup>.

Con las variables numéricas, se calcularon parámetros

estadísticos, tales como media, desviación estándar y mediana, mientras que, para variables categóricas, se obtuvieron las frecuencias porcentuales.

Para el procesamiento de datos, se empleó un software de análisis estadístico, InfoStat® (InfoStat®, versión 2020). La prueba de Chi-cuadrado se utilizó para comprobar la significancia estadística de las frecuencias obtenidas, y se asumió un valor de  $p < 0,05$ .

### Resultados

Durante el período en estudio, se procesaron 6824 urocultivos de pacientes de la comunidad con sospecha clínica de ITU. Del total de casos estudiados, se aislaron 1639 uropatógenos con desarrollo monomicrobiano, y se determinó un porcentaje de positividad del 24,0%. En 581 casos, se obtuvo desarrollo polimicrobiano (aislamientos con más de 3 microorganismos), lo cual representó un 8,5% de muestras contaminadas por errores en la recolección. En 4604 (67,5%), no hubo desarrollo de microorganismos. De estos últimos, 4449 (65,2%) no presentaron respuesta inflamatoria y 155 (2,3%) fueron negativos con respuesta inflamatoria.

El 81,1% de los urocultivos positivos ( $n=1329$ ) correspondieron a mujeres, y el 18,9% ( $n=310$ ), a varones. La edad media de la población estudiada fue de 58 años ( $DE=19,83$ ). Al discriminar por sexo, la edad media en varones fue de 66 años ( $DE=15,83$ ) y de 56 años ( $DE=20,19$ ) en mujeres.

La frecuencia de los grupos de microorganismos aislados mostró que el 86,0% correspondió a *Enterobacterales*, seguido por *Enterococcus* spp. con un 5,0% y *Staphylococcus* spp. con un 4,0%. La etiología de la ITU en la población estudiada puede observarse en la Figura 1.

En el análisis de la distribución de uropatógenos por sexo, *E. coli* fue el microorganismo aislado con mayor frecuencia, tanto en mujeres como en hombres, seguido de *K. pneumoniae* y *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), dato que resultó estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ). Es posible apreciar que el desarrollo de *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* y *E. faecalis* fue mayor en varones que mujeres.

La prevalencia porcentual de los agentes etiológicos distribuidos por sexo se visualiza en la Figura 2.

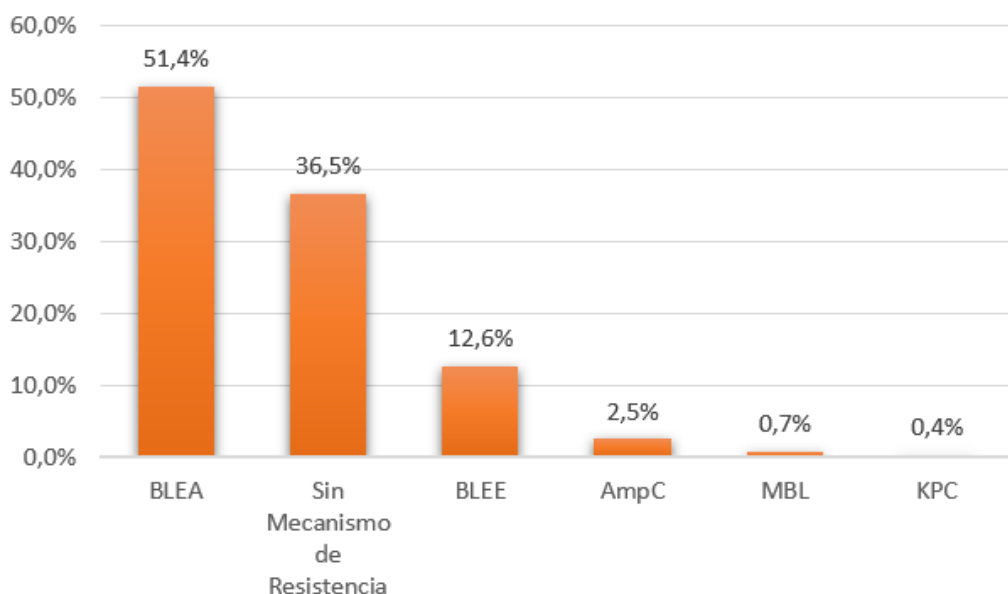
En cuanto a la tasa de positividad de los urocultivos por grupo etario, el grupo 3, de más de 61 años (51,9%;  $n=850$ ), obtuvo la mayor tasa respecto del resto de los rangos etarios (18 a 40 años: 22,9%,  $n=376$ ; 41 a 60 años: 25,2%,  $n=413$ ).

En la Tabla I, se representan los diferentes agentes etiológicos hallados por grupo etario.

Respecto de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana en los enterobacterales, se obtuvieron los siguientes porcentajes de resistencia [R; (n)]: ampicilina, 64,9% (912); ciprofloxacina, 42,3% (509); ampicilina/sulbactam, 39,9% (563); TMS, 36,2% (509); cefalosporinas de 1º generación, 19,2% (271); cefalosporinas de 3º generación, 15,2% (214); cefepime, 13,4% (188); gentamicina, 12,9% (182); nitrofurantoína, 12,5% (175); piperacilina/tazobactam, 7,8% (110); amikacina, 3,0% (42); carbapenemes, 1,1%<sup>15</sup>. En la Figura 3, se presentan los mecanismos de resistencia detectados en orden de frecuencia.

En las bacterias Gram positivas, *E. faecalis* ( $n=86$ ) presentó un porcentaje de R (n) de 28,1% (24) a ciprofloxacina y mostró fenotipo salvaje para el resto de los antibióticos (ampicilina y nitrofurantoína); en cuanto a *Staphylococcus* spp. ( $n=67$ ), el porcentaje de R (n) fue: gentamicina, 17,9% (12); ciprofloxacina, 17,9% (12) y menor del 10% para ni-

**Figura 3.** Mecanismos de resistencia del total de enterobacterales aislados de urocultivos positivos de adultos de la comunidad, en orden de frecuencia.



► Se representa la frecuencia de mecanismos de resistencia hallados en enterobacterales, provenientes de muestras de orina de pacientes adultos de la comunidad. (Betalactamasa de espectro ampliado [BLEA], sin mecanismo de resistencia, betalactamasa de espectro extendido [BLEE], betalactamasa tipo AmpC, carbapenemasa tipo metalobetalactamasa [MBL] y carbapenemasa tipo KPC).

**Tabla I.** Distribución de microorganismos aislados en urocultivos de pacientes con ITU de la comunidad, según los distintos grupos etarios.

Microorganismo (n= 1639)	Grupo etario (años)		
	18-40 (n=376)	41-60 (n=413)	Más de 61 (n=850)
<i>E. coli</i> (n= 1195)	16,7%	19,4%	36,9%
<i>K. pneumoniae</i> (n=117)	0,7%	2,0%	4,4%
<i>E. faecalis</i> (n=84)	1,3%	1,0%	2,7%
<i>P. mirabilis</i> (n=52)	0,6%	0,7%	1,9%
<i>S. agalactiae</i> (n=46)	1,2%	0,5%	1,1%
<i>S. aureus</i> (n= 26)	0,5%	0,5%	0,6%
coagulasa negativos (n=22)	0,3%	0,3%	0,7%
<i>S. saprophyticus</i> (n=19)	1,0%	0,1%	0,1%
<i>C. koseri</i> (n=12)	0,1%	0,3%	0,4%
<i>C. no albicans</i> (n=12)	0,1%	0,1%	0,6%
<i>E. cloacae</i> (n=9)	0,0%	0,1%	0,5%
<i>P. aeruginosa</i> (n=9)	0,1%	0,1%	0,4%
<i>C. albicans</i> (n=7)	0,1%	0,0%	0,4%
<i>K. aerogenes</i> (n=6)	0,1%	0,1%	0,2%
<i>M. morgani</i> (n=6)	0,0%	0,1%	0,2%
<i>K. oxytoca</i> (n=5)	0,1%	0,0%	0,2%
<i>A. baumannii</i> (n=4)	0,1%	0,0%	0,1%
<i>C. freundii</i> (n=3)	0,0%	0,0%	0,2%
<i>S. grupo viridans</i> (n=3)	0,1%	0,0%	0,1%
<i>C. urealyticum</i> (n=2)	0,0%	0,1%	0,1%
<i>E. faecium</i> (n=2)	0,0%	0,0%	0,1%

► Se representa la frecuencia de los microorganismos aislados en urocultivos de pacientes con ITU de la comunidad, en los distintos grupos etarios establecidos en el estudio realizado en el Laboratorio LACE S.A. de la provincia de Córdoba.

trofurantoína [1] y TMS [6]. Respecto de la meticilino resistencia de *Staphylococcus* spp., la misma fue evaluada a través de cefoxitina [FOX], y resultó el porcentaje de R (n) de 16,4% [11].

### Discusión

Las infecciones del tracto urinario (ITU) representan una causa significativa de morbilidad en pacientes de la comunidad. En este estudio, el 24,0% de los urocultivos resultaron positivos, cifra menor que la de los porcentajes reportados en otros trabajos<sup>1,2</sup>. Esto puede atribuirse a factores como variabilidad geográfica, condiciones socioeconómicas, entornos ambientales, entre otros aspectos que aportan a la incidencia y gravedad de las ITU.

Las ITU pueden ser causadas por diversos agentes, como virus, parásitos, hongos y bacterias, siendo estas últimas las más frecuentes, por lo que se enfocó este estudio en investigar su prevalencia. Debido a que la etiología puede variar según el

grupo demográfico estudiado, se llevó a cabo un análisis detallado de las tasas de incidencia por especie bacteriana agrupando a los pacientes según grupos de edad y sexo.

En el análisis de la distribución por sexo, se observó que 81,1% de las ITU ocurrió en mujeres. Este hallazgo se alinea con la bibliografía respaldando la evidencia de que las ITU afectan principalmente a las personas del sexo femenino. Esto posiblemente se debe a factores anatómicos y hormonales<sup>1, 4,6</sup>, lo que ha sido documentado en estudios previos<sup>1,2,8,11</sup>. Asimismo, se destaca que *E. coli* fue el microorganismo más frecuentemente aislado en todos los segmentos poblacionales analizados, lo cual concuerda con la literatura existente<sup>1,3,8</sup>.

Al evaluar la frecuencia de *Enterobacteriales*, es posible identificar que, en el sexo masculino, *E. coli* representó el 47,7%, seguido por *K. pneumoniae* [11,6%] y *P. mirabilis* [6,8%]. En el sexo femenino, *E. coli* representó el 78,8%; el resto de bacilos Gram negativos tuvo menor frecuencia, de

forma similar a lo reportado<sup>8</sup>.

En relación con los cocos Gram positivos, *E. faecalis* resultó el tercer agente de ITU más frecuente en ambos grupos representando el 10,3% en hombres y 3,8% en mujeres. Sin embargo, al examinar otros microorganismos, se observó que, para el sexo masculino, hubo un porcentaje mayor de *Staphylococcus* spp. (7,1%) respecto de las mujeres (3,4%). Existen pocas investigaciones que indaguen por qué los varones tienden a ser infectados en mayor proporción por microorganismos distintos de *E. coli*, por lo tanto, sería útil realizar un análisis centrado en este grupo para comprender mejor las causas. Por ende, los datos que arroja este estudio sobre la distribución por sexo de los microorganismos causales de ITU aportan valor para el desarrollo de estrategias de prevención y tratamiento que se adecuen a las poblaciones específicas afectadas por esta infección.

Al analizar los datos por grupos etarios, se observa que la mitad de la población estudiada corresponde a personas mayores de 61 años (51,9%). Esta tendencia se refleja en la distribución de microorganismos, con una frecuencia elevada de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *E. faecalis*. Se decidió considerar el estudio de Martos y col., que se enfoca en una población similar, ubicada en la misma área geográfica, y que emplea las mismas técnicas de análisis, como estudio de referencia para comparar nuestros resultados. Es importante destacar que, a diferencia de este estudio<sup>8</sup>, no se identificó a *S. saprophyticus* como una de las principales causas de ITU. Esto sugiere que la composición del grupo etario puede influir en la frecuencia de los microorganismos hallados. Además, es crucial considerar las posibles variaciones debido al período de tiempo analizado; mientras que este estudio abarcó un período de seis meses, el de Martos y col.<sup>8</sup> recopiló datos durante un período de dos años. Estas diferencias temporales pueden afectar las comparaciones entre ambos por lo que sería valioso extender el tiempo de recolección de datos.

En referencia a la susceptibilidad antimicrobiana, según el "Consenso Argentino de Intersociedades de Infecciones Urinarias"<sup>6</sup>, se indica nitrofurantoína, cefalexina y fosfomicina trometamol como opciones de tratamiento para ITU no complicada de la comunidad en ambos sexos. En este estudio, se obtuvo un porcentaje de resistencia del 12,5% a nitrofurantoína y del 19,2% a cefalosporinas de primera generación. En esta ocasión, no se evaluó fosfomicina trometamol. Se puede inferir que estos antibióticos pueden utilizarse como tratamiento empírico, ya que su porcentaje de resistencia es menor del 20,0%. Por el contrario, no sería recomendable administrar ampicilina, TMS, ciprofloxacina empíricamente, ya que exceden lo establecido<sup>6</sup>.

Finalmente, al examinar los mecanismos de resistencia identificados para el grupo de enterobacteriales, se observó que predominaron las betalactamasas de espectro ampliado (BLEA 51,4%), tanto adquiridas como naturales, seguidas por betalactamasas de espectro extendido (BLEE, 12,6%). Por esta razón, el tratamiento empírico con ampicilina

está desaconsejado, y sería recomendable evitar el uso de cefalosporinas para minimizar la selección de BLEE. En otros estudios<sup>8</sup>, se encontró menor frecuencia de microorganismos con expresión de BLEE, lo que indica un incremento en estos casos entre los pacientes de la comunidad. Consecuentemente, es crucial tomar medidas preventivas para abordar esta problemática. Por su parte, aunque imipenem y meropenem arrojaron resultados aceptables, además de su alto costo y de su administración parenteral, su uso rutinario es desaconsejado debido al riesgo de seleccionar carbapenemasas.

En síntesis, en este estudio se obtuvo una prevalencia de ITU del 24,0%, de una población de adultos de la comunidad que asistieron al Laboratorio LACE S.A., lo cual se encuentra en línea con la literatura<sup>1,2</sup>. Una característica distintiva es el envejecimiento poblacional en comparación con otros informes<sup>8</sup>. Se demuestra la mayor prevalencia en mujeres (81,1%), coherente con estudios previos<sup>2,3,8</sup>. Las disparidades de prevalencia entre géneros revelan una proporción más elevada de otros enterobacteriales y enterococos en hombres. En concordancia con la bibliografía<sup>6</sup>, se concluye que es clave la prudencia en la prescripción empírica de ciprofloxacina, ampicilina, ampicilina/sulbactam y TMS debido a su resistencia, menor del 20,0%. Asimismo, los mecanismos de resistencia, encabezados por BLEA seguidas de BLEE, resaltan la necesidad de estrategias preventivas. Estas medidas podrían incluir promoción de políticas de uso racional de antibióticos, fomento de vigilancia microbiológica continua y desarrollo de programas de concientización dirigidos al personal de salud y población general. Abordar estos desafíos de manera proactiva contribuirá a optimizar los tratamientos antimicrobianos y reducir el impacto individual y comunitario de ITU.

## Agradecimientos

Al Servicio de Bacteriología del Laboratorio LACE S.A. y sus integrantes, por brindarnos la posibilidad de realizar este trabajo ofreciéndonos los datos para analizar.

A nuestra colega, Virginia Pilar Fernández, por su aporte y colaboración en el análisis estadístico de los datos.

A nuestra colega y becaria de CONICET, Clara Nicole Castañares, por sus aportes, colaboración y dedicación en la redacción del trabajo.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no poseer conflicto de intereses.

## Referencias bibliográficas

1. Chiavassa L, Vaschalde G. Prevalencia y sensibilidad antibiótica de microorganismos causantes de infecciones del tracto urinario. 2015. [Internet]. [Consultado agosto 2024]. Disponible en: <https://www.cobico.com.ar/wp-content/archivos/2017/03/PREVALENCIA-Y-SENSIBILIDAD-ANTIBIOTICA-DE-MICROORGANISMOS-CAUSANTES-DE-INFECCIONES-DEL-TRACTO-URINARIO.pdf>
2. Morales-Espinosa R, Montalvo MR, Galarza-Ruiz E, Madrigal de León HG, Ponce-Rosas ER, González-Pedraza Avilés A. Características clí-

- nicas y microbiológicas de la infección de vías urinarias bajas en población ambulatoria. Rev. Cuba. Med. Gen. Integr. 2023; 39. [Internet]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mgi/v39n1/1561-3038-mgi-39-01-e2229.pdf>
3. Sainz PL, Berrueto F. Etiología y perfiles de sensibilidad en infecciones urinarias pediátricas de la comunidad. Presencia Bioquímica. 2011;5-10.
  4. Prieto L, Esteban M, Salinas J, Adot JM, Arlandis S, Peri L, et al. Documento de consenso de la Asociación Española de Urología en el manejo de las infecciones del tracto urinario recurrentes no complicadas. Actas Urol Esp. julio de 2015;39(6):339-48, <https://doi.org/10.1016/j.acuro.2014.10.003>
  5. Mandell, Douglas y Bennett. Enfermedades Infecciosas. Principios y Practica. 8.ª ed. Vol. 1. Elsevier; 919-946.
  6. Nemirovsky C, López-Furst MJ, Pryluka D, De Vedia L, Scapellato P, Colque A, et al. Consenso Argentino Intersociedades de Infección Urinaria 2018-2019 - Parte I. Medicina (Bs. As.). 2020;80(3):229-240, <https://www.scielo.org.ar/pdf/medba/v80n3/v80n3a06.pdf>
  7. Rodríguez BC, Jazmin A, Tapia BT, Sofía K. Relación entre estilos de vida e infección recurrente del tracto urinario bajo en mujeres del puesto de salud Villa Hermosa 2023. [Internet]. 2023. Disponible en: <https://repositorio.uss.edu.pe/handle/20.500.12802/10794>
  8. Martos I, Camusso GC, Albornoz M, Nores JB, Juaneda R, Belisle DF. Perfil etiológico y sensibilidad antimicrobiana en 1740 infecciones urinarias de la comunidad en la ciudad de Córdoba, Argentina. Arch Esp Urol. 2021;74 (7):645-681. PMID: 34472432
  9. Lopardo H, Bantar, C. Urocultivo. Procesamiento, Criterios de Interpretación e Informe. Apuntes de Laboratorios Volumen III. Laboratorios Britania; 2013. [Internet]. [Consultado julio 2024]. Disponible en: [https://www.britanialab.com/capacitacion/capacitacion/?/volumen\\_3\\_urocultivo](https://www.britanialab.com/capacitacion/capacitacion/?/volumen_3_urocultivo)
  10. li JSL, Weinstein MP, Bobenchik AM, Campeau S, Cullen SK, Galas MF, et al. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 2022;32.
  11. Foxman B. Urinary Tract Infection Syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors and disease burden. Infect Dis Clin North Am. 2014;28(1):1-13, <https://doi.org/10.1016/j.idc.2013.09.003>











Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que: se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

## Paciente con trauma abdómino-pélvico y eyaculación retrógrada

*Patient with abdominopelvic trauma and retrograde ejaculation*

Alonso, Verónica Alejandra<sup>1,2</sup>; Repetto, Herberto Ernesto Héctor<sup>1,2</sup>; Chenlo, Patricia Haydee<sup>1,2</sup>; Ariagno, Julia Irene<sup>1,2</sup>; Monsalvo, Valeria Romina<sup>3</sup>; Cohen, Mariano Isaac<sup>4</sup>; Zeitler, Elena<sup>3</sup>; Mendeluk, Gabriela Ruth<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Fertilidad Masculina, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>División Ginecología, Sección Fertilidad, Hospital de Clínicas "José de San Martín". Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>4</sup>División Urología, Sección Andrología, Hospital de Clínicas "José de San Martín". Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Mendeluk, Gabriela. Hospital de Clínicas "José de San Martín, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; [gmendeluk@ffyb.uba.ar](mailto:gmendeluk@ffyb.uba.ar)

**Resumen**

**Introducción:** La puerta de entrada para abordar la infertilidad masculina es el espermograma. **Objetivo:** Reportar el caso de un paciente que consulta por infertilidad. **Materiales y métodos:** Se realizaron espermogramas (OMS 2021), búsqueda de espermatozoides en orina, pruebas de sobrenado, dosajes hormonales y análisis microbiológicos. **Resultados:** El número y vitalidad de los espermatozoides fue variable, con persistencia de leucospermia e hipospermia. Descartamos el factor infeccioso y hormonal. El índice de retroeyaculación de 98,8% (VR < 2,16%) constató eyaculación retrógrada. El paciente reportó haber sido embestido por arma de fuego en la zona abdómino-pélvica y haber atravesado una cirugía fallida para la extracción de la bala, lo que explica el cuadro. La respuesta al sobrenado fue insatisfactoria para técnicas de fertilización asistida de baja complejidad. **Conclusiones:** El trabajo multidisciplinario permitió el diagnóstico de certeza y dio respuesta a la demanda del paciente, quien se incluyó en un plan de fertilización asistida de alta complejidad.

**Palabras clave:** infertilidad masculina, técnicas de fertilización asistida, historia clínica, retroeyaculación.

**Abstract**

**Introduction:** The starting point to address male infertility is the semen analysis (spermogram). **Objective:** To report the case of a patient consulting for infertility. **Materials and Methods:** Semen analyses (WHO 2021), sperm search in urine, swim-up tests, hormone assays, and microbiological analyses were performed. **Results:** The number and vitality of spermatozoa varied, with leukospermia and hypospermia persisting. Infectious and hormonal factors were ruled out. The retrograde ejaculation index of 98.8% (RV < 2.16%) confirmed retrograde ejaculation. The patient reported being shot in the abdomino-pelvic area and undergoing a failed surgery to remove the bullet, a fact that explained the condition. The response to the swim-up was unsatisfactory for Low Complexity Assisted Fertilization Techniques. **Conclusions:** Multidisciplinary work allowed for a definitive diagnosis and addressed the patient's demand, who was included in a High Complexity Assisted Fertilization plan.

**Keywords:** Male Infertility, Assisted Reproductive Techniques, Medical History, Retrograde Ejaculation

## Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la infertilidad consiste en la imposibilidad de lograr un embarazo luego de un año o más de relaciones sexuales sin protección. Mediante la realización de un espermograma, cuyos resultados se encuentren dentro de los parámetros normales, es posible obtener información valiosa sobre el estado funcional del sistema reproductor masculino, ya que se puede inferir que no hay obstrucciones en los conductos seminales, que el eje hormonal funciona adecuadamente y que la espermatogénesis se halla conservada. De esta manera, este estudio se constituye en una herramienta diagnóstica que permite evaluar indirectamente la integridad anatómica, funcional y hormonal del tracto reproductor masculino<sup>1,2</sup>.

Tratándose de un paciente que consulta por infertilidad, cualquier resultado anómalo orienta a la realización de estudios complementarios hormonales o microbiológicos. De no poder resolverse el caso clínicamente, la solución a través de técnicas de fertilización asistida es mandatoria. Así, entonces, se evalúa la respuesta al sobrenado para decidir si esta será de baja o alta complejidad<sup>3,4</sup>.

Reportaremos el caso de un paciente con esterilidad primaria que desea procrear y que consulta con su pareja a la Sección Fertilidad del Hospital de Clínicas “José de San Martín”.

## Materiales y métodos

La mujer de 36 años tuvo un hijo con una pareja anterior. El varón fue derivado al andrólogo, quien solicitó los espermogramas. Se trata de un comerciante de 30 años, quien no refirió tener antecedentes personales al momento de la consulta. También informó que no consume drogas, solo, alcohol socialmente. En un segundo interrogatorio, tiempo después, reveló como antecedente quirúrgico una cirugía abdominal debida a herida en zona abdómino-pélvica por arma de fuego.

Se analizaron muestras de semen mediante cinco espermogramas, de acuerdo con los criterios OMS 2021, en el período de tiempo comprendido entre el 25/08/2023 y 28/06/2024. Se empleó el Sistema CASA SCA<sup>®</sup>-Microptic para el análisis del recuento y la movilidad espermática. La búsqueda de anticuerpos antiespermáticos se efectuó con la técnica de MAR Test (SpermMar Test IgG-FertiPro). El dosaje hormonal realizado en sangre periférica evaluó LH (hormona luteinizante), PRL (prolactina sérica) y testosterona sérica total mediante quimioluminiscencia.

La técnica del sobrenado para obtener espermatozoides capacitados se realizó con el medio de cultivo FertiCult Flushing medium (FertiPro), el cual contiene los nutrientes necesarios para mantener la viabilidad de los espermatozoides y un pH y osmolaridad ajustados que replican las condiciones fisiológicas, suplementado, además, con albúmina y gentamicina.

Para estudiar la probable eyaculación retrógrada, se solicitó orina posterior a masturbación y se siguieron los lineamientos propuestos por Ariagno y col. para calcular el índice de retroeyaculación<sup>5</sup>. También se tomaron datos de la historia clínica para interpretar los resultados obtenidos en el laboratorio.

## Resultados

Los valores de las variables seminales de los cinco espermogramas realizados se muestran en la Tabla I.

En todos los espermogramas realizados, se observó hipospermia y leucospermia. Es notable la gran variabilidad en los resultados de los informes, que van de azoospermia, oligozoospermia severa a una concentración normal, finalmente. Llamativamente, el último análisis reveló concentración normal de espermatozoides, pero falla en la movilidad (astenozoospermia) y alto porcentaje de espermatozoides muertos (necrozoospermia).

Se evaluó el eje hormonal (LH, PRL y testosterona sérica total mediante la técnica de quimioluminiscencia). Los valores se muestran en la Tabla II. Se realizaron también espermocultivos incluyendo *Mycoplasma* y *Ureaplasma* e hisopado uretral con PCR para *Chlamydia*, con resultados negativos para ambos.

El 23/11/2023 resultó llamativa la azoospermia. Ante la sospecha de retroeyaculación por la ausencia de espermatozoides en el eyaculado y el bajo volumen de semen obtenido, los médicos solicitaron, un tiempo después, la búsqueda de espermatozoides en orina. El índice de retroeyaculación resultó mayor que el valor de corte; se pudo demostrar de esta manera que el paciente presentaba eyaculación retrógrada<sup>5</sup>.

Cabe aclarar que la morfología en todos los espermogramas fue normal (OMS 2021). No se detectaron anticuerpos antiespermáticos (MAR-Test). La baja recuperación obtenida luego de la técnica de sobrenado orienta a la realización de técnicas de fertilización asistida de alta complejidad.

## Discusión

Dado que los resultados de los espermogramas mostraron una marcada variabilidad en las diferentes evaluaciones realizadas, se decidió llevar a cabo estudios complementarios para identificar posibles causas subyacentes y obtener un panorama más completo de la situación clínica del paciente.

La presencia de leucospermia orientó a una etiología infecciosa. Ante esa sospecha, se decidió realizar una serie de estudios microbiológicos exhaustivos, que fueron negativos, y se descartó esa hipótesis<sup>7,8</sup>.

Resulta conflictivo el estudio de las infecciones en semen. La hiperviscosidad, la leucospermia y la presencia de espermiofagos puede orientar su estudio, pero no es excluyente. Recientemente, reportamos la importancia del hallazgo de trampas extracelulares como marcador de infección<sup>9</sup>. De hecho, se sugiere que todo paciente que entra en un programa de fertilización asistida tenga tanto un espermograma como un espermocultivo. Hay pacientes que no presentan leucospermia y, sin embargo, tienen cultivos positivos. Lo opuesto también ocurre, como sería el caso de este paciente. La leucospermia, en esta ocasión, podría ser secundaria a un proceso inflamatorio que se intentará dilucidar<sup>10</sup>.

Se evaluaron hormonas clave del eje hipotalámico-hipofisario-testicular, en parte, tratando de entender la hipospermia, pero, sobre todo, por el cuadro azoospermico reportado

**Tabla I.** Parámetros seminales analizados en los espermogramas.

Parámetros analizados	25 - 8 2023	17 - 11 2023	23 - 11 2023	15 - 12 2023	28 - 06 2024	Valores de referencia
Vol de semen (ml)	0,4	0,7	0,3	0,2	0,2	1,4 - 6,2 ml
pH	8,5	8,0	8,0	8,0	8,0	7,2 - 8,5
Vol de orina (ml)	n/s	n/s	n/s	0,9	n/s	
Concentracion de esp. en semen (mill/ml)	17,60	11,50	0	0,28	35,00	16,0 - 208,0 mill/ml
Concentracion de esp. en orina (mill/ml)	n/s	n/s	n/s	4,75	n/s	
IR (índice de retroeyaculación: %)	n/s	n/s	n/s	98,8	n/s	Menor a 2,16 *a
Movilidad: Mviles rápidos (a)	a:40	a:47	n/r	a:14	a: 0	
Mviles lentos (b)	b:25	b:10	n/r	b:42	b: 2	
Mviles in situ (c)	c: 5	c: 5	n/r	c:24	c:18	1 - 32 %
Inmóviles (d)	d:30	d:38	n/r	d:20	d:80	20 - 58 %
Morfología (%)	6	8	n/r	7	10	4 - 39 %
Espermatozoides vivos (%)	82	87	n/r	84	28	54 - 97%
Concentracion de celulas (mill/ml)	16,0	12,0	9,50	8,25	13,75	
Recuento diferencial (%)						
Leucocitos PNM neutrófilos (%)	90 { 14,40 mill/ml)	51 { 6,12 mill/ml)	57 { 5,4 mill/ ml)	77 { 6,35 mill/ml)	43 { 5,9 mill/ ml)	0,00 - 1,00 mill/ml
Linfocitos (%)	0	3	4	1	3	
Celulas germinales (%)	2 { 0,32 mill/ml)	7 { 0,84 mill/ml)	5 { 0,47 mill/ml)	1 { 0,08 mill/ml)	7 { 0,96 mill/ ml)	0,00 - 1,70 mill/ml *b
Celulas epiteliales (%)	0	0	0	0	11	
Macrófagos (%)	8	39	34	21	36	
Anticuerpos antiespermáticos (Mar test) %	1	3	3	n/s	n/s	Menor a 50 %
Selección de espermatozoides (Swim up)						Valor predictivo para IIU
Numero total de espermatozoides MP rec (mill/eyac)	0,06	0,62	n/s	n/s	n/s	Satisfactorio: Mayor de 5,00 mill/eyac  Insatisfactorio: Menor de 1,00 mill/eyac

► Se muestran los resultados de los espermogramas y se contrastan con los valores de referencia (OMS 2021) y valores de corte según: \*a Ariagno et al, 2005<sup>5</sup>; \*b Ariagno et al 2002<sup>6</sup>; n/s, no solicitado; n/r, no realizado.

**Tabla II.** Evaluación del eje hormonal.

Hormonas	Resultado	Valores de referencia
LH (Hormona Luteinizante)	3,1	1,5 - 9,3 mUI/ml
PRL (Prolactina)	9,2	2,1 - 17,7 ng/ml
Testosterona sérica total	4,24	1,97 - 6,70 ng/ml

► Se muestran los valores de las hormonas LH, PRL y testosterona sérica total del paciente.

en uno de los espermogramas. Los niveles se encontraron dentro de los valores normales. Descartamos así el factor hormonal<sup>11</sup>.

Los resultados del hallazgo de espermatozoides en orina, contrastados con el recuento espermático en semen y la determinación del índice de retroeyaculación correspondiente, permitieron confirmar la causa de la hipospermia<sup>5</sup>. El paciente no era diabético, que es lo primero a considerar en casos de eyaculación retrógrada en pacientes jóvenes. Descartado el factor hormonal, lo próximo es pensar en cirugías traumáticas que hayan afectado el proceso de eyaculación<sup>12</sup>.

El paciente fue entonces interrogado nuevamente. Refirió herida de bala abdómino - pelviana con posterior cirugía siete años antes de la consulta. Durante su internación, reporta haber estado una semana con sonda vesical, que le generó un dolor persistente. El nervio hipogástrico inferior pudo haberse afectado<sup>13</sup>.

La bala no pudo ser extraída, por lo que el proceso inflamatorio sostenido en el tiempo podría atribuirse al efecto de un agente extraño presente en la zona abdómino-pélvica, que podría, además, generar un granuloma. La consecuencia se manifestaría por obstrucción intermitente en los conductos, que explicaría los cambios en el espermograma y la leucospermia persistente<sup>14</sup>. La inflamación gatillaría, además, estrés oxidativo. Las especies reactivas del oxígeno dañan primero la membrana del espermatozoide afectando su movilidad y, luego, pueden afectar el núcleo espermático. Si bien no se realizó el estudio de fragmentación del ADN (TUNEL), es probable que se hubiese encontrado alterado<sup>15</sup>. Lo que pudimos constatar en el último espermograma fue la presencia de astenozoospermia y necrozoospermia.

La prueba de sobrenado en semen no dio resultados satisfactorios para el empleo de técnicas de fertilización asistida de baja complejidad por lo que se decidió realizar una microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)<sup>3</sup>. El paciente fue incluido en el Programa de Fertilización Asistida del Hospital.

Finalmente, luego de un exhaustivo estudio del caso, estamos en condiciones de entender el cuadro en evaluación y darle una respuesta adecuada a la demanda del paciente, que es su deseo de procrear.

## Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento proporcionado por la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad de Buenos Aires- UBACYT Código: 20720220100001BA.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

## Referencias bibliográficas

- Vásquez RF, Vásquez ED. Espermograma y su utilidad clínica. *Revista Salud Uninorte*. 2007; 23(2), 220-230, <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v23n2/v23n2a09.pdf>
- Zambrano Serrano CA, Carvajal Obando A. Diagnosis and hormonal treatment of male infertility. *Actas Urol Esp [Engl Ed]*. 2020;44(5):321-327, <https://doi.org/10.1016/j.acuro.2019.10.013>
- Pugliese, N. Fertilización asistida de baja complejidad. En: Palaoro L, Mendeluk G, editors. *Citología exfoliativa y de la reproducción*. ed: Eudeba; 2019. p. 207-231.
- Palermo GD, Neri QV, Schlegel PN, Rosenwaks Z. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in extreme cases of male infertility. *PLoS One*. 2014;9(12):e113671, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113671>
- Ariagno JI, Mendeluk GR, Pugliese MN, Sardi SL, Acuña C, Repetto HE, et al. The only presence of sperm in urine does not imply retrograde ejaculation. *Arch Androl*. 2005;51(6):431-6, <https://doi.org/10.1080/014850190953294>
- Ariagno J, Curi S, Mendeluk G, Grinspon D, Repetto H, Chenlo P, et al. Shedding of immature germ cells. *Arch Androl*. 2002;48(2):127-31, <https://doi.org/10.1080/014850102317267436>
- Paira DA, Olivera C, Tissera AD, Molina RI, Olmedo JJ, Rivero VE, et al. Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis urogenital infections associate with semen inflammation and decreased sperm quality. *J Leukoc Biol*. 2023;113(1):18-26, <https://doi.org/10.1093/leuko/qiac006>
- EzzEI-Din AM, Gaber HD, Kamal DT. Chlamydia trachomatis Infection: its relation to semen parameters and sperm DNA integrity. *Egypt J Immunol*. 2021;28(4):290-298,
- Sardi M, Repetto H, Chenlo P, Ariagno J, Mendeluk G. Seminal Extracellular Traps in SARS-CoV-2 Infection. *J Clin Nephrol*. 2024; 8(2): 095-099. <https://dx.doi.org/10.29328/journal.jcn.1001134>
- Rodin DM, Larone D, Goldstein M. Relationship between semen cultures, leukospermia, and semen analysis in men undergoing fertility evaluation. *Fertil Steril*. 2003;79(3):1555-8, [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(03\)00340-6](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(03)00340-6)
- Bassas Arnau L. Exploración de la función testicular. *Endocrinol Nutr*. 2009;56(1):18-31, [https://doi.org/10.1016/S1575-0922\(09\)70190-1](https://doi.org/10.1016/S1575-0922(09)70190-1)
- Hershlag A, Schiff SF, DeCherney AH. Retrograde ejaculation. *Hum Reprod*. 1991;6(2):255-8, <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a137317>
- Sarquella J, Vilches R, Palma Cristian. Trastornos de la eyaculación. *Rev Med Clin Condes*. 2024; 25 (1) 129-137, [https://www.clinicalsccondes.cl/Dev\\_CLC/media/Imagenes/PDF%20revista%20m%C3%A9dica/2014/1%20Enero/17-Dr.Sarquella.pdf](https://www.clinicalsccondes.cl/Dev_CLC/media/Imagenes/PDF%20revista%20m%C3%A9dica/2014/1%20Enero/17-Dr.Sarquella.pdf)
- Gade J, Brasso K. Spermagranulomer. *UgeskrLaeger*. 1990 Aug 6;152(32):2282-4.
- Bisht S, Faiq M, Tolahunase M, Dada R. Oxidative stress and male infertility. *Nat Rev Urol*. 2017;14(8):470-485, <https://doi.org/10.1038/nrurol.2017.69>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International. Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

ARTÍCULO ORIGINAL

# Estudio comparativo entre un método mecánico automatizado y un método óptico semiautomatizado para la medición de las pruebas básicas del área de hemostasia

*Comparative study between an automated mechanical method and a semiautomated optical method for the measurement of hemostasis tests.*

Ruggiero, María Agustina<sup>1\*</sup>; Chioli, Agustina María<sup>1</sup>; Ojeda, Milagro<sup>1</sup>; Iacono, Paula María<sup>1</sup>; Ferrinda, Maía<sup>1</sup>; For- te, Irina Magalí<sup>1</sup>; Arca García, Manuela<sup>1</sup>; Morales, Fabián<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Servicio de Laboratorio, Hospital Interzonal Especializado Materno Infantil Don Victorio Tetamanti. Mar del Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Ruggiero, María Agustina. Hospital Interzonal Especializado Materno Infantil Don Victorio Tetamanti. Castelli 2450, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina, [mariagustina04@hotmail.com](mailto:mariagustina04@hotmail.com)

## Resumen

Introducción: El estudio de la hemostasia incluye pruebas globales de orientación, como tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA) y tiempo de protrombina (TP). Existen una gran variedad de coagulómetros en el mercado para la medición del TP y TTPA, que pueden dividirse en dos grandes grupos: aquellos que utilizan la detección óptica del coágulo y los que utilizan la detección electromecánica. Objetivos: Comparar un método mecánico y uno óptico para el procesamiento de las pruebas TP y TTPA, y analizar si los resultados informados son equivalentes entre ambos métodos en un laboratorio de un hospital materno infantil. Materiales y métodos: Se seleccionaron de manera aleatoria muestras de sangre para el análisis de TP y TTPA, respectivamente. Se utilizaron dos coagulómetros: STA Satellite MAX Stago (método automatizado mecánico) y Coatron X Series TECO (método semiautomatizado óptico). Resultados: A partir del análisis estadístico del test de Student, se obtuvieron los mismos resultados con los dos equipos. La interpretación de los valores de correlación de Pearson nos permitió establecer que hubo una correlación fuerte entre ambos métodos, ya que se encuentran entre el rango de 0,5 y 1,0. Conclusiones: El análisis estadístico de los datos obtenidos permitió establecer que los equipos no muestran diferencias estadísticamente significativas en los resultados de TP y TTPA, por lo tanto, se pueden utilizar ambos métodos en el laboratorio. La incorporación del equipo semiautomatizado Coatron X Series TECO permitirá su utilización como *back up* en el laboratorio tanto en la guardia como en el trabajo diario de planta.

**Palabras clave:** hemostasia, método mecánico, método óptico, automatizado, semiautomatizado, comparación de métodos.

## Abstract

Introduction: The study of hemostasis includes global screening tests such as activated partial thromboplastin time (APTT) and prothrombin time (PT). APTT and PT can be measured through a wide variety of coagulometers. These coagulometers can be divided into two major groups: those that use optical clot detection and those that use electromechanical detection. Objectives: To compare a mechanical method and an optical method to process APTT and PT, and to analyze whether the results reported are equivalent between both methods in a laboratory of a maternal and child hospital. Materials and methods: Blood samples were randomly selected for the analysis of APTT and PT, respectively. Two coagulometers were used: STA Satellite MAX Stago (automated mechanical method) and Coatron X Series TECO (semi-automated optical method). Results: Based on statistical analysis using Student's t-test, the results obtained with both types of coagulometer were similar. The interpretation of Pearson correlation values indicated a strong correlation between both methods, with values ranging between 0.5 and 1.0. Conclusions: The statistical analysis of the data obtained showed that the equipments did not exhibit statistically significant differences in the APTT and PT results; therefore, both methods can be used in the laboratory. The incorporation of the semi-automated Coatron X Series TECO equipment will allow it to be used as a 'backup' in the laboratory, both during on-call shifts and in daily routine work.

**Key words:** hemostasis, mechanical method, optical method, automated, semi-automated, method comparison.

## Introducción

El estudio de la hemostasia incluye pruebas globales de orientación cuyos resultados indican que hay una alteración, pero sin identificar su naturaleza<sup>1</sup>. Dentro de estas pruebas globales, se encuentran el tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA) y el tiempo de protrombina (TP), entre otros.

El TP detecta alteraciones en los factores pertenecientes a la vía denominada *extrínseca*; el TTPA, deficiencia de los factores de la vía denominada *intrínseca*<sup>1</sup>. El RIN (Razón Internacional Normalizada), derivado de la prueba del TP es el método elegido para monitorear a los pacientes bajo tratamiento con anticoagulantes orales antivitamina K. La prueba consiste en medir el tiempo de coagulación de un plasma citratado en presencia de tromboplastina y iones de calcio.

La prueba de TTPA permite monitorear el tratamiento con heparina no fraccionada e investigar la presencia de anticoagulante lúpico e inhibidores específicos de factores que intervienen en esta vía. Consiste en medir el tiempo de coagulación del plasma citratado en presencia de tromboplastina parcial, un activador, y iones de calcio.

Valores prolongados de estas pruebas indican estados de hipocoagulabilidad o presencia de inhibidores adquiridos; valores acortados se debe a una muestra activada *in vitro* por extracción dificultosa<sup>1</sup>.

Existen una gran variedad de coagulómetros en el merca-

do para la medición del TP y TTPA, pero pueden dividirse en dos grandes grupos: aquellos que utilizan la detección óptica del coágulo y los que utilizan la detección denominada *electromecánica* o *por viscosidad*, donde una bolilla metálica gira u oscila libremente a través de un campo magnético hasta que la formación de fibrina la detiene<sup>1,2</sup>.

Ante la necesidad de disponer en el laboratorio de análisis clínicos de un equipo alternativo para las pruebas básicas de evaluación de la hemostasia como TP y TTPA, nos compete evaluar los equipos con los que cuenta la institución.

El objetivo de este estudio es comparar un método mecánico y uno óptico para el procesamiento de las pruebas TP y TTPA en un laboratorio de un hospital materno infantil. Como objetivo específico, se plantea “poner a punto” el equipo semiautomatizado Coatron X Series TECO y evaluar el grado de concordancia entre los dos métodos.

## Materiales y métodos

### Diseño

Se realizó un estudio de diseño de investigación cuantitativo, observacional, transversal, analítico y de comparación de métodos.

### Población y ámbito de estudio

Las muestras fueron tomadas por técnicos de laboratorio y bioquímicos residentes de primer año y recolectadas en tubos comerciales con citrato de sodio 3,2 P/V como anticoagulante. Se seleccionaron de manera aleatoria muestras para el análisis de TP y TTPA, respectivamente, a través del flujo diario de trabajo, provenientes de pacientes de las distintas áreas: ambulatoria, de internación y de guardia, a los cuales se les habían solicitado pruebas de hemostasia.

Las muestras que se usaron para la determinación de TP tenían resultados que se encontraron dentro de los valores de referencia en un 90%, entre 11,0 y 13,0 segundos, lo que equivale a porcentajes entre 70% y 120%. Sin embargo, de las muestras que se usaron para la determinación de TTPA, el 68% se encontraba dentro de los valores de referencia entre 25 y 35 segundos.

El n muestral se calculó teniendo en cuenta un 5 % de prevalencia de TP y TTPA alterados en el laboratorio del hospital materno infantil donde se realizó el estudio, para un intervalo de confianza del 99,9%<sup>3</sup>. Se excluyeron aquellas muestras que presentaron resultados superiores al 120,0% de TP.

Se utilizaron dos coagulómetros: STA Satellite MAX Stago

**Tabla I.** Curva de calibración del equipo Coatron X Series TECO.

Factor de dilución del Calibrador	%	Segundos
1	93,0	15,7
2	46,5	26,2
4	23,2	62,6
8	11,6	120,0

► Cada porcentaje de dilución equivale a un % de TP. Tomando en cuenta que el inserto del calibrador indica que el mismo concentrado representa un 93%, partiendo de ahí, se realizaron las diluciones para los distintos puntos de la curva. Luego, cada dilución fue procesada por el equipo Coatron X Series Teco por triplicado y calculado el promedio. Los valores de los promedios y los porcentajes se introdujeron manualmente en el equipo.

**Tabla II.** Valores de TP y TTPA en los equipos STA Satellite MAX Stago y Coatron X Serie TECO.

	TP [s] STA Satellite MAX Stago	TP [s] Coatron X Series TECO	TP [%] STA Satellite MAX Stago	Tp [%] Coatron X Series TECO	TTPA [s] STA Satellite MAX Stago	TTPA [s] Coatron X Series TECO
Media	15,55	15,78	96,27	94,09	35,56	36,13
CV%	35,49	21,00	38,97	17,50	18,80	21,25

**Tabla III.** Resultados de correlación de TP y TTPA.

	Coefficiente de Pearson
TP (s)	0,9705
TP (%)	0,9167
TTPA	0,9096

► TP, tiempo de protrombina; TTPA, tiempo de trombo-plastina parcial activado.

[método automatizado mecánico] y Coatron X Series TECO [método semiautomatizado óptico].

### Puesta a punto del equipo Coatron X Series TECO

El equipo automatizado STA Satellite MAX Stago tiene una calibración automática, mientras que el Coatron X Series TECO requiere una calibración manual a partir de un calibrador comercial, diluido de forma seriada.

Para la puesta en marcha del equipo de Coatron X Series TECO, se realizó una higiene previa del equipo, ya que se encontraba en desuso. Para llevar a cabo la calibración, se realizaron diluciones seriadas del calibrador con *buffer* Owren-Koller. El calibrador utilizado pertenece a la serie STA-UNICALIBRATOR, Lote:257729, y se indica por el reactivo utilizado, TP STA-Neoplastine CL, que el calibrador corresponde a un 93 % de TP. Se procesó cada punto de la dilución por triplicado y, luego, se insertaron los valores de los promedios de los segundos de cada dilución como el porcentaje en la sección de curva de calibración del equipo.

La curva introducida en el equipo según la dilución realizada se muestra en la Tabla I. Esta curva corresponde a un valor normal de 13,9 segundos, que representa el 100% de TP, y la recta arrojó un  $R^2$  de 0,985. Esto nos permite utilizar esta curva para poder estimar la concentración de las distintas muestras procesadas.

### Descripción de los analizadores

STA Satellite MAX Stago realiza una medición cronométrica [detección mecánica del coágulo] basada en la viscosidad, es decir, la resistencia del material a cambiar de forma. El método emplea una cubeta de reacción especial con una bola de acero incorporada. La bola se mantiene fija en una posición en la cubeta gracias a la acción de un imán magnético. Al adicionar el reactivo, la cubeta comienza a girar alrededor de su eje longitudinal, manteniéndose la bola en su sitio gracias al campo magnético<sup>4</sup>. La formación de fibrina desplaza la bola de su posición original, y este cambio de posición es detectado por un sensor que, automáticamente, registra el tiempo de formación del coágulo, que se monitorea a través del cambio de amplitud del movimiento de la bola de acero. Al formarse el coágulo, la viscosidad aumenta y la amplitud decrece<sup>4</sup>. Este método es insensible a interferencias analíticas procedentes de muestras hemolizadas, ictericas o lipemicas<sup>4</sup>.

Coatron X Series TECO [método semiautomatizado] es un instrumento de coagulación con detección óptica. La detección de la coagulación del plasma se basa en un principio fotométrico. No se requieren “ayudas mecánicas”, como barras mezcladoras o bolas de acero. El plasma sanguíneo se coloca en una cubeta, y se añaden reactivos que inician la coagulación de la sangre. Durante el proceso de coagulación, la cubeta es atravesada por un haz de luz visible, y el coagulómetro detecta los cambios de absorbancia /turbidez que indican la formación del coágulo. El tiempo desde el inicio de la medición hasta el cambio de luz se denomina tiempo de coagulación y se expresa en segundos<sup>5</sup>.

### Análisis de datos

Se evaluó la normalidad de los resultados a través de la media, la moda y la mediana. Luego, se utilizó el test de Fisher para analizar igualdad de varianzas. Con la conclusión del test de Fisher, se aplicó el test de Student y, finalmente, se analizó la correlación de Pearson con sus respectivos gráficos y el coeficiente de variabilidad. Los cálculos fueron realizados en Microsoft Excel.

### Utilización de recursos hospitalarios

Equipamiento de laboratorio: STA Satellite MAX Stago, Coatron X Series TECO, con sus reactivos e insumos necesarios [copillas, pipetas, tips]; artículos de librería en general; computadora, internet.

### Consideraciones éticas

No se requirió la solicitud de un consentimiento informado, por las características del estudio.

### Resultados

En la Tabla II, se encuentran los resultados de las medias y los porcentajes de coeficiente de variación obtenidos de los datos con los diferentes métodos.

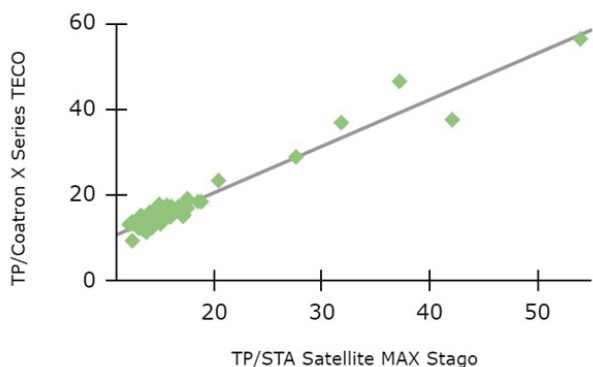
Con el fin de analizar si se pueden obtener los mismos resultados a partir de los dos equipos, se realizó el test estadístico de Fisher (Test F) para evaluar si las varianzas de los métodos son iguales, y se obtuvo como resultado que tanto para la prueba de TP en segundos como en porcentaje y la prueba de TTPA, ambos métodos tienen varianzas desiguales, por lo que se procedió a realizar el test de Student (Test T) para varianzas desiguales.

En el test T, para todas las comparaciones, se plantearon las siguientes hipótesis:

- Ho) Se pueden obtener los mismos resultados a partir de los dos equipos.
- H1) No se pueden obtener los mismos resultados a partir de los dos equipos.

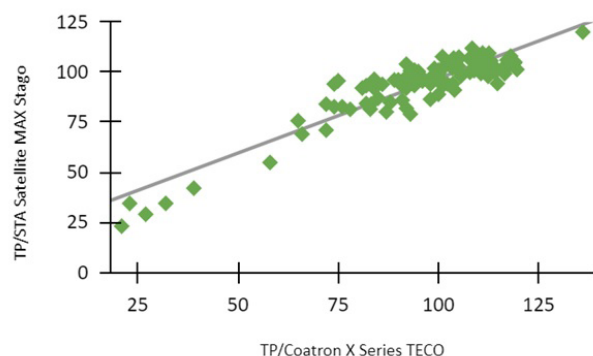
Los resultados obtenidos para aceptar la hipótesis nula fueron: para TP en segundos,  $p=0,766$ , para TP en %,  $p=0,373$  y para TTPA,  $p=0,569$ . Todos los valores corresponden a  $P(T \leq t)$  de dos colas cuyos resultados son mayores de 0,05, y los estadísticos t de cada test fueron mayores

**Figura 1.** Correlación de TP en segundos para los dos equipos.



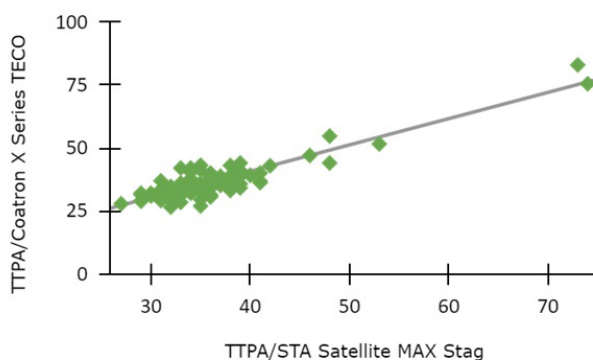
► TP, Tiempo de protrombina.

**Figura 2.** Correlación de TP en % para los dos equipos.



► TP, Tiempo de protrombina.

**Figura 3.** Correlación de TTPA en segundos para los dos equipos.



► TTPA, Tiempo de tromboplastina parcial activado.

que el valor crítico *t* de dos colas. Esto permitió aceptar la hipótesis nula y afirmar que se pueden obtener los mismos resultados a partir de los dos equipos.

Además, se evaluó la correlación de los métodos a partir del coeficiente de correlación de Pearson; se obtuvieron los resultados mostrados en la Tabla III y las correspondientes Figuras 1, 2 y 3: La interpretación de los valores de corre-

lación de Pearson nos permite establecer que los valores obtenidos en este estudio corresponden a una correlación fuerte entre ambos métodos, ya que se encuentran entre el rango de 0,5 y 1,0.

### Discusión

En el caso de los datos de TP en segundos, los coeficientes de Pearson dieron un valor de 0,9705 y el TP, un valor porcentual de 0,9167. Dichos resultados se observan en la Tabla III.

Por otro lado, también se destaca que el coeficiente de variación del TP en segundos y en porcentaje (35,49% y 38,97%, respectivamente) del método mecánico es mayor que los coeficientes de variación del método óptico, ya que dan como resultado 21% para TP en segundos y 17,5% para TP en % (Tabla II). Si bien el método mecánico no se considera en este trabajo como método de referencia, se posee experiencia en su manejo, por lo tanto, se esperaba un resultado inverso. Hasta hace algunos años, se asumía que la detección mecánica del coágulo era la más parecida a la del ojo humano, y los fundamentos teóricos afirman que la metodología óptica puede experimentar interferencias que podrían hacer variar los resultados de las muestras a analizar. Sin embargo, la bibliografía consultada muestra ejemplos de utilización de coagulómetros de ambas metodologías que procesan muestras en simultáneo, y se obtienen resultados equivalentes en términos de correlación de metodologías<sup>6</sup>.

Una limitación de este estudio es que las muestras fueron procesadas por el equipo Coatron X Series TECO 6 horas después de la extracción, superando el límite máximo recomendado de 4 horas.

El análisis estadístico de los datos obtenidos permitió establecer que los equipos no muestran diferencias estadísticamente significativas, por lo tanto, se pueden utilizar ambos métodos en el laboratorio.

La incorporación del equipo semiautomatizado Coatron X Series TECO permitirá su uso como *back up* en el laboratorio de guardia y en el trabajo diario de planta. Será útil en situaciones donde el equipo STA Satellite MAX Stago sufra desperfectos que impidan su correcta utilización o cuando el equipo deba ser retirado para su mantenimiento. Otra situación donde su disponibilidad será beneficiosa es en los casos en que el equipo STA Satellite MAX Stago esté siendo utilizado para determinaciones de hemostasia que no son de rutina, como el dosaje de factores. Realizar las pruebas de TP y TTPA en el equipo semiautomatizado mejorará el flujo de trabajo en el sector de Hemostasia.

### Referencias bibliográficas

- Bermejo E, Forastiero R, Lauricella AM, Pieroni G, Quintana I, Scazziotto A. Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de hemostasia. 2a ed. Blanco A, Kordich L, editoras. 2013.
- Chandler WL. Initial evaluation of hemostasis: reagent and method selection. In: Kitchen S, Olson J, Preston E, editors. Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis. Londres: Blackwell Publishing; 2009. p. 12-18, <https://doi.org/10.1002/9781444303575.ch7>

3. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC). Epi Info: software estadístico para epidemiología. Versión 7.2.5. Atlanta, GA: CDC; 2021. Disponible en: <https://github.com/Epi-Info/Epi-Info-Community-Edition>
4. Diagnostica Stago. Manual STA Satellite MAX Stago. Noviembre 2011.
5. TECO GmbH. Instrumentation and reagents for human coagulation and hemostasis. Germany: TECO GmbH; Mar 2018.
6. Tekkesin N, Kılinc C. Optical and mechanical clot detection methodologies: a comparison study for routine coagulation testing. J Clin Lab Anal. 2012;26(3):125-9, <https://doi.org/10.1002/jcla.21497>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución -No Comercial- Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que: se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Evaluación externa de la calidad en laboratorios públicos de hematología de la provincia de Córdoba

*External Quality Assessment in Public Hematology Laboratories in the Province of Córdoba, Argentina.*

Scharagrodsky, Marcos<sup>1\*</sup>; Rodríguez, Luis Adrián<sup>1</sup>; Eynard, Josefina<sup>2</sup>; Puchatt, Lara<sup>2</sup>; Peralta, Silvia<sup>2</sup>; Giorgini, María Fernanda<sup>1, 3</sup>; Collino, César<sup>2, 3</sup>.

<sup>1</sup> Servicio de Laboratorio, Hospital Profesor José Miguel Urrutia. Unquillo, Córdoba, Córdoba, Argentina.

<sup>2</sup> Servicio de Laboratorio General y Especial, Hospital Rawson. Córdoba, Córdoba, Argentina.

<sup>3</sup> Departamento Red Bioquímica Provincial, Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba. Córdoba, Argentina.

\*Contacto: Scharagrodsky, Marcos David. Servicio de Laboratorio, Hospital Provincial Profesor José Miguel Urrutia, 3 de Febrero 324, Unquillo, CP: 5109. Córdoba, Argentina; [scharagrodsky93@gmail.com](mailto:scharagrodsky93@gmail.com)

## Resumen

**Introducción:** La evaluación externa de la calidad es una estrategia clave para garantizar la precisión y exactitud de los resultados. Permite a los laboratorios demostrar su competencia, recibir información sobre el desempeño de sus procesos analíticos, como así también, conocer si los resultados son comparables entre diferentes métodos y laboratorios. **Objetivos:** Analizar el desempeño analítico de los contadores hematológicos en laboratorios públicos de la provincia de Córdoba. Comparar estos resultados con estándares internacionales de calidad y del estado del arte. **Materiales y métodos:** Se distribuyeron 40 kits de muestras control con tres niveles de concentración a los laboratorios participantes. Los resultados fueron evaluados utilizando herramientas estadísticas propuestas en la Norma ISO 13528. **Resultados:** Se observó una marcada heterogeneidad en los resultados para el recuento de plaquetas, que fue excluido del análisis. Se hallaron desempeños analíticos aceptables para la mayoría de los laboratorios, según requerimientos basados en variabilidad biológica, para recuento de glóbulos blancos, glóbulos rojos y hemoglobina. Para hematocrito y volumen corpuscular medio, menos de la mitad de los laboratorios lograron desempeños aceptables, sin embargo, mostraron una actuación aceptable al evaluarlos frente a requerimientos basados en el estado del arte. **Conclusiones:** El estudio demostró una comparabilidad satisfactoria entre los laboratorios públicos de hematología en Córdoba. Se concluye que la participación en programas de evaluación externa de la calidad es crucial para fomentar la mejora continua y asegurar la confiabilidad de los resultados de laboratorio. Se recomienda la implementación de políticas que faciliten el acceso a estas herramientas en el ámbito público.

**Palabras clave:** evaluación externa de la calidad, comparación interlaboratorio, armonización de resultados de laboratorio, ISO 13528, estandarización/armonización de resultados de laboratorio en Hematología.

## Abstract

**Introduction:** External quality assessment is a key strategy to ensure the accuracy and precision of laboratory results. This process allows laboratories to demonstrate their competence and receive feedback on the performance of their analytical processes, and also allows the assessment of result comparability across different methods and laboratories. **Objectives:** To analyze the analytical performance of hematology analyzers in public laboratories within the network of the province of Córdoba, Argentina, and to compare these results against international quality standards and state-of-the-art specifications. **Materials and Methods:** Forty control sample kits with three concentration levels were distributed to participating laboratories. Results were assessed using statistical tools in accordance with ISO 13528 and compared to international quality requirements. **Results:** Significant heterogeneity was observed in platelet count results, leading to their exclusion from the analysis. Acceptable analytical performances were found for most laboratories, according to requirements based on biological variation, for white blood cell count, red blood cell count and hemoglobin. For hematocrit and mean corpuscular volume, less than half of the laboratories achieved acceptable performances; however, they showed acceptable performances when evaluated against requirements based on the state of the art. **Conclusions:** This study demonstrated a satisfactory comparability of results among public hematology laboratories in Córdoba. Participation in external quality assessment programs is crucial to promote continuous improvement and ensure the reliability of laboratory results. The implementation of policies to facilitate access to these tools in the public sector is strongly recommended.

**Key words:** External Quality Assessment, Interlaboratory Comparison, Laboratory Results Harmonization, ISO 13528, Standardization/Harmonization of Laboratory Results in Hematology.

## Introducción

Se estima que aproximadamente el 70%<sup>1</sup> de las decisiones clínicas depende fuertemente de la información proporcionada por el laboratorio clínico. Por ello, es fundamental que los resultados sean confiables, seguros y oportunos, motivo por el que se destaca la importancia del aseguramiento de la calidad analítica en este sentido.

Uno de los pilares de este aseguramiento de la calidad analítica es la evaluación externa de la calidad (EEC), que se define como una estrategia que compara los resultados de un laboratorio con los de una fuente externa<sup>2</sup>, como laboratorios de referencia, grupos pares o valores de consenso entre múltiples participantes.

Los programas de EEC son herramientas esenciales, ya que permiten a los laboratorios demostrar su competencia y fiabilidad frente a organismos de acreditación y autoridades regulatorias; incluso son un requisito obligatorio<sup>3</sup> en algunos países, como RiliBÄK<sup>4</sup> en Alemania y CLIA<sup>5</sup> en Estados Unidos de América. Estos programas facilitan la valoración de métodos, reactivos y calibradores reflejando el “estado del arte” metodológico y contribuyendo al monitoreo de la estandarización y armonización de resultados<sup>6</sup>.

Sin embargo, el acceso a estos programas puede verse limitado por restricciones económicas y otros factores. Para abordar esta problemática, el Departamento Red Bioquímica Provincial del Ministerio de Salud de Córdoba, en conjunto con los laboratorios del Hospital Rawson y el Hospital J. M. Urrutia, implementaron una iniciativa que permite la evaluación externa del desempeño analítico de los contadores hematológicos en hospitales públicos de la provincia.

Los objetivos de este estudio fueron relevar la performance analítica de los contadores hematológicos instalados en los laboratorios de los hospitales públicos de la provincia de

Córdoba, comparar los resultados obtenidos con diferentes requerimientos de calidad y evaluar el estado del arte de las metodologías en uso.

## Materiales y métodos

En el mes de noviembre del año 2023, en el Servicio de Laboratorio General y Especial del Hospital Rawson (Sección Hematología y Citometría de Flujo), se prepararon 40 kits de material control con tres niveles (viales) de concentración, a saber: bajo (L), normal (N) y alto (H). Cada vial contenía 600 µL de muestra. Este material se preparó a partir de controles comerciales (sangre entera estabilizada) utilizados habitualmente para el control de calidad interno de equipos de hematología automatizada.

Se testearon viales al azar para verificar la estabilidad de las muestras. Los kits se centralizaron en la heladera del Departamento Red Bioquímica Provincial, en el Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba, para su distribución. Para ello, se notificó a cada uno de los laboratorios participantes que disponían de un plazo de 48 horas para retirar el material control y realizar inmediatamente el procesamiento del mismo. Cada kit fue entregado con material refrigerante para una óptima conservación. El envío de las muestras estuvo a cargo de los transportistas habituales de cada laboratorio, que cuentan con personal experimentado en el transporte de muestras biológicas.

Una vez recibido el material, los laboratorios procesaron las muestras siguiendo las indicaciones de un instructivo estandarizado que detallaba tanto el procedimiento analítico como la carga y envío de los resultados.

El análisis estadístico de los datos se realizó siguiendo los lineamientos establecidos en la guía de la Norma ISO 13528<sup>7</sup>, que emplea un método robusto conocido como *AI-*

**Tabla I.** Contadores hematológicos utilizados en el estudio, distribuidos por fabricante y modelo.

Marca	Modelo	Cantidad de contadores hematológicos
Wiener	Counter 19	5
	Counter 29	4
	Counter S30	2
	Counter 31	1
Sysmex	K-Series	2
	XP-300	3
	XN-550	4
	XN-1000	1
Dirui	BC-3600	2
Mindray	Mindray 5390	1
Abbott	Emerald 22	4
	Cell Dyn Ruby	5
Urit	2900	1
Total de contadores hematológicos		35

goritmo A o Método de Huber<sup>8</sup>.

Los analitos a estudiar fueron: recuento de glóbulos blancos (RGB), recuento de glóbulos rojos (RGR), hemoglobina (HBG), hematocrito (HTO), volumen corpuscular medio (VCM) y recuento de plaquetas (PLT). El valor medio de las mediciones obtenidas por quintuplicado es el dato que se tomó como resultado final de cada laboratorio para utilizarse en la evaluación de los desempeños analíticos individuales.

En la evaluación del desempeño analítico de los participantes, se utilizaron los requerimientos de calidad basados en variabilidad biológica (VB)<sup>9</sup>.

Para valorar el estado del arte de los contadores hematológicos, se compararon los resultados obtenidos con metas reportadas en el 2022 por el Esquema Internacional de Eva-

luación de la Calidad de RANDOX (RIQAS) para el estado del arte en hematología<sup>10</sup>. El programa informático utilizado fue INFOSTAT<sup>11</sup>.

## Resultados

La provincia de Córdoba posee 40 laboratorios hospitalarios de distintas complejidades, que dependen de la administración provincial. Todos ellos fueron convocados a formar parte de esta iniciativa, pero solo 33 participaron en esta comparación interlaboratorial utilizando un total de 35 contadores hematológicos (Tabla I). Se excluyeron siete laboratorios por diversas razones, entre ellas, la falta de equipo, errores en la conservación y procesamiento de las muestras control y falta de envío de resultados.

**Tabla II.** Coeficientes de variación interlaboratorial para cada nivel. Porcentaje de laboratorios que alcanzaron los requerimientos de calidad en términos de error total según variabilidad biológica.

Analito	Nivel	CV% inter_laboratorio	Porcentaje de analizadores que alcanzan el requerimiento en términos de error total	Requerimientos de calidad (Error total aceptable)		
				VB Óptimo	VB Deseable	VB Mínimo
Recuento de glóbulos blancos	Bajo	6,3%		ET±7,1%	ET±14,3%	ET±21,4%
	Normal	6,4%		74%	91%	94%
	Alto	6,5%		71%	89%	94%
Recuento de glóbulos rojos	Bajo	8,20%		77%	91%	97%
	Normal	7,60%		ET±2,1%	ET±4,2%	ET±6,3%
	Alto	5,40%		34%	49%	63%
Hemoglobina	Bajo	4,60%		17%	49%	60%
	Normal	6,50%		31%	57%	71%
	Alto	5,10%		ET±2%	ET±3,9%	ET±5,9%
Hematocrito	Bajo	12,10%		43%	63%	77%
	Normal	10,50%		17%	43%	54%
	Alto	8,80%		29%	51%	71%
Volumen corpuscular medio	Bajo	5,60%		ET±1,9%	ET±3,9%	ET±5,8%
	Normal	5,30%		6%	23%	37%
	Alto	5,50%		17%	29%	40%
			20%	40%	49%	
			ET±0,8%	ET±1,7%	ET±2,5%	
			14%	26%	34%	
			11%	23%	46%	
			6%	29%	37%	

En la inspección preliminar de los datos, se observó una marcada heterogeneidad en los resultados obtenidos para el recuento de plaquetas (PLT) en todos los niveles, por lo cual, esta determinación fue excluida del análisis estadístico posterior. Cabe destacar que este comportamiento fue observado solo en una parte de los analizadores participantes, sin presentar ningún tipo de tendencia en especial, por lo tanto, no fue posible atribuirlo a una causa en particular.

### 1. Evaluación del rendimiento con respecto a requerimientos de calidad

El análisis de los resultados de los laboratorios participantes arrojó los siguientes resultados:

**Recuento de glóbulos blancos (RGB):** El 74% de los analizadores alcanzaron el nivel de desempeño óptimo para variabilidad biológica ( $ET \pm 7,1\%$ ) para el nivel bajo, un 71% para el nivel normal y un 77% para el nivel alto. Los coeficientes de variación interlaboratorial ( $CV\%_{inter}$ ) obtenidos fueron del 6,3%; 6,4% y 6,5% para cada nivel, respectivamente.

**Recuento de glóbulos rojos (RGR):** El 63% de los analizadores alcanzó el nivel de desempeño mínimo para variabilidad biológica ( $ET \pm 6,3\%$ ) para el nivel bajo, un 60% para el nivel normal y un 71% para el nivel alto. Los coeficientes de variación interlaboratorial ( $CV\%_{inter}$ ) oscilaron entre 5,4% y 8,2%, dependiendo del nivel de concentración evaluado.

**Hemoglobina (HBG):** El 77% de los analizadores alcanzó el nivel de desempeño mínimo para variabilidad biológica ( $ET \pm 5,9\%$ ) para el nivel bajo, un 54% para el nivel normal y un 71% para el nivel alto. En cuanto a los  $CV\%_{inter}$  obtenidos, fueron de 4,6%; 6,5% y 5,1% para cada nivel, respectivamente.

**Hematocrito (HTO):** Solo el 37% de los contadores hema-

tológicos alcanzó el nivel de desempeño mínimo para variabilidad biológica ( $ET \pm 5,8\%$ ) para el nivel bajo, el 40% para el nivel normal, y el 49% para el nivel alto. Para este analito, se obtuvieron  $CV\%_{inter}$  entre el 8,8% y el 12,1%.

**Volumen corpuscular medio (VCM):** El 34% de los contadores hematológicos alcanzó el nivel de desempeño mínimo para variabilidad biológica ( $ET \pm 5,8\%$ ) para el nivel bajo, el 46% para el nivel normal, y el 37% para el nivel alto. Los  $CV\%_{inter}$  obtenidos fueron de 5,6%; 5,3% y 5,5% para cada nivel, respectivamente. En la Figura 1, se pueden observar de manera más ilustrativa los resultados obtenidos por los analizadores participantes frente al desempeño mínimo de VB, para VCM (nivel bajo).

Los resultados completos, detallados según el criterio de variabilidad biológica y nivel de concentración, pueden visualizarse en la Tabla II.

### 2. Evaluación con respecto a metas basadas en estado del arte

**Recuento de glóbulos blancos (RGB):** Un 69% de los contadores hematológicos empleados presentó rendimientos acordes para metas planteadas según el estado del arte, de acuerdo con el principio de medición que correspondiese (impedancia:  $ET \pm 6,8\%$  u óptico:  $ET \pm 4,9\%$ ), para el nivel bajo, un 63% para el nivel normal y un 57% para el nivel alto.

**Recuento de glóbulos rojos (RGR):** Un 43% de los contadores hematológicos presentó rendimientos acordes para metas planteadas según el estado del arte, de acuerdo con el principio de medición que correspondiese (impedancia:  $ET \pm 2,7\%$  u óptico:  $ET \pm 4,3\%$ ) para el nivel bajo, un 29% para el nivel normal y un 46% para el nivel alto.

**Hemoglobina (HBG):** Un 46% de los analizadores presentó rendimientos acordes para metas planteadas según el estado del arte ( $ET \pm 2,7\%$ ) para el nivel bajo, un 31% para el

**Tabla III.** Porcentaje de analizadores que alcanzaron el requerimiento según el estado del arte, en términos de error total.

Analito	Meta RIQAS para error total aceptable	Nivel	Porcentaje de analizadores
Recuento de glóbulos blancos	Impedancia: $ET \pm 6,8\%$ Óptico: $ET \pm 4,9\%$	Bajo	69%
		Normal	63%
		Alto	57%
Recuento de glóbulos rojos	Impedancia: $ET \pm 2,7\%$ Óptico: $ET \pm 4,3\%$	Bajo	43%
		Normal	29%
		Alto	46%
Hemoglobina	$ET \pm 2,7\%$	Bajo	46%
		Normal	31%
		Alto	49%
Hematocrito	$ET \pm 8,3\%$	Bajo	57%
		Normal	57%
		Alto	66%
Volumen corpuscular medio	$ET \pm 8,3\%$	Bajo	77%
		Normal	89%
		Alto	86%

nivel normal y un 49% para el nivel alto.

**Hematocrito (HTO):** Un 57% de los analizadores presentó rendimientos acordes para metas planteadas según el estado del arte. [ET  $\pm 8,3\%$ ] para los niveles bajo y normal y un 66% para el nivel alto.

**Volumen corpuscular medio (VCM):** Un 77% de los contadores hematológicos presentó rendimientos acordes para metas planteadas según el estado del arte. [ET  $\pm 8,3\%$ ] para el nivel bajo, un 89% para el nivel normal y un 86% para el nivel alto. En la Figura 2, se pueden visualizar gráficamente los resultados obtenidos por los analizadores participantes con respecto a los requerimientos basados en el estado del arte, para VCM (nivel bajo).

En la Tabla III, se pueden observar los resultados completos, según el estado del arte, detallados para cada nivel de concentración.

## Discusión

En hematología, pocas determinaciones son trazables con materiales o métodos de referencia<sup>12</sup>. La cuantificación de hemoglobina es el único analito estandarizado del hemograma<sup>13,14</sup>, mientras que los recuentos celulares cuentan con métodos de referencia, pero no, con materiales de referencia certificados<sup>15,16</sup>. Esto supuso un desafío en el diseño y ejecución del estudio, ya que exigió una cuidadosa selección del material de control y métodos estadísticos adecuados. En cuanto al material control, se optó por muestras comerciales de sangre entera estabilizada, utilizadas

habitualmente en el control de calidad interno de equipos de hematología debido a su estabilidad, facilidad de almacenamiento y capacidad para evaluar niveles normales y patológicos, a pesar de su limitada conmutabilidad entre plataformas analíticas<sup>17</sup>.

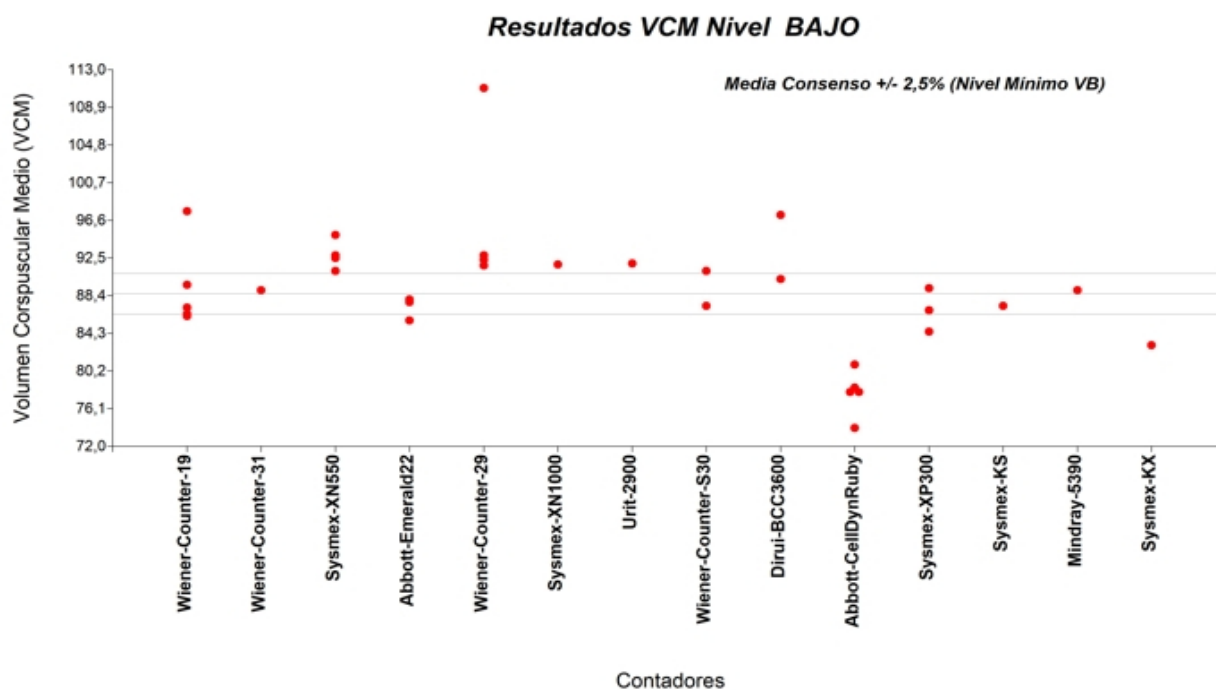
Para el análisis estadístico, se empleó el Algoritmo A, un método robusto, el cual aplica un proceso iterativo de "win-sorización", que reduce la influencia de valores extremos y genera estimadores confiables de la media y la desviación estándar<sup>18</sup>.

La media asignada fue la media de consenso, ante la ausencia de una metodología de referencia de jerarquía superior. Sin embargo, es importante mencionar que esta estrategia tiene sus limitaciones, ya que esta métrica puede estar influenciada por el predominio de participantes de cierta plataforma analítica.

Todo lo mencionado anteriormente exige, por lo tanto, una cautelosa interpretación de los resultados.

La selección de límites de aceptabilidad en EEC es compleja: criterios amplios pueden comprometer la seguridad del paciente, mientras que criterios demasiado exigentes pueden generar costos elevados para los laboratorios en el intento de alcanzar las metas analíticas propuestas. Por ello, se siguieron las directrices de la Conferencia de Milán<sup>19</sup> adoptando las especificaciones de variabilidad biológica (Modelo 2), ya que, en hematología, no existen referencias suficientes para establecer requerimientos basados en el impacto clínico (Modelo 1).

**Figura 1.** Resultados de volumen corpuscular medio (nivel bajo), según cada plataforma analítica, con respecto al nivel de desempeño mínimo para variabilidad biológica.



► La línea central corresponde a la media de consenso, y las líneas de corte inferior y superior corresponden al límite de aceptabilidad según el nivel de desempeño mínimo para variabilidad biológica.

Respecto de la heterogeneidad de los resultados observada para el recuento de plaquetas, que imposibilitó la evaluación de la performance analítica para esta determinación, los autores de este trabajo concuerdan en que es un analito particularmente sensible al deterioro del material control, sin embargo, no es posible precisar la causa específica debido a que solo una parte de los laboratorios presentó dicho comportamiento. Además, sería oportuno, en caso de existir futuras rondas de esta estrategia de evaluación externa de la calidad, realizar pruebas más exhaustivas de estabilidad del material control, para intentar dilucidar si lo observado en el presente trabajo fue debido a alguna situación concreta, y evaluar qué procesos pueden ser mejorados para obtener resultados fidedignos.

En cuanto al desempeño analítico de los laboratorios participantes, fue aceptable para el RGB, ya que, en promedio, el 74% de los analizadores alcanzó el nivel óptimo según variabilidad biológica, de manera similar a lo observado para el RGR y HBG para los que, en promedio, el 65% y el 67% de los contadores hematológicos lograron el nivel mínimo de desempeño. Esto se manifiesta en coeficientes de variación interlaboratorial bajos para estas determinaciones (del 6,4% promedio para RGB, 7% promedio para RGR y 5,4% promedio para HBG), lo que indica una buena comparabilidad de resultados.

En contraste, los analitos HTO y VCM mostraron desempeños deficientes. Para HTO, solo el 37% de los contadores hematológicos alcanzó el nivel de desempeño mínimo para variabilidad biológica ( $ET \pm 5,8\%$ ), para el nivel bajo, el 40%

para el nivel normal y el 49% para el nivel alto.

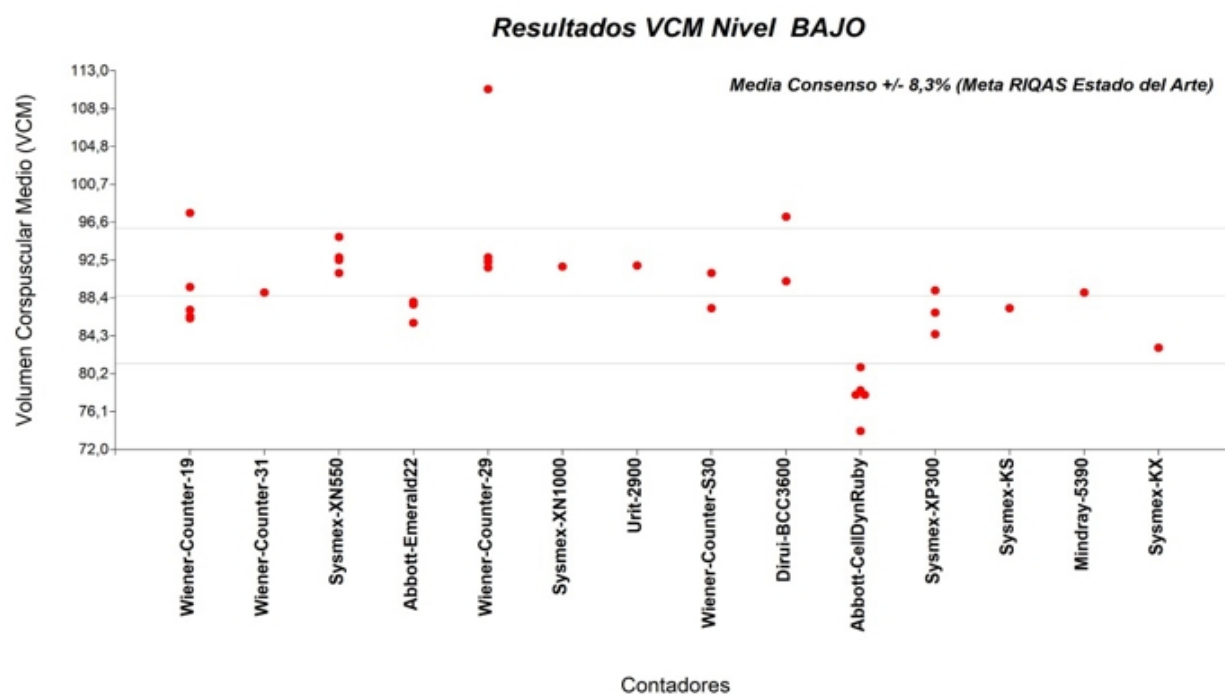
Por otro lado, para el VCM, el 34% de los contadores hematológicos alcanzó el nivel de desempeño mínimo para variabilidad biológica ( $ET \pm 5,8\%$ ), para el nivel bajo, el 46% para el nivel normal y el 37% para el nivel alto.

Esto podría explicarse por la exigencia de las metas de variabilidad biológica. En el caso del HTO, se debe a que es un parámetro calculado a partir del RGR y el VCM, en la mayoría de los métodos, por lo que acumula el error de ambas mediciones. Este efecto se evidencia en sus altos coeficientes de variación (8% a 12%), y es, en consecuencia, la determinación con peor rendimiento. En cuanto al VCM, se evidencia por el hecho de que menos de la mitad de los analizadores alcanzó las metas establecidas, a pesar de obtener un coeficiente de variación relativamente bajo (5,5% promedio).

Estos resultados son comparables, en líneas generales, a los hallados por Molina<sup>20</sup>, a excepción de los analitos HTO y VCM, cuyos resultados fueron superiores debido a que tuvieron a disposición un mayor volumen de datos de un esquema de evaluación externa de la calidad, lo que les permitió obtener métricas más representativas.

Otro motivo podría ser que, en el presente trabajo, se utilizaron datos de variabilidad biológica más estrictos, provenientes del grupo Estudio de Variabilidad Biológica Europeo (EuBIVAS)<sup>21</sup> de la Federación Europea de Química Clínica y Medicina de Laboratorio (EFLM). A pesar de estas diferencias, los resultados refuerzan la necesidad de que los laboratorios de la provincia participen en CCE de forma continua

**Figura 2.** Resultados de volumen corpuscular medio (nivel bajo), para cada plataforma analítica, según el estado del arte.



► La línea central corresponde a la media de consenso, y las líneas inferior y superior corresponden a los límites de aceptabilidad establecidos según el estado del arte por el esquema de calidad externo RIQAS

para mejorar sus procesos analíticos.

Cuando los requerimientos analíticos son demasiado estrictos y la mayoría de los laboratorios no puede cumplirlos, puede deberse a que los métodos empleados no sean capaces de alcanzar técnicamente esos niveles de desempeño analítico. Para aclarar esta cuestión, es clave evaluar el estado del arte metodológico, entendido como el máximo nivel de rendimiento analítico alcanzable por los métodos de campo con la tecnología disponible.

Definir el nivel del estado del arte puede ser complejo. En la Conferencia de Milán, se consensuó que, alternativamente, se podrían establecer metas analíticas basadas en el estado del arte, a partir del desempeño de un porcentaje de laboratorios en programas de evaluación externa de la calidad [Modelo 3]<sup>19</sup>. Algunas de estas estrategias pueden observarse en el trabajo de Salas y col.<sup>22</sup>. En este estudio, se aplicó este enfoque utilizando las metas de RIQAS, un programa internacional de EEC con más de 76,000 laboratorios participantes<sup>23</sup>, para determinar si los métodos empleados localmente cumplen con los mencionados estándares de aptitud técnica.

Para RGR y HBG, en promedio, el 39% y 29%, respectivamente, de los analizadores alcanzaron las metas propuestas según el estado del arte. Estas metas, aunque ligeramente más amplias que el nivel de desempeño óptimo según variabilidad biológica, confirman que este último es un criterio adecuado para establecer límites de aceptabilidad. Además, reflejan que los laboratorios públicos de hematología de la provincia aún tienen un amplio margen de mejora en estos análisis.

En el caso del RGB, a pesar de que las metas del estado del arte propuestas por RIQAS son más estrictas que los requerimientos de variabilidad biológica, el 63% de los analizadores logró rendimientos dentro de estos límites, lo que sugiere un buen desempeño técnico de los métodos empleados.

Resultados similares se observaron en HTO y VCM, donde el 60% y el 84% de los contadores hematológicos, respectivamente, cumplieron con las metas planteadas. En contraste con los resultados obtenidos en comparación con las metas basadas en variabilidad biológica, estos valores indican que, para estas determinaciones, los requerimientos de variabilidad biológica son particularmente exigentes para las metodologías utilizadas en este estudio. En las Figuras 1 y 2, se puede apreciar esta disparidad, según el requerimiento de calidad elegido para el caso puntual del VCM: Por un lado, en la Figura 1, se puede apreciar la exigencia que representa cumplir con los requerimientos de calidad basados en VB, donde menos de la mitad de los analizadores alcanzan esta meta analítica. Por el otro, en la Figura 2, se puede apreciar cómo la mayoría de los contadores hematológicos alcanzan la meta analítica planteada según el estado del arte.

Cabe aclarar que las metas propuestas según el estado del arte por RIQAS para los análisis HTO y VCM son más permisivas que las encontradas por Molina y colaboradores<sup>20</sup> ( $ET\pm 4,2\%$  y  $ET\pm 3,4\%$ , respectivamente) y las calculadas por

Westgard<sup>24</sup> ( $ET\pm 4,1\%$  y  $ET\pm 3,3\%$ , respectivamente) a partir de los datos del trabajo de Vis y Huisman<sup>25</sup>. Estas diferencias posiblemente se deban a la aplicación de diferentes algoritmos para la obtención de estas métricas.

## Conclusión

Está ampliamente demostrada la importancia de participar en programas de evaluación externa de la calidad. La información obtenida a través de estos protocolos promueve la capacitación constante de los operarios y la mejora continua de los procesos analíticos de los laboratorios para aportar de esta forma a la confiabilidad de los resultados obtenidos, de modo que sean seguros para los pacientes y aptos para la toma de decisiones clínicas.

Los resultados obtenidos en este trabajo permiten demostrar que, a pesar de los mencionados desafíos que atañen a la armonización de los resultados en hematología, en el ámbito de los laboratorios públicos de la provincia de Córdoba, existe un grado considerablemente razonable de comparabilidad.

Este ensayo fue, para gran parte de los laboratorios participantes, la primera experiencia frente a una estrategia de CCE y, si bien los resultados son alentadores, existe todavía un amplio margen de mejora. Sin embargo, el presente trabajo no deja de ser un evento aislado de evaluación externa de la calidad. A fin de progresar en este sentido, es necesario generar mecanismos de mejora continua para los laboratorios, para lo que son fundamentales los programas de EEC. De esta forma, se genera un proceso donde los laboratorios reciben periódicamente retroalimentación sobre sus procedimientos analíticos que les permite ajustarlos.

Por todo lo anteriormente mencionado, los autores consideran que son necesarias políticas públicas que propicien el acceso a este tipo de herramientas para los laboratorios de la provincia, dada su comprobada utilidad y la reducción en los costos que trae consigo la implementación de estrategias de calidad a largo plazo, como así también la conformación de espacios donde los laboratorios reciban asesoramiento y capacitación por parte de especialistas en calidad analítica que les permitan mejorar sus prestaciones.

## Referencias bibliográficas

1. Rohr UP, Binder C, Dieterle T, Giusti F, Messina CG, Toerien E, et al. The Value of In Vitro Diagnostic Testing in Medical Practice: A Status Report. *PLoS One*. 2016;11(3):e0149856; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149856>
2. World Health Organization. WHO manual for organizing a national external quality assessment programme for health laboratories and other testing sites. 2016. [Internet]. Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549677>
3. Jones GR, Sikaris K, Gill J. Allowable Limits of Performance for External Quality Assurance Programs – an Approach to Application of the Stockholm Criteria by the RCPA Quality Assurance Programs. *Clin Biochem Rev*. 2012;33(4):133-9; <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3529550/>
4. Bundesärztekammer (German Medical Association), Instande. V. Guidelines of the German Medical Association on quality assurance in medical laboratory testing. *GMS Z Forder Qualit at SichMed Lab*. 2015; 6:Doc03,

- <https://www.iaclid.com/UpFiles/Documents/308672872.pdf>.
5. Centers for Medicare & Medicaid Services. Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) [Internet]. [Accedido en octubre de 2024]. Disponible en: <https://www.cms.gov/medicare/quality/clinical-laboratory-improvement-amendments?redirect=CLIA>
  6. Jones GR. The role of EQA in harmonization in laboratory medicine - a global effort. *Biochem Med (Zagreb)*. 2017;27(1):23-29. <https://doi.org/10.11613/BM.2017.004>
  7. International Standardization Organization. ISO 13528: Statistical Methods for Use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons. 2022 ago.
  8. Huber P. Robust statistics. New York, NY: John Wiley and sons, 1981. <http://dx.doi.org/10.1002/0471725250>
  9. Aarsand AK, Fernandez-Calle P, Webster C, Coskun A, Gonzales-Lao E, Diaz-Garzon J, et al. The EFLM Biological Variation Database [Internet]. [Accedido en octubre de 2024]. Disponible en: <https://biologicalvariation.eu/>
  10. Westgard. Consolidated Comparison of Hematology and Coagulation Performance Specifications [Internet]. 2018 [Accedido en octubre de 2024]. Disponible en: <https://westgard.com/cli-a-quality/quality-requirements/hematology-goals.html>
  11. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. [2008]. *InfoStat, versión 2008*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
  12. Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine. Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine Database. [Accedido en Octubre de 2024]. Disponible en: <https://www.jctlmdb.org/>
  13. Hartevelde CL, McCafferty R, Fawcett T, Erber WN; International Council for the Standardization of Haematology (ICSH). International Council for Standardization in Haematology technical report 2023: Renewal of the reference material for haemoglobin cyanide 19-1-B308 for use in standardization of blood haemoglobin measurements. *Int J Lab Hematol*. 2024 Jun; 46(3):575-576. <https://doi.org/10.1111/ijlh.14254>
  14. Grote-Koska D, Klauke R, Kaiser P, Kramer U, Macdonald R, Lerche D, et al. Total haemoglobin - a reference measuring system for improvement of standardisation. *Clin Chem Lab Med*. 2020;58(8):1314-1321, <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-1177>
  15. Deutsches Institut für Normung e. V. [DIN]. DIN 58932-3:2024-02. Haematology – Determination of the concentration of blood corpuscles in blood - Part 3: Reference method for the determination of the concentration of erythrocytes. 2024 feb.
  16. Deutsches Institut für Normung e. V. [DIN]. DIN 58932-5:2007-10. Haematology – Determination of the concentration of blood corpuscles in blood – Part 5: Reference method for the determination of the concentration of thrombocytes. 2007 oct.
  17. De la Salle B. Survey material choices in haematology EQA: a confounding factor in automated counting performance assessment. *Biochem Med (Zagreb)*. 2017;27(1):63-72, <https://doi.org/10.11613/BM.2017.008>
  18. Coucke W, Soumali MR. Demystifying EQA statistics and reports. *Biochem Med (Zagreb)*. 2017;27(1):37-48, <https://doi.org/10.11613/BM.2017.006>
  19. Sandberg S, Fraser CG, Horvath AR, Jansen R, Jones G, Oosterhuis W, et al. Defining analytical performance specifications: Consensus Statement from the 1st Strategic Conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(6):833-5, <https://doi.org/10.1515/cclm-2015-0067>
  20. Molina A, Guiñon L, Perez A, Segurana A, Bedini JL, Reverter JC, et al. State of the art vs biological variability: Comparison on hematology parameter using Spanish EQAS data. *Int J Lab Hematol*. 2018;40(3):284-291, <https://doi.org/10.1111/ijlh.12783>
  21. Co kun A, Carobene A, Kilercik M, Serteser M, Sandberg S, Aarsand AK, et al. European Biological Variation Study of the EFLM Working Group on Biological Variation. Within-subject and between-subject biological variation estimates of 21 hematological parameters in 30 healthy subjects. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(8):1309-1318, <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-1155>
  22. Salas A, Ricós C, Prada E, Ramón F, Morancho J, Jou JM, et al. State-of-the-art Approach to Goal Setting. *Clin Lab Med*. 2017;37(1):73-84, <https://doi.org/10.1016/j.cll.2016.09.007>
  23. Randox Laboratories. RIQAS: The Largest International External Quality Assessment. [Internet] [Accedido en octubre de 2024]. Disponible en: <https://www.randox.com/riqas-external-quality-assessment/>
  24. Westgard. 2016 State of the Art Hematology Performance Specifications [Internet]. 2016 [Accedido en octubre de 2024]. Disponible en: <https://westgard.com/cli-a-quality/quality-requirements/sota-2016-hematology.html>
  25. Vis JY, Huisman A. Verification and quality control of routine hematology analyzers. *Int J Lab Hematol*. 2016;38 Suppl 1:100-9, <https://doi.org/10.1111/ijlh.12503>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Análisis de la longitud telomérica como biomarcador del riesgo y progresión de enfermedades metabólicas

*Analysis of telomere length as a biomarker of risk and progression of metabolic diseases.*

Millán, Andrea Liliana<sup>1,2\*</sup>; Pautasso, María Constanza<sup>2</sup>; Rojo, Mailén<sup>1,2</sup>; Frechtel, Gustavo Daniel<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Inmunología y Biotecnología, Cátedra de Genética, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Laboratorio de Diabetes y Metabolismo, Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM)-CONICET, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>División Nutrición, Hospital de Clínicas "José de San Martín", Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Millán, Andrea Liliana. Instituto de Inmunología Genética y Metabolismo (INIGEM-UBA-CONICET). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; amillan@docente.ffyb.uba.ar; [lic.andreamillan@gmail.com](mailto:lic.andreamillan@gmail.com)

## Resumen

**Objetivos:** Analizar la longitud telomérica (LT) como biomarcador del riesgo y la progresión de enfermedades metabólicas. Evaluar la LT de acuerdo con el número de alteraciones metabólicas y factores de riesgo ambientales. **Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio transversal en individuos categorizados de la siguiente manera: con obesidad metabólicamente sanos (OMS); obesidad y síndrome metabólico (OSM) y un grupo control normopeso (NP). Se hicieron determinaciones bioquímico-clínicas y antropométricas y se informaron presencia de factores de riesgo del estilo de vida y enfermedades preexistentes. La LT absoluta se determinó en ADN de sangre periférica por PCR cuantitativa. El análisis estadístico se realizó con SPSS versión 20.0 con  $p < 0.05$ . **Resultados:** La menor LT se asoció a la presencia de anomalías del SM y al aumento progresivo del número de componentes ( $p < 0.001$ ). Los OMS presentaron una LT significativamente menor que los NP ( $p = 0.034$ ) y mayor que los OSM ( $p = 0.004$ ). La menor LT se asoció con la mayor cantidad de años de ser fumador ( $p = 0.003$ ). Por último, el tercil más bajo de LT se asoció con mayor riesgo de presentar circunferencia de cintura aumentada (OR=2.13;  $p < 0.001$ ), triglicéridos altos (OR=1.68;  $p = 0.034$ ), dislipidemia (OR=1.86;  $p = 0.039$ ), obesidad (OR=2.41;  $p < 0.001$ ) y SM (OR=2.12;  $p < 0.001$ ). **Conclusión:** la LT puede resultar un biomarcador útil de riesgo y progresión de enfermedades metabólicas, como la enfermedad cardiovascular y la DT2.

**Palabras clave:** telómeros, enfermedades metabólicas, diabetes, obesidad.

## Abstract

**Objectives:** To analyze telomere length (TL) as a biomarker of risk and progression of metabolic diseases and to evaluate the TL according to the number of metabolic alterations and environmental risk factors. **Materials and Methods:** We performed a cross-sectional study of 1006 individuals categorized into: metabolically healthy individuals with obesity (OMS); obesity and metabolic syndrome (OSM) and a normal weight control group (NP). Biochemical-clinical and anthropometric determinations were made and the presence of lifestyle risk factors and pre-existing diseases were self-reported. The absolute TL in peripheral blood DNA was determined by quantitative PCR. Statistical analysis was performed with SPSS v20.0 with  $p < 0.05$ . **Results:** A lower TL was associated with the presence of metabolic syndrome abnormalities and the progressive increase in the number of components ( $p < 0.001$ ). The OMS individuals presented a significantly lower TL than the NP individuals ( $p = 0.034$ ) and higher than the OSM ones ( $p = 0.004$ ). The lowest TL was associated with the highest number of years of smoking ( $p = 0.003$ ). Finally, the lowest tercile of TL was associated with a higher risk of presenting increased waist circumference (OR=2.13;  $p < 0.001$ ), high triglycerides (OR=1.68;  $p = 0.034$ ), dyslipidemia (OR=1.86;  $p = 0.039$ ), obesity (OR=2.41;  $p < 0.001$ ) and metabolic syndrome (OR=2.12;  $p < 0.001$ ). **Conclusion:** LT may be a useful biomarker of risk and progression of metabolic diseases such as cardiovascular disease and type 2 diabetes.

**Keywords:** Telomeres, Metabolic Diseases, Diabetes, Obesity

## Introducción

El síndrome metabólico (SM) es una constelación de factores de riesgo de origen metabólico que se acompañan de un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares (ECV) y diabetes tipo 2 (DT2)<sup>1</sup>. Sin embargo, la utilidad del SM como entidad predictora de riesgo cardiovascular ha sido cuestionada, especialmente en comparación con el riesgo conferido por la suma de sus componentes individuales<sup>2-4</sup>.

Existe un fenotipo particular de obesidad, denominado *obesidad metabólicamente saludable* (OMS), que describe a individuos con un índice de masa corporal (IMC) mayor de 30 kg/m<sup>2</sup> que no presentan las alteraciones metabólicas características del SM<sup>5</sup>. Este fenotipo representa entre el 10% y el 40% de las personas con obesidad y, en términos de riesgo cardiometabólico, se ha reportado que presentan un menor riesgo de desarrollar ECV y DT2 en comparación con aquellos individuos con obesidad y SM<sup>6,7</sup>.

El estrés oxidativo y la inflamación de bajo grado desempeñan un papel clave en la fisiopatología del síndrome metabólico (SM), y ambos procesos están estrechamente relacionados con el envejecimiento celular acelerado y el desarrollo de enfermedades metabólicas<sup>8</sup>. En el nivel celular, la longitud telomérica (LT) se considera un indicador de senescencia replicativa y, evaluada en leucocitos, resulta un potente biomarcador de envejecimiento celular y enfermedades relacionadas con la edad<sup>9,10</sup>.

Los telómeros son estructuras nucleoproteicas con mayor susceptibilidad al daño por estrés oxidativo debido a su secuencia rica en guaninas y a la menor eficiencia de los mecanismos de reparación del ADN, lo que puede acelerar el envejecimiento biológico<sup>11</sup>.

A medida que aumentan los componentes del SM, se ha observado un incremento en los niveles de estrés oxidativo e inflamación, lo que podría contribuir a un mayor acortamiento de las secuencias teloméricas<sup>12</sup>. Además, la LT es una variable dinámica determinada por factores genéticos, ambientales y de estilo de vida, como el sueño, el ejercicio, el consumo de tabaco y el consumo de alcohol<sup>13,14</sup>. Sin embargo, en muchos estudios, estas variables no se han considerado adecuadamente, lo que ha impedido una mejor comprensión de la relación entre el SM y la LT. Por este motivo, el objetivo de este estudio fue investigar la LT en individuos OMS, en comparación con individuos con obesidad y SM, así como con individuos con normopeso. También, evaluar la LT de acuerdo con la presencia del SM, sus componentes individuales y el número creciente de alteraciones, además de analizar la relación entre la LT más corta y la prevalencia de trastornos cardiometabólicos.

## Metodología

### Diseño del estudio

Se reclutaron adultos no relacionados de ambos sexos entre junio de 2017 y noviembre de 2019 mediante un diseño de muestreo probabilístico, estratificado, en varias etapas, basado en unidades habitacionales según el censo de

población y vivienda de 2010. Los participantes firmaron un consentimiento informado de acuerdo con las normativas bioéticas nacionales (Disposición ANMAT 5330/97, Ley de Protección de Datos Personales N.º 25.326) e internacionales (última versión de la Declaración de Helsinki, Código de Núremberg y Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos). El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética y el Ministerio de Salud.

### Determinaciones clínicas, bioquímicas, antropométricas y factores ambientales

Cada participante completó un cuestionario sobre las características demográficas, los antecedentes personales y familiares de enfermedades, como diabetes tipo 2, hipertensión y dislipidemia, además de la medicación utilizada. Personal capacitado realizó las mediciones antropométricas (peso, talla, circunferencia de cintura) y calculó el índice de masa corporal (IMC). La presión arterial se midió dos veces, y se registró la segunda lectura.

Después de 12 horas de ayuno, se tomaron muestras de sangre para análisis bioquímicos. Se midieron glucemia en ayunas, HbA1c, colesterol total, c-HDL, c-LDL y triglicéridos utilizando métodos estándar. Una fracción de sangre fue congelada para análisis de ADN.

El diagnóstico de síndrome metabólico (SM) se realizó según criterios del ATP III y se definió por la presencia de al menos tres de cinco factores: circunferencia de cintura elevada, triglicéridos altos, colesterol HDL bajo, hipertensión y glucosa elevada<sup>15</sup>.

Se conformaron de esta manera 3 grupos: uno de individuos con peso normal y sin componentes del SM, que formó el grupo control, llamado *NPO* (NP: normopeso, O: sin componentes del SM); otro de individuos con obesidad y SM, llamado *OSM* (O: obeso, SM: síndrome metabólico) y el tercero, *OMS*, (O: obesidad, MS: metabólicamente sanos) conformado por individuos con obesidad y que presentaban hasta 2 de las alteraciones metabólicas características del SM de acuerdo con el Consenso Internacional de Sociedades Médicas<sup>16</sup>.

Los criterios para diabetes, obesidad y dislipidemia fueron: glucemia  $\geq 126$  mg/dL, IMC  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> y colesterol total  $\geq 200$  mg/dL o triglicéridos  $\geq 150$  mg/dL, respectivamente<sup>17,18</sup>.

Adicionalmente, se evaluaron factores de riesgo ambientales, como tabaquismo, actividad física y consumo de alcohol. La actividad física se midió con el cuestionario IPAQ corto y se categorizó como sedentarios a quienes la realizaban hasta dos veces por semana. El tabaquismo se evaluó mediante el cálculo de paquetes/año<sup>19</sup>.

### Determinación de la longitud absoluta de telómeros

La longitud absoluta de los telómeros (LTLa) en leucocitos periféricos se determinó mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) utilizando el método SYBR Green, como se describió previamente<sup>20</sup>. Para cada muestra de ADN

**Tabla I.** Características de la población estratificada de acuerdo con presencia de SM y obesidad.

	NP	OMS	OSM	P
N	113	98	120	
Edad	37 ± 14*	45 ± 15*	51 ± 12*	<0.001
Sexo F/M, n (%)	69/44 (61.1/38.9)	44/54 (44.9/55.1)	34/86 (28.3/71.7)*	<0.001
Factores de estilo de vida				
Fumador, n (%)	36 (31.9)	24 (24.5)	32 (26.7)	0.466
Consumo de alcohol, n (%)	19 (16.8)*	30 (30.6)	34 (28.3)	0.041
Sedentarismo, n (%)	68 (60.2)	66 (67.3)	95 (79.2)*	0.006
Componentes del SM				
CC [cm]; p. femenina	76.72 ± 7.11*	101.82 ± 13.33	111.32 ± 22.39*	<0.001
CC [cm]; p. masculina	81.18 ± 6.38*	101.11 ± 10.07*	113.59 ± 15.83*	<0.001
GPA (mg/dL)	95 ± 31	93 ± 10	115 ± 40*	<0.001
TG (mg/dL)	89 ± 44*	107 ± 40*	183 ± 114*	<0.001
c-HDL (mg/dL); p. femenina	62 ± 12	58 ± 13	46 ± 12*	<0.001
c-HDL (mg/dL); p. masculina	47 ± 9	51 ± 12	41 ± 9*	<0.001
PA sistólica (mmHg)	112 ± 13*	124 ± 17*	139 ± 22*	<0.001
PA diastólica (mmHg)	72 ± 10*	79 ± 11*	88 ± 14*	<0.001
Enfermedades prevalentes				
Diabetes, n (%)	5 (4.4)	8 (8.2)	32 (26.7)*	<0.001
Dislipemia, n (%)	72 (63.7)	72 (73.5)	117 (97.5)*	<0.001
Hipertensión, n (%)	8 (7.1)*	30 (30.6)*	80 (66.7)*	<0.001

▶ Los valores se expresan como media ± desvío estándar para variables continuas o número de casos y porcentajes (%) para variables cualitativas. CC, circunferencia de la cintura; GPA, glucosa plasmática en ayunas; TG, triglicéridos; c-HDL, colesterol de alta densidad; PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica. Análisis estadístico: ANOVA de un factor y comparaciones múltiples mediante la prueba post hoc de Tukey para variables cuantitativas; prueba Chi Cuadrado para comparar proporciones.

▶ \* Indica diferencias significativas con el resto de los grupos a un nivel del 0,05.

▶ † Indica proporción o valor de la variable que difiere significativamente con el subgrupo NP a un nivel del 0,05.

genómico, se amplificaron un fragmento de 75 pb del gen de copia única *RPLPO* y las secuencias teloméricas. Cada muestra se analizó por duplicado, incluyendo un control negativo sin ADN y la amplificación de estándares de concentración conocida para ambos *targets*, con el fin de construir curvas de calibración. Las reacciones se realizaron en un volumen de 20 µl, con 20 ng de ADN, SYBR Green Master Mix y *primers* en concentraciones específicas.

Las condiciones de la PCR consistieron en 10 minutos a 95°C, seguidos de 45 ciclos de amplificación (95°C por 15 segundos y 60°C por 1 minuto). La LTL se calculó dividiendo el valor de Kpb/reacción obtenido de la curva de telómeros por el número de copias del genoma diploide/reacción,

resultante en la relación T/S, expresada en Kpb por genoma diploide humano.

#### Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando SPSS (versión 20.0). La normalidad de las variables continuas se evaluó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y los datos se expresaron como media ± desviación estándar. Se aplicaron transformaciones logarítmicas cuando fue necesario para cumplir con la normalidad y realizar análisis paramétricos. La comparación de características clínicas, bioquímicas y antropométricas entre grupos estratificados por obesidad y SM se realizó mediante ANOVA de un factor, seguido de prue-

**Tabla II.** Riesgo relativo de factores no modificables, estilo de vida, anormalidades del SM y enfermedades prevalentes en individuos con tercil más bajo de LT

	OR	IC OR	P
Edad >40 años	0.629	0.395/1.001	0.050
Sexo M/F	0.893	0.569/1.403	0.623
Factores de estilo de vida			
Fumador	0.973	0.592/1.600	0.914
Consumo de alcohol	1.133	0.688/1.865	0.624
Sedentarismo	1.156	0.715/1.870	0.553
Anormalidades del SM			
Alta CC, >102 cm/88 cm	2.133	1.357/3.354	<0.001
Alta GPA, >100 mg/dL	1.009	0.622/1.637	0.970
Altos TG, >150 mg/dL	1.680	1.039/2.717	0.034
Bajo c-HDL, <40 mg/dL/<50 mg/dL	1.080	0.691/1.688	0.735
Hipertensión, >130 mmHg y >85 mmHg	1.536	0.974/2.422	0.064
Enfermedades Prevalentes			
Diabetes	1.654	0.894/3.057	0.106
Dislipemia	1.861	1.026/3.376	0.039
Hipertensión	1.536	0.974/2.422	0.064
Obesidad	2.409	1.449/4.005	0.001
SM (ATPIII)	2.124	1.345/3.354	0.001

► CC, circunferencia de la cintura; GPA, glucosa plasmática en ayunas; TG, triglicéridos; c-HDL, colesterol de alta densidad; PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica; OR, riesgo relativo; IC, Intervalo de confianza.

bas *post hoc* de Tukey. Para variables cualitativas, como factores de estilo de vida y enfermedades prevalentes, se utilizó la prueba de Chi cuadrado.

Se llevaron a cabo análisis multivariados (ANCOVA) con ajustes por factores no modificables (sexo y edad) y modificables (estilo de vida y enfermedades, dicotomizados como: presencia = 1 y ausencia = 0). La relación entre LTLa y edad, así como entre LTLa y años de tabaquismo, se evaluó mediante regresión lineal, mientras que la regresión lineal múltiple se utilizó para identificar predictores de la variabilidad de LTLa.

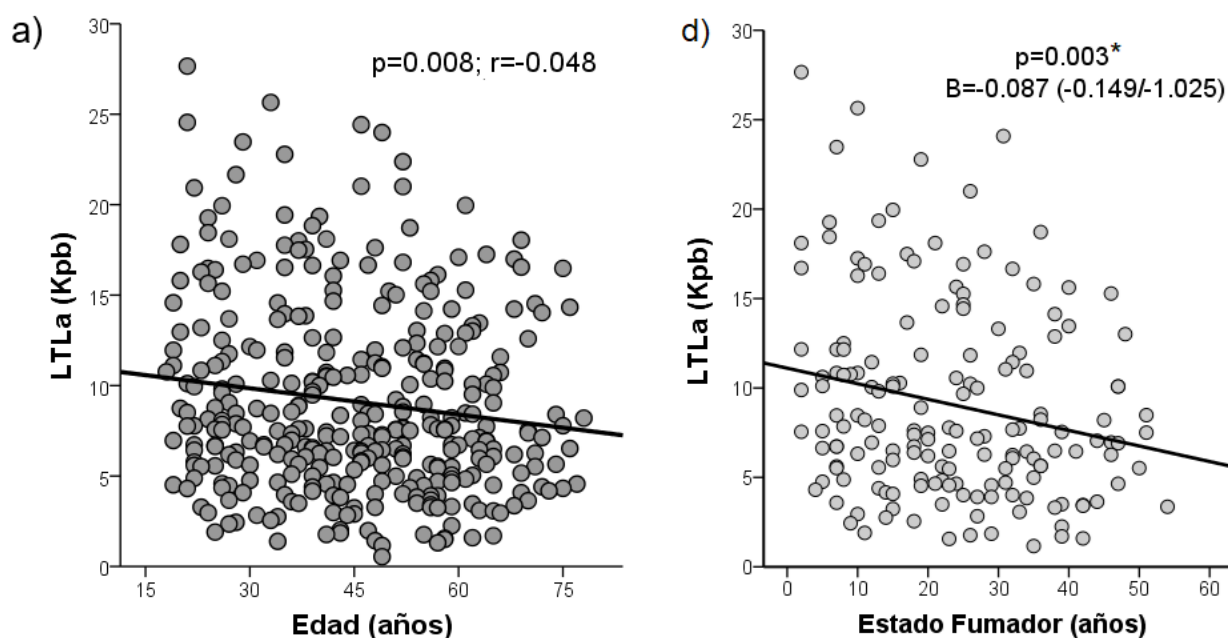
Se realizaron análisis de correlación de Pearson y correlación parcial para estudiar la asociación entre LTLa y los componentes del SM, con ajustes por factores no modificables y de estilo de vida. La LTLa se comparó entre los grupos NP, OMS y OSM utilizando regresión lineal múltiple, ajustada por factores relevantes. Los terciles de LTLa se calcularon para identificar el tercil más bajo, y se estimó el riesgo relativo (OR) de anormalidades metabólicas mediante tablas de contingencia por la prueba de Chi cuadrado. Un valor de  $p < 0.05$  se consideró estadísticamente significativo.

## Resultados

### Caracterización fenotípica de acuerdo con la presencia de SM y obesidad

Se estudiaron 147 mujeres y 203 hombres (42% y 58%, respectivamente) con una edad media de  $45 \pm 15$  años. De acuerdo con los criterios del ATPIII y el IMC, el 32,3% ( $n=113$ ) de los individuos conformó el grupo NPO, el 28% ( $n=98$ ), el grupo OMS y el 34,3% ( $n=120$ ), el grupo OSM. El 5,4% de los individuos ( $n=19$ ) no pudo incluirse en ninguna de las categorías por datos incompletos o porque no podían ser incluidos en ninguna de las categorías, como en el caso de individuos con normopeso y SM.

Se observaron diferencias significativas entre los grupos NP, OMS y OSM en características demográficas, factores de estilo de vida y componentes del SM (Tabla I). Se evidenció un aumento de la edad y el estado sedentario en relación con la presencia de obesidad y SM. Además, los individuos del grupo OSM presentaron un peor perfil cardiometabólico, con mayor circunferencia de cintura (CC), glucosa plasmática en ayunas (GPA), triglicéridos (TG), presión arterial sistólica (PAS) y diastólica (PAD), y menores niveles de colesterol HDL (c-HDL). El grupo OMS presentó un perfil más

**Figura 1.** Distribución de la longitud absoluta de los telómeros.

► Distribución de la longitud absoluta de los telómeros en relación con la edad (a) y con la cantidad de años de fumador (b). Rectas de regresión lineal:  $r$ , coeficiente de regresión;  $\beta$ , coeficiente de regresión estandarizado; LTLa, longitud telomérica leucocitaria absoluta; Kbp, kilo pares de bases.

saludable, con valores normales para la mayoría de los componentes del SM, excepto la CC.

En términos de enfermedades prevalentes, el grupo OSM tuvo mayor prevalencia de diabetes, hipertensión y dislipidemia en comparación con los otros grupos. Los grupos NP y OMS mostraron proporciones similares de diabetes tipo 2 y dislipidemia, aunque el grupo OMS presentó más hipertensión que el NP. Estas diferencias continuaron siendo significativas tras ajustar por medio de factores no modificables, como sexo y edad.

#### Estudio de la LTLa

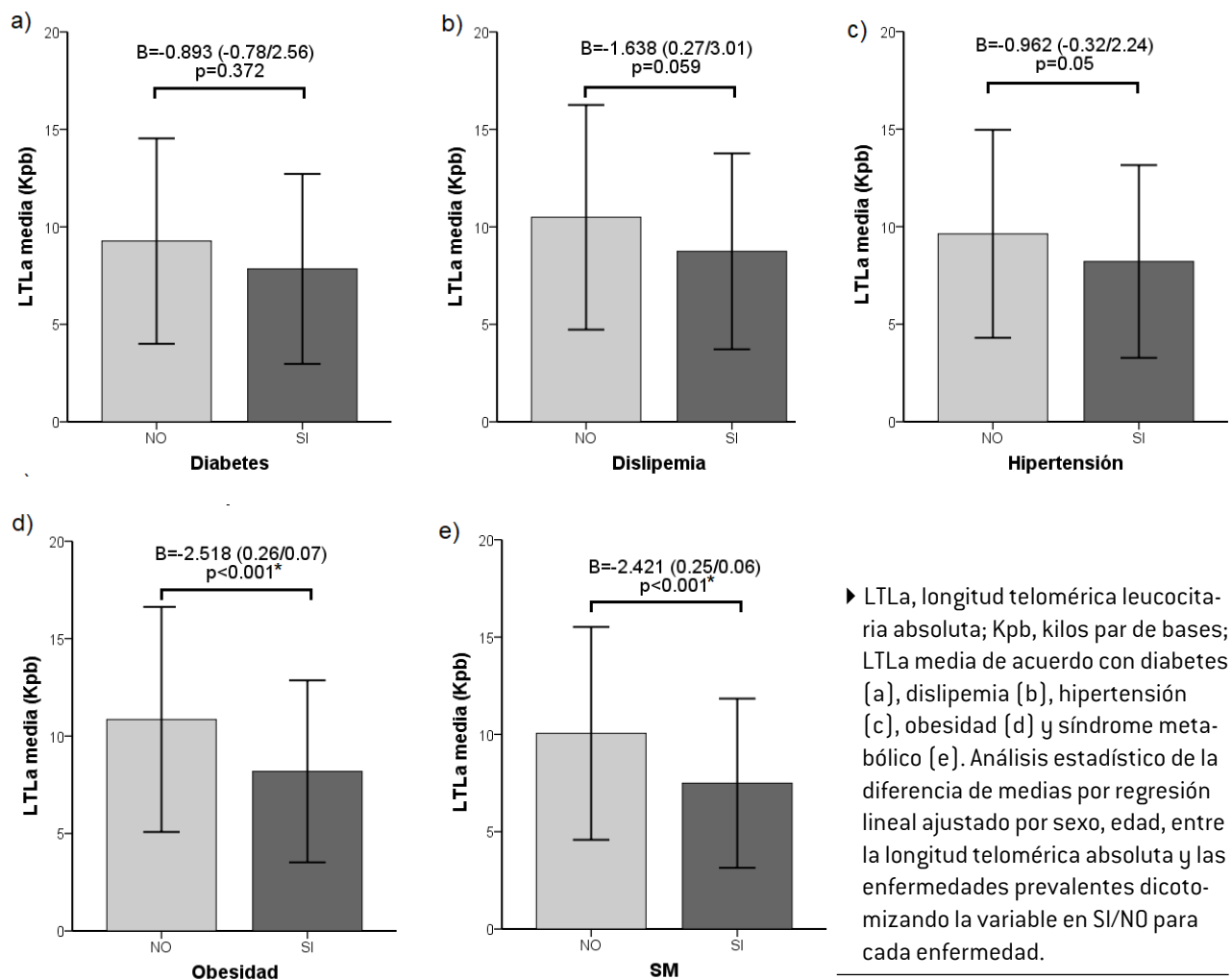
Se encontró una asociación negativa entre la LTLa y la edad [Figura 1a], que se mantuvo incluso después de ajustar por sexo y factores de estilo de vida [como consumo de alcohol, actividad física y estado de fumador] tanto de manera individual como combinada. Sin embargo, al incluir enfermedades prevalentes como factor de ajuste, se perdió la asociación entre LTLa y edad ( $p=0.376$ ). Al evaluar los factores de estilo de vida, se encontró una asociación entre la menor LTLa y la mayor cantidad de años de fumador [Figura 1b], lo que indica una tasa de acortamiento telomérico de 0,087 Kbp (87 pb) por año. La LTLa no resultó significativamente diferente en relación con el consumo de alcohol ( $p=0,88$ ;  $\beta=0,342$ ; IC95% $\beta=-1,01/1,69$ ), el estado fumador ( $p=0,61$ ;  $\beta=-0,211$ ; IC95% $\beta=-1,45/1,02$ ) y el sedentarismo, ( $p=0,68$ ;  $\beta=0,048$ ; IC95% $\beta=-1,13/1,22$ ); [datos no mostrados]. En relación con la presencia de enfermedades, la obesidad y el SM en los individuos, se asociaron significativa-

mente con una menor LTLa, mientras que no se encontraron diferencias en la LTLa con la prevalencia de dislipidemia, HA y DT2 [Figura 2].

Por regresión lineal múltiple, utilizando el método de selección de variables por pasos sucesivos, se evaluó cuáles de las enfermedades prevalentes y/o factores de estilo de vida posibilitan predecir la variabilidad de la LTLa. Este análisis permitió determinar que la presencia de obesidad ( $\beta=-2,12$ ;  $p=0,001$ ) y la de SM ( $\beta=-1,78$ ;  $p=0,007$ ) contribuyeron negativamente, y juntos permitieron predecir el 9,1% de la variabilidad en la LTLa de los individuos ( $R^2=0,091$ ;  $R=0,301$ ;  $p<0,001$ ).

La LTLa se correlacionó de manera negativa y significativa con la CC ( $r=-0,201$ ;  $p<0,001$ ), los niveles de TG ( $r=-0,199$ ,  $p=0,001$ ), y los valores de PAS ( $r=-0,153$ ;  $p=0,004$ ) y PAD ( $r=-0,165$ ;  $p=0,002$ ); mientras que no se encontraron correlaciones significativas entre la LTLa y los niveles de GPA ( $r=0,082$ ;  $p=0,129$ ) y c-HDL ( $r=0,108$ ;  $p=0,053$ ). Además, se observó una asociación estadísticamente significativa entre la menor LTLa y el aumento del número de componentes del SM en los individuos [Figura 3]. Las correlaciones de la LTLa con las variables bioquímicas, clínicas y antropométricas, así como la asociación con el número de componentes, pierden significancia cuando se utiliza como covariable la presencia de enfermedades, lo que indican un efecto importante de las enfermedades prevalentes en la LTLa.

La comparación de la LTLa en individuos estratificados de acuerdo con la presencia de obesidad y SM mostró que los individuos OSM presentaron una LTLa significativamente

**Figura 2.** Longitud telomérica leucocitaria absoluta media.

te menor que los individuos NP [ $9,32 \pm 4,50$  Kpb vs.  $11,17 \pm 5,35$  Kpb,  $p=0,034$ ], pero esta fue significativamente mayor en comparación con los individuos OSM [ $9,32 \pm 4,50$  Kpb vs.  $7,50 \pm 3,09$  Kpb,  $p=0,004$ ]. Estos resultados se mantuvieron con el ajuste de factores no modificables (sexo y edad) y factores de estilo de vida (Figura 4).

Finalmente, los individuos en el tercil más bajo de LTLa (media =  $4,14 \pm 1,42$  Kbp) mostraron un mayor riesgo de circunferencia de cintura aumentada, triglicéridos elevados, dislipidemia, obesidad y SM); como se puede observar en la Tabla II.

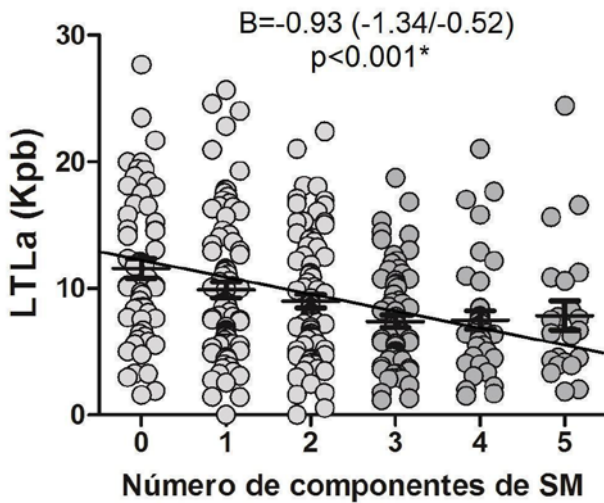
## Discusión

En América Latina, el síndrome metabólico (SM) representa un grave problema de salud pública, con un incremento alarmante en su prevalencia<sup>21-23</sup>. Este estudio forma parte de un análisis epidemiológico realizado durante 20 años en Venado Tuerto, Santa Fe, que reveló un aumento significativo en el IMC, la glucemia, el colesterol y la presión arterial, junto con un incremento del 50% en la prevalencia de diabetes tipo 2 (DT2) y del 40% en obesidad<sup>24</sup>. Los

resultados de la caracterización indican que el grupo con obesidad metabólicamente sana (OMS) presenta un perfil metabólico intermedio entre los grupos normopeso (NP) y con obesidad metabólicamente alterada (OSM). Esto sugiere que las personas con OMS podrían tener un menor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares y DT2, ya que su perfil metabólico podría estar asociado con un menor nivel de inflamación crónica y estrés oxidativo. Estos dos factores, que son componentes clave en la fisiopatología del SM, tienen un impacto directo, en el nivel celular, en el acortamiento de los telómeros, un proceso que es mucho más pronunciado en los individuos con SM y obesidad.

El desgaste telomérico, además, se ve influenciado por factores de estilo de vida, así como por el estrés oxidativo y la inflamación crónica, ambos vinculados tanto al envejecimiento como al SM<sup>25-27</sup>.

Este estudio evaluó la longitud telomérica media en leucocitos (LTLa) en relación con factores de estilo de vida y componentes del SM. No se halló asociación entre la LTL y el consumo de alcohol o el sedentarismo. Aunque estudios previos muestran telómeros más cortos en fumadores en

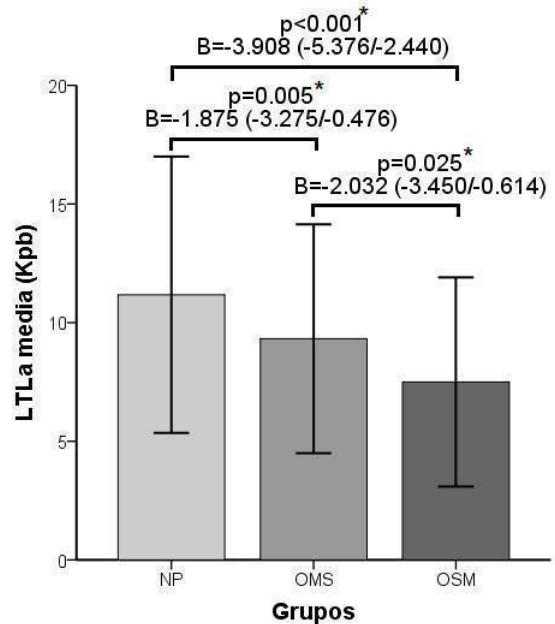
**Figura 3.** Longitud telomérica leucocitaria absoluta en función del número de componentes del SM.

► Los círculos representan el valor de LTLa de cada individuo, agrupados de acuerdo con el número de componentes del SM. Análisis estadístico: regresión lineal utilizando variables de estilo de vida, sexo y edad como covariables. LTLa, longitud telomérica leucocitaria absoluta; Kpb: kilos pares de bases.

comparación con quienes nunca fumaron<sup>28</sup>, este estudio no encontró diferencias en la LT según el estado tabáquico del individuo. Sin embargo, sí se observó un acortamiento telomérico de 87 pb/año en función de los años como fumador, el doble del valor reportado por edad en la población general. Este resultado sugiere que la LT no se ve afectada de manera inmediata por el hábito de fumar, sino que depende de la duración del tabaquismo o de la carga tabáquica total [cantidad de años fumando x cigarrillos por día].

El SM ejerce un impacto prooxidante más significativo que el envejecimiento, ya que este desequilibrio se observa en cada uno de sus componentes<sup>29</sup>. En este trabajo, se demostró que la LTLa disminuye significativamente con la presencia de SM, con cada una de las anomalías del síndrome y con un mayor número de componentes presentes en el individuo, lo que representa un perfil metabólico más grave. En la comparación de los fenotipos NP, OMS y OSM, los individuos OMS mostraron una LTLa intermedia, mientras que los OSM, con peor perfil metabólico, presentaron la LTLa más corta. Estudios previos, como el de Lejawa y colaboradores (2021), también sugieren que los fenotipos OMS tienen características intermedias, aunque no encontraron diferencias significativas en la LT debido a limitaciones en el tamaño muestral y la metodología empleada<sup>30</sup>.

Finalmente, los individuos en el tercil más bajo de LTLa mostraron un mayor riesgo de presentar circunferencia de cintura aumentada, triglicéridos altos, dislipemia, obesidad y SM. Estos hallazgos destacan el potencial del acortamiento telomérico como un biomarcador de riesgo metabólico y sugieren que su prevención podría tener importantes implicaciones clínicas en la reducción del riesgo de enfermeda-

**Figura 4.** Longitud telomérica leucocitaria absoluta media y desvío de los grupos de individuos NP, OMS y OSM.

► LTLa media y desvío del grupo de individuos NP, OMS y OSM; LTLa, longitud telomérica leucocitaria absoluta, Kpb, kilos pares de bases. Análisis estadístico: comparación de medias por regresión lineal, ajustada por factores no modificables (sexo y edad) y por factores de estilo de vida (estado fumador, sedentarismo y consumo de alcohol).

des relacionadas con la edad. Modificar comportamientos como el tabaquismo y mejorar los rasgos metabólicos podría ralentizar el envejecimiento biológico, al establecer la reducción del desgaste telomérico como un objetivo terapéutico para prevenir desregulaciones metabólicas y mejorar la salud.

### Referencias bibliográficas

1. Grundy SM. Metabolic syndrome: connecting and reconciling cardiovascular and diabetes worlds. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(6):1093-1100. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.1>
2. Sundström J, Vallhagen E, Risérus U, Byberg L, Zethelius B, Berne C, et al. Risk associated with the metabolic syndrome versus the sum of its individual components. *Diabetes Care.* 2006;29(7):1673-1674. <https://doi.org/10.2337/dc06-0664>
3. Inchiostro S, Fadini GP, de Kreutzenberg SV, Citroni N, Avogaro A. Is the metabolic syndrome a cardiovascular risk factor beyond its specific components? *J Am Coll Cardiol.* 2007;49(25):2465-2466. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.04.019>
4. Elder SJ, Lichtenstein AH, Pittas AG, Roberts SB, Fuss PJ, Greenberg AS, et al. Genetic and environmental influences on factors associated with cardiovascular disease and the metabolic syndrome. *J Lipid Res.* 2009;50(9):1917-1926. <https://doi.org/10.1194/jlr.P900033-JLR200>
5. Dobson R, Burgess MI, Sprung VS, Irwin A, Hamer M, Jones J, et al. Metabolically healthy and unhealthy obesity: differential effects on myocardial function according to metabolic syndrome, rather than obesity. *Int J Obes (Lond).* 2016;40(1):153-161. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.151>
6. Karelis AD, St-Pierre DH, Conus F, Rabasa-Lhoret R, Poehlman ET. Me-

- tabolic and body composition factors in subgroups of obesity: what do we know? *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2569-2575. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0165>
7. Iacobellis G, Ribaldo MC, Zappaterreno A, Iannucci CV, Leonetti F. Prevalence of uncomplicated obesity in an Italian obese population. *Obes Res.* 2005;13(7):1116-1122. <https://doi.org/10.1038/oby.2005.130>
  8. Gavia-García G, Rosado-Pérez J, Arista-Ugalde TL, Aguiñiga-Sánchez I, Santiago-Osorio E, Mendoza-Núñez VM. Telomere length and oxidative stress and its relation with metabolic syndrome components in the aging. *Biology (Basel).* 2021;10(4):253. <https://doi.org/10.3390/biology10040253>
  9. Houben JM, Moonen HJ, van Schooten FJ, Hageman GJ. Telomere length assessment: biomarker of chronic oxidative stress? *Free Radic Biol Med.* 2008;44(3):235-246. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.10.001>
  10. Révész D, Milaneschi Y, Verhoeven JE, Penninx BW. Telomere length as a marker of cellular aging is associated with prevalence and progression of metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(12):4607-4615. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-1851>
  11. Kawanishi S, Oikawa S. Mechanism of telomere shortening by oxidative stress. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1019:278-284. <https://doi.org/10.1196/annals.1297.047>
  12. Topiwala A, Taschler B, Ebmeier KP, Smith S, Zhou H, Levey DF, Codd V, Samani NJ, Gelernter J, et al. Alcohol consumption and telomere length: Mendelian randomization clarifies alcohol's effects. *Mol Psychiatry.* 2022;27(10):4001-8. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01690-9>
  13. Barragán R, Ortega-Azorín C, Sorlí JV, Asensio EM, Coltell O, St-Onge MP, Portolés O, Corella D. Effect of physical activity, smoking, and sleep on telomere length: a systematic review of observational and intervention studies. *J Clin Med.* 2021;11(1):76. <https://doi.org/10.3390/jcm11010076>
  14. Yubero-Serrano E, Delgado-Lista J, Peña-Orihuela P, et al. Oxidative stress is associated with the number of components of metabolic syndrome: LIPGENE study. *Exp Mol Med.* 2013;45:e28. <https://doi.org/10.1038/emm.2013.53>
  15. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation.* 2002;106(25):3143-3421.
  16. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; International Association for the Study of Obesity. *Circulation.* 2009;120(16):1640-1645. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644>
  17. WHO Consultation on Obesity (1999: Geneva, Switzerland) & World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation. World Health Organization. 2000. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42330>
  18. Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults--The Evidence Report. National Institutes of Health. *Obesity Res.* 1998;6 Suppl 2:51S-209S.
  19. Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc.* 2003;35(8):1381-1395. <https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000078924.61453.FB>
  20. O'Callaghan NJ, Fenech M. A quantitative PCR method for measuring absolute telomere length. *Biol Proced Online.* 2011;13:3. <https://doi.org/10.1186/1480-9222-13-3>
  21. Lopez-Jaramillo P, Lahera V, Lopez-Lopez J. Epidemic of cardiometabolic diseases: a Latin American point of view. *Ther Adv Cardiovasc Dis.* 2011;5(2):119-131. <https://doi.org/10.1177/1753944711403189>
  22. Márquez-Sandoval F, Macedo-Ojeda G, Viramontes-Hörner D, Fernández Ballart JD, Salas Salvadó J, Vizmanos B. The prevalence of metabolic syndrome in Latin America: a systematic review. *Public Health Nutr.* 2011;14(10):1702-1713. <https://doi.org/10.1017/S1368980010003320>
  23. Cuevas A, Alvarez V, Carrasco F. Epidemic of metabolic syndrome in Latin America. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2011;18(2):134-138. <https://doi.org/10.1097/MED.0b013e3283449167>
  24. Corna R, Fox A, Ranalli C, Ranalli M, Sandrigo S, Belbuzi C, et al. Prevalence of diabetes, obesity and other cardiovascular risk factors. *Venado Tuerto Study 3 (VT3).* *Rev ALAD.* 2021;11:101-109. <https://doi.org/10.24875/ALAD.21000020>
  25. Montpetit AJ, Alhareeri AA, Montpetit M, Starkweather AR, Elmore LW, Filler K, et al. Telomere length: a review of methods for measurement. *Nurs Res.* 2014;63(4):289-299. <https://doi.org/10.1097/NNR.0000000000000037>
  26. Aviv A, Valdes AM, Spector TD. Human telomere biology: pitfalls of moving from the laboratory to epidemiology. *Int J Epidemiol.* 2006;35(6):1424-1429. <https://doi.org/10.1093/ije/dyl169>
  27. Richter T, Proctor C. The role of intracellular peroxide levels on the development and maintenance of telomere-dependent senescence. *Exp Gerontol.* 2007;42(11):1043-1052. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2007.08.004>
  28. Astuti Y, Wardhana A, Watkins J, Wulaningsih W, PILAR Research Network. Cigarette smoking and telomere length: A systematic review of 84 studies and meta-analysis. *Environ Res.* 2017;158:480-489. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.06.038>
  29. Yubero-Serrano EM, Delgado-Lista J, Peña-Orihuela P, Perez-Martinez P, Fuentes F, Marin C, et al. Oxidative stress is associated with the number of components of metabolic syndrome: LIPGENE study. *Exp Mol Med.* 2013;45(6):e28. <https://doi.org/10.1038/emm.2013.53>
  30. Lejawa M, Osadnik K, Osadnik T, Pawlas N. Association of Metabolically Healthy and Unhealthy Obesity Phenotypes with Oxidative Stress Parameters and Telomere Length in Healthy Young Adult Men. *Analysis of the MAGNETIC Study.* *Antioxidants (Basel).* 2021;10(1):93. <https://doi.org/10.3390/antiox10010093>






Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional. Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Tumor corticosuprarrenal en paciente pediátrico: desarrollo de un caso clínico

## Adrenal cortical tumor in a pediatric patient

Montenegro-Martínez, Jorge<sup>1</sup>; Rubio-Sánchez, Ricardo<sup>1\*</sup>; Lepe-Balsalobre, Esperanza<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla, España.

<sup>2</sup>Laboratorio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario de la Merced. Osuna, Sevilla, España.

\*Contacto: Rubio-Sánchez, Ricardo. Laboratorio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario Virgen del Rocío. Av. Manuel Siurot, s/n, 41013, Sevilla, España; [ricrubsan@gmail.com](mailto:ricrubsan@gmail.com)

### Resumen

**Introducción:** Los tumores de la corteza suprarrenal son extremadamente infrecuentes en pacientes pediátricos y constituyen menos del 0,2% de todas las neoplasias malignas en la infancia. **Desarrollo del caso:** Una lactante de 11 meses de vida ingresó en la Unidad de Oncología Pediátrica por aspecto cushingoide, hipertensión arterial severa, virilización intensa, peso corporal elevado y candidiasis orofaríngea recurrente. Las pruebas de imagen realizadas y el estudio hormonal confirmaron el diagnóstico de tumor suprarrenal de tipo funcionante, con síndrome de Cushing e hiperaldosteronismo secundarios. Tras el abordaje quirúrgico urgente, los niveles hormonales se normalizaron, y mejoraron todos los síntomas y signos que presentaba la paciente. **Conclusiones.** Los tumores corticosuprarrenales son muy infrecuentes y altamente agresivos en niños, por lo que un diagnóstico precoz y un tratamiento urgente son fundamentales para evitar su progresión y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

**Palabras clave:** corteza suprarrenal; infancia; neoplasia; pediatría; tumor.

### Abstract

**Introduction.** Adrenal cortex tumors in pediatric patients are rare and constitute less than 0.2% of all malignancies in childhood. **Case development.** We here present a case of an 11-month-old girl who was admitted to the Pediatric Oncology Department due to a Cushingoid appearance, severe arterial hypertension, intense virilization, high body weight, and recurrent oropharyngeal candidiasis. The imaging tests and hormonal study performed confirmed the diagnosis of a functioning adrenal tumor, with secondary Cushing's syndrome and hyperaldosteronism. After an urgent surgical approach, hormonal levels normalized, improving all the symptoms and signs presented by the patient. **Conclusions.** Adrenocortical tumors in children are very rare but highly aggressive, so early diagnosis and urgent treatment are essential to prevent their progression and improve the quality of life of patients.

**Keywords:** adrenal cortex; childhood; neoplasia; pediatrics; tumor.

## Introducción

Los tumores de la corteza suprarrenal (TCS) son extremadamente infrecuentes en la infancia y suelen presentarse durante los primeros cinco años de vida. Representan menos del 0,2% de todas las neoplasias malignas pediátricas, con una incidencia anual estimada de 0,30-0,38 casos por millón de niños menores de 15 años<sup>1,2</sup>. Aunque la virilización por hipersecreción androgénica es la manifestación clínica principal, también puede presentarse un síndrome de Cushing aislado (5,5%) o combinado con la virilización (29%)<sup>3</sup>.

Los signos típicos de virilización incluyen crecimiento de vello púbico, aumento del tamaño de los genitales, acné y aceleración de la velocidad de crecimiento<sup>3,4</sup>. Por su parte, las manifestaciones del hipercortisolismo suelen ser obesidad, hipertensión arterial y facies de luna llena<sup>3,5</sup>. Ocasionalmente, pueden presentarse infecciones oportunistas, como candidiasis orofaríngea, relacionadas con la inmunosupresión secundaria a niveles elevados de cortisol<sup>3</sup>.

El diagnóstico bioquímico se basa en la detección de concentraciones séricas elevadas de sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEA-S), androstenediona y testosterona, así como de precursores, tales como 17-hidroxiprogesterona y 11-desoxicortisol. Además, es frecuente encontrar elevaciones de cortisol sérico, cortisol en orina de 24 horas y ausencia de supresión en el test de dexametasona<sup>4,5</sup>.

En el nivel molecular, se han identificado alteraciones genéticas asociadas al desarrollo de tumores corticosuprarrenales en la edad pediátrica. La presencia de mutaciones germinales en el gen *TP53*, como ocurre en el síndrome de Li-Fraumeni<sup>3,8</sup>, genera una proteína p53 disfuncional, cuya acumulación nuclear puede detectarse como sobreexpresión en los estudios inmunohistoquímicos y constituye un biomarcador asociado a un peor pronóstico<sup>6,7</sup>. Asimismo, las alteraciones epigenéticas del locus 11p15.5 observadas en el síndrome de Beckwith-Wiedemann<sup>3</sup> representan otra vía molecular de predisposición a la tumorigénesis adrenal.

El análisis anatomopatológico es esencial no solo para confirmar el origen corticosuprarrenal del tumor, sino también para valorar su comportamiento biológico. La aplica-

ción del sistema de puntuación propuesto por Wieneke, que integra criterios macroscópicos y microscópicos, como la invasión capsular o vascular, la presencia de necrosis confluyente y una elevada actividad mitótica, permite estratificar el riesgo de malignidad en la población pediátrica y orientar las decisiones terapéuticas y pronósticas<sup>6</sup>.

A continuación, se describe el caso clínico de una lactante con tumor corticosuprarrenal funcionante que ilustra la importancia del diagnóstico precoz y tratamiento oportuno en esta entidad poco frecuente en la población pediátrica.

## Desarrollo del caso

Se presenta el caso de una lactante de 11 meses de vida que ingresa en la Unidad de Oncología Pediátrica por hipertensión arterial sistólica y diastólica >P95 (190/120 mmHg, respectivamente) y virilización intensa (hipertrofia del clítoris, abundante vello púbico). En la exploración física, se destacan el aspecto cushingoide (hirsutismo, facies de luna llena, eritema facial, acné facial y giba de búfalo) y la candidiasis orofaríngea recurrente. El peso corporal era de 13,8 Kg (P>99), la talla de 67 cm (P=6) y el índice de masa corporal de 30,7 (P>99). En la palpación, se intuye lesión sin bordes definidos a nivel del flanco izquierdo. Este hallazgo, junto a la edad temprana de presentación y los signos clínicos compatibles con síndrome de Cushing, orienta la sospecha hacia un tumor adrenal funcionante, por lo que se solicitan los siguientes estudios complementarios:

- Ecografía abdominal, en la que se observa una lesión bilobulada en la región suprarrenal izquierda.
- Tomografía por emisión de positrones (PET/TC), en la que se detecta una masa adrenal izquierda metabólicamente positiva.
- Ecocardiograma, en el que se detecta hipertrofia del ventrículo izquierdo.
- Estudio hormonal en sangre del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal, con aumento de progesterona, aldosterona, 17-hidroxiprogesterona, cortisol, DHEA-S, androstenediona y testosterona (Tabla 1). La corticotropina (ACTH) se determinó mediante inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA) en el analizador LIAISON® de

**Tabla 1.** Niveles de hormonas suprarrenales en sangre antes y después de la cirugía.

Hormonas	Precirugía	Poscirugía	Intervalos de referencia <sup>9</sup>
ACTH (pg/mL)	2,8	-	10-60
Progesterona (ng/mL)	5,74	0,17	<1,5
Aldosterona (ng/dL)	118	6,7	1,7-15
17-hidroxiprogesterona (ng/mL)	8,54	0,14	<6,3
Cortisol (µg/dL)	24,4	1,8	5-20
DHEA-S (µg/dL)	821	1	35-430
Androstenediona (ng/mL)	12,30	< 0,02	5-50
Testosterona (ng/dL)	273,4	0,09	8-60

DiaSorin, siendo el límite de cuantificación de 1,6 pg/mL. Las hormonas aldosterona, 17-hidroxiprogesterona y androstenediona se determinaron mediante inmunoensayo competitivo de quimioluminiscencia en el analizador MAGLUMI® de Sibe Diagnostic, mientras que progesterona, cortisol, DHEA-S y testosterona se determinaron mediante inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) en el analizador Alinity i de Abbott.

- Estudio de catecolaminas en orina de 24 horas: 5-hidroxiindolacético: 7 mg/g creatinina [0-6,5]; ácido vanilmandélico: 183 mg/g creatinina [0-8,9]; ácido homovalínico: 24 mg/g creatinina [0-32,6]. Las catecolaminas se determinaron a través de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detector electroquímico mediante el kit ClinRep® de Recipe.

Con los hallazgos anteriores, se confirma el diagnóstico de tumor suprarrenal de tipo funcionante, con síndrome de Cushing e hiperaldosteronismo secundarios, y se decide un abordaje quirúrgico urgente. Mediante laparotomía transversa supraumbilical, se realiza la resección de un tumor bilobulado en la glándula suprarrenal izquierda. El informe anatomopatológico describe una neoplasia adrenocortical de 7,5 x 5 x 5 cm y 110 g, de categoría intermedia para malignidad, al cumplir tres criterios de Wieneke [presencia de necrosis, mitosis atípicas y más de 15 mitosis en 20 campos de alta fluorescencia]. La histoquímica del tumor muestra positividad para sinaptofisina e inhibinas y negatividad para citoqueratinas, lo que orienta hacia la patogenicidad del tumor.

Se solicita nueva analítica hormonal posoperatoria, que muestra disminución de los niveles hormonales, hecho sugestivo de exéresis del tumor (Tabla 1). La paciente presentaba entonces insuficiencia suprarrenal secundaria, que precisó tratamiento sustitutivo con hidrocortisona hasta la normalización de los niveles hormonales. Además, se produjo un mejor control de la tensión arterial, un descenso progresivo del peso y una importante mejoría del aspecto cushingoide, a pesar de que persistía la cara de luna llena.

El TCS fue catalogado como estadio II, ya que era completamente extirpable, de más de 100 g y con niveles hormonales normalizados en el posoperatorio. La paciente, tras el tratamiento quirúrgico, permaneció asintomática, con buen estado general y sin recurrencia de la enfermedad. Tras la realización de análisis de secuenciación masiva (NGS: *Next Generation Sequencing*) y análisis molecular directo por MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*), se descartó que el TCS estuviera relacionado con el síndrome de Li-Fraumeni y el síndrome de Beckwith-Wiedemann.

## Discusión

La edad de la paciente, de apenas 11 meses, resulta inusualmente temprana en comparación con las series publicadas, en las que la mayoría de los TCS pediátricos se diagnostican antes de los 5 años, pero raramente durante el primer año de vida<sup>3,8</sup>. Aunque la virilización es el hallazgo clí-

nico más frecuente en estos tumores, la presencia simultánea de signos de virilización y síndrome de Cushing severo, como se observó en la paciente, se reporta en alrededor del 29% de los casos<sup>3,5</sup>. La hipertensión arterial ha sido descrita en asociación con tumores secretores de cortisol, pero su magnitud extrema (>P99) constituye una manifestación menos habitual<sup>3</sup>. El aumento en la concentración de ácido vanilmandélico en orina, un metabolito de la adrenalina y la noradrenalina, es típico de tumores, como el feocromocitoma, lo que sugiere que, aunque en este caso la neoplasia era adrenocortical, podría haber estado afectando también la médula suprarrenal. Finalmente, la rápida normalización de los niveles hormonales tras la resección quirúrgica urgente, con mejoría clínica evidente, es consistente con lo descrito en la literatura como factor pronóstico favorable cuando se logra una extirpación completa del tumor<sup>4,5</sup>.

## Conclusiones

Los tumores corticosuprarrenales en niños son muy infrecuentes y altamente agresivos. Aunque la estimación de la tasa de supervivencia es del 30-74%, una detección y diagnóstico anterior a los 4 años, un peso del tumor inferior a 200 g, la resección total del mismo y la ausencia de metástasis son factores pronósticos favorables que elevan la supervivencia por encima del 80%<sup>3,4</sup>. Para ello, como en el caso expuesto, una detección temprana y un abordaje urgente por parte de un equipo multidisciplinar son fundamentales.

Este caso clínico resulta relevante por su edad extremadamente temprana de presentación, la coexistencia de síndrome de Cushing severo y virilización intensa, y la presencia de hipertensión arterial severa, características poco frecuentes que refuerzan la importancia del reconocimiento precoz de signos de hiperfunción adrenocortical en lactantes.

En este sentido, aunque las evidencias clínicas, las pruebas de imagen y el estudio anatomopatológico son suficientes para establecer el diagnóstico y la actitud terapéutica, la determinación del perfil de secreción hormonal orienta sobre el grado de diferenciación tumoral y aporta mucha información en el seguimiento posquirúrgico y la definición de remisión/recidiva.

## Referencias bibliográficas

1. Riedmeier M, Decarolis B, Haubitz I, Müller S, Uttinger K, Börner K, et al. Adrenocortical carcinoma in childhood: a systematic review. *Cancers* [Basel] 2021;13(21):5266, <https://doi.org/10.3390/cancers13215266>
2. Das S, Sengupta M, Islam N, Roy P, Datta C, Mishra PK, et al. Weineke criteria, Ki-67 index and p53 status to study pediatric adrenocortical tumors: Is there a correlation? *J Pediatr Surg* 2016; 51: 1795-800, <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2016.07.014>
3. Fuqua JS. Adrenal tumors in childhood. *Adv Pediatr* 2021;68:227-44, <https://doi.org/10.1016/j.yapd.2021.05.015>
4. Pinto EM, Zambetti GP, Rodríguez-Galindo C. Pediatric adrenocortical tumours. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2020; 34:101448, <https://doi.org/10.1016/j.beem.2020.101448>
5. Wieneke JA, Thompson LD, Heffess CS. Adrenal cortical neoplasms in the pediatric population: a clinicopathologic and immunophenotypic analysis of 83 patients. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 867-81, <https://doi.org/10.1016/j.amjpath.2003.05.015>

[doi.org/10.1097/00000478-200307000-00001](https://doi.org/10.1097/00000478-200307000-00001)

6. Zambaiti E, Duci M, De Corti F, Gamba P, Dall'Igna P, Ghidini F, et al. Clinical prognostic factors in pediatric adrenocortical tumors: a meta-analysis. *Pediatr Blood Cancer* 2021; 68: e28836, <https://doi.org/10.1002/pbc.28836>
7. Sandru F, Petca RC, Carsote M, Petca A, Dumitrascu MC, Ghemigian A. Adrenocortical carcinoma: Pediatric aspects [Review]. *Exp Ther Med* 2022; 23: 287, <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11216>
8. Brondani VB, Fragoso MC. Pediatric adrenocortical tumor - review and management update. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2020; 27: 177-86, <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000540>
9. Alfayate R, Fajardo C, González-Clemente JM. Diagnóstico de laboratorio en endocrinología. Madrid: Nature Publishing Group; 2015. ISBN: 978-84-940238-5-9.



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución -No Comercia- Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir [copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato] y adaptar [remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra] siempre que: se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## REVISIÓN

# Biología y biotecnología farmacéutica: una perspectiva integral en el diagnóstico y tratamiento de la artritis reumatoide

*Biotechnology and pharmaceutical biotechnology:*

*a comprehensive perspective in the diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis.*

Ametller, Leiza<sup>1\*</sup>; Carromba, Martina<sup>1</sup>; Genovesio, Paula<sup>1</sup>; Louge, Delfina<sup>1</sup>; Sobré, Olivia<sup>1</sup>; Sterin Prynck, Aída Edith<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad del Hospital Italiano de Buenos Aires (UHIBA), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Sterin Prynck, Aída Edith\*. Potosí 4234, C1199ACL. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; [aida.sterin@hospitalitaliano.org.ar](mailto:aida.sterin@hospitalitaliano.org.ar)

## Resumen

**Introducción:** La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune crónica que afecta las articulaciones debido al ataque erróneo del sistema inmunológico. Factores genéticos, hormonales, inmunológicos y ambientales influyen en su desarrollo, por lo cual es crucial su comprensión para mejorar los tratamientos. **Materiales y métodos:** Se revisó literatura en PubMed, Scielo y Google Scholar entre 2010 y 2023 usando palabras clave como “*rheumatoid arthritis*”, “*early diagnosis*” y otras, considerando publicaciones en inglés y español. **Resultados:** El diagnóstico incluye autoanticuerpos, marcadores inflamatorios e imágenes radiográficas, ecográficas y de resonancia magnética. Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y glucocorticoides controlan los síntomas, mientras que los fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FAME) han transformado la terapia. La inteligencia artificial (IA), mediante análisis de datos ómicos y clínicos, optimiza el manejo de la AR. **Discusión:** Las nuevas terapias y biomarcadores han mejorado el manejo clínico de la AR. El objetivo es desarrollar tratamientos curativos y preventivos que transformen la AR en una enfermedad manejable.

**Palabras clave:** arthritis, rheumatoid, physiopathology, prevalence, early diagnosis, early medical intervention, antirheumatic agents, drug monitoring, artificial intelligence.

## Abstract

**Introduction:** Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic autoimmune disease that affects the joints due to an erroneous attack by the immune system. RA development is influenced by genetic, hormonal, immunological and environmental factors, whose understanding is crucial to improve treatments. **Materials and Methods:** Reports published in PubMed, Scielo and Google Scholar between 2010-2023 were reviewed, using keywords such as “*rheumatoid arthritis*” and “*early diagnosis*”, and others, considering publications in English and Spanish. **Results:** RA is diagnosed through autoantibodies, inflammatory markers and radiographic, ultrasound and magnetic resonance images. Symptoms are controlled by nonsteroidal anti-inflammatory drugs and glucocorticoids, while therapy has been transformed by disease-modifying antirheumatic drugs. RA management can be optimized using artificial intelligence, through analysis of omic and clinical data. **Discussion:** The clinical management of RA has been improved by new therapies and biomarkers. The goal is to develop curative and preventative treatments that transform RA into a manageable disease.

**Key words:** arthritis, rheumatoid, physiopathology, prevalence, early diagnosis, early medical intervention, antirheumatic agents, drug monitoring, artificial intelligence.

## Introducción

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune crónica que provoca discapacidad progresiva, complicaciones sistémicas, muerte prematura y costos socioeconómicos. Aunque la causa y el pronóstico son desconocidos, los avances en la comprensión de su origen han llevado al desarrollo de nuevas terapias con mejores resultados. La estrategia de tratamiento actual consiste en iniciar una terapia agresiva poco después del diagnóstico y ajustarla según la evaluación de la actividad de la enfermedad, con el objetivo de lograr la remisión clínica<sup>1</sup>.

La prevalencia mundial de la AR oscila entre el 0,5 y 1,0% entre la población adulta, y su incidencia anual estimada es de 19 casos por cada 100.000 habitantes en Argentina. La AR puede presentarse en cualquier época de la vida, con picos de incidencia entre los 30 y 60 años, particularmente en el sexo femenino<sup>2</sup>.

Al igual que muchas enfermedades autoinmunes, la causa de la AR involucra diversos factores genéticos y ambientales. Variantes de los genes HLA-DRB1 y HLA-DR4 se asocian a un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad. No obstante, se ha identificado un fenómeno conocido como el “epítipo compartido”, donde ciertos alelos de estos genes están asociados también con otras enfermedades autoinmunes. Asimismo, la interacción compleja con factores ambientales, el hábito tabáquico o las infecciones virales/bacterianas contribuyen al desarrollo de la AR, especialmente en individuos genéticamente predispuestos<sup>3</sup>.

Es importante destacar que la investigación en este campo está en constante evolución, y que se realizan esfuerzos continuos para comprender mejor los mecanismos subya-

centes de la enfermedad<sup>3</sup>.

El objetivo de este estudio fue realizar una revisión narrativa de los avances en el enfoque y manejo integral de la artritis reumatoidea que incluyeron aportes biotecnológicos.

## Materiales y métodos

Se efectuó una revisión de la literatura buscando artículos científicos sobre diagnóstico, tratamiento, productos biofarmacéuticos, bioterapias y/o biomarcadores aprobados o en instancias clínicas, destinados a AR. La búsqueda se realizó utilizando como palabras clave: I) *arthritis rheumatoid*, II) *physiopathology*, III) *prevalence*, IV) *early diagnosis*, V) *early medical intervention*, VI) *antirheumatic agents*, VII) *drug monitoring*, VIII) *artificial intelligence*. La búsqueda se llevó a cabo en las bases de datos de MEDLINE, Scielo (Scientific Electronic Library Online), Lilacs BVS y en Google Scholar.

Los criterios de inclusión fueron: i) solo artículos en idioma inglés o español, ii) publicados entre 1 de enero de 2010 y 30 de junio de 2023, iii) que se tratara de una revisión sistemática o de un artículo original de interés que cubriera alguno de los aportes mencionados de la biotecnología, tanto investigaciones de ciencias básicas como estudios de intervención o clínicos.

Después de seleccionar los artículos definitivos, se describieron sus hallazgos más importantes de forma cualitativa. Finalmente, se analizaron 50 artículos científicos, de los que se describen hallazgos correspondientes a 16.

## Resultados

### Patogénesis

La AR es una enfermedad autoinmune que se asocia con

**Tabla I.** Variables de clasificación de AR revisadas por ACR/EULAR (2010).

Afectación articular	Score
1 articulación grande	0
2 a 10 articulaciones grandes	1
1 a 3 articulaciones pequeñas	2
4 a 10 articulaciones pequeñas	3
>10 articulaciones, incluida al menos una articulación pequeña	5
Serología	
FR negativo y anti-CCP negativo	0
FR positivo bajo o anti-CCP positivo bajo	2
FR positivo alto o anti-CCP positiva alta	3
PCR normal y VSG normal	0
PCR anormal o VSG anormal	1
Duración	
<6 semanas	0
≥6 semanas	1

► La tabla muestra los criterios de clasificación de la AR según el ACR/EULAR 2010 para establecer el diagnóstico de la enfermedad. Otorga un puntaje total indicativo de la probabilidad de la enfermedad.

la presencia de autoanticuerpos, particularmente el factor reumatoide (FR) y los anticuerpos antipéptidos cíclicos citrulinados (*anti-citrullinated protein antibodies*, ACPA, por sus siglas en inglés) cuyo rol patogénico podría explicarse por la formación de inmunocomplejos que activan el sistema del complemento e inducen la liberación de factores quimiotácticos, como C3a y C5a, que permiten el reclutamiento de células inmunes produciendo una respuesta inflamatoria local en el nivel articular y, posteriormente, sistémica<sup>5</sup>.

Este proceso inflamatorio está mediado por citoquinas proinflamatorias (factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , por sus siglas en inglés; interleuquina-1 (IL-1); interleuquina-6 (IL-6) e interleuquina-12 (IL-12)) que actúan como inductoras de la destrucción de las articulaciones, promotoras de la formación de *pannus* (capa de tejido fibrovascular o granular anormal) y son las culpables de las manifestaciones extrareumáticas que causan daño multiorgánico generalizado en el cuerpo<sup>6</sup>. La autotolerancia y la prevención de la autoinmunidad tienden a verse comprometidas a medida que avanza la enfermedad debido a una disminución de las células T reguladoras. Dado que las células T CD4+ inducen inflamación neutrofílica mediante la producción de interleuquina-17 (IL-17), interleuquina-21 (IL-21) e interleuquina-22 (IL-22), resulta crucial reconocer que tienen una inmensa importancia en el control de la autoinmunidad<sup>7</sup>. El curso de la enfermedad también está caracterizado por un aumento del receptor nuclear huérfano, relacionado con el receptor del ácido retinoico (ROR-c por sus siglas en inglés), y una disminución de la expresión de FOXP3 debido al factor de crecimiento transformante- $\beta$  y al transductor de señal y activador de la transcripción (STAT-3), que dependen de la liberación de citoquinas, como IL-16 e IL-21. En cambio, cuando no hay una afección inflamatoria, las células T reguladoras inhi-

ben ROR-c y FOXP3, lo que, en última instancia, conduce a una disminución en la expresión de IL-17 e IL-21<sup>5</sup>.

**Criterios de clasificación**

El Colegio Americano de Reumatología (American College of Rheumatology, ACR, por sus siglas en inglés) y la Liga Europea Contra el Reumatismo (European Alliance of Associations for Rheumatology, EULAR, por sus siglas en inglés) publicaron en 2010 nuevos criterios de clasificación para la AR que mejoran la evaluación de los procesos de corta evolución permitiendo establecer un tratamiento precoz<sup>8</sup>. Estos nuevos criterios se aplican a una población determinada con las siguientes características: Presentar al menos 1 articulación con sinovitis clínica, es decir, al menos 1 articulación inflamada y, además, que dicha sinovitis no se pueda explicar por otra enfermedad. Tener una puntuación igual o superior a 6, según el sistema de puntuación presentado en la Tabla I, que tiene en cuenta los siguientes parámetros: la afectación articular (distribución y cuantificación); la serología (FR y/o anti-CCP y de los reactantes de fase aguda); la duración: debe ser igual o superior a 6 semanas.

**Diagnóstico**

Si bien la positividad de FR y de anticuerpos anti-CCPP es indicativa de la respuesta autoinmune asociada a la AR, es necesario determinar los niveles de marcadores inflamatorios, como la proteína C reactiva (PCR) y la velocidad de sedimentación globular (VSG), junto con investigaciones radiográficas complementarias y el análisis del líquido sinovial<sup>5</sup> (Tabla I).

Cabe destacar que, si bien los niveles elevados de FR pueden ser indicativos de la respuesta autoinmune asocia-

**Tabla II.** Diferencias entre los distintos tipos de fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (*disease modifying anti-rheumatic drugs*, DMARDs, por sus siglas en inglés).

csDMARD	tsDMARD	bDMARD Producidos por técnicas biotecnológicas
Metotrexato, hidroxicloroquina y sulfadiazina	Inhibidores de pan-JAK y JAK1/2	Inhibidores de TNF- $\alpha$ , inhibidores del receptor TNFR, inhibidores de IL-6, inhibidores del receptor IL-6R, anticuerpos agotadores de células B e inhibidores de moléculas coestimuladoras
Su mecanismo de acción es menos específico. Son los más antiguos y ampliamente utilizados.	Se desarrollaron específicamente para apuntar a un paso clave en la inducción de respuestas inflamatorias mediada por citoquinas.	Son anticuerpos monoclonales y construcciones de receptores genéticamente modificados, diseñados específicamente para atacar mediadores moleculares clave del proceso inflamatorio.
Productos químicos sintéticos	Productos químicos sintéticos	Proteínas recombinantes (biofármacos)

► En la tabla, se muestra un breve resumen con las características principales de los distintos tipos de fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FAME) (*disease modifying anti-rheumatic drugs*, DMARDs, por sus siglas en inglés). Se ilustran drogas pertenecientes al grupo, mecanismo de acción y naturaleza de las drogas.

**Tabla III.** Comparación entre distintos fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FAME) [*disease modifying anti-rheumatic drugs*, DMARDs, por sus siglas en inglés] biológicos inhibidores del TNF.

Anticuerpos monoclonales y agentes bloqueadores biológicos	Mecanismo de acción	Vida media	Vía de administración y frecuencia	Acción sobre el paciente.
Infliximab	Anticuerpo monoclonal quimérico humano, derivado de ratón, que se une con alta afinidad tanto a la forma soluble como a la de transmembrana del TNF- $\alpha$ .	8 a 10 días	Endovenosa cada 4 a 8 semanas	En terapia combinada con MTX, se observan mejores beneficios físicos, radiológicos y funcionales en comparación con los que tomaron MTX solo.
Etanercept	Es un agente bloqueador de TNF- $\alpha$ , obtenido mediante la fusión de IgG1 y el receptor de 75 kD de TNF- $\alpha$ . Produce la inhibición competitiva de la unión del TNF- $\alpha$ al TNFR (receptor de TNF- $\alpha$ ) de la superficie celular impidiendo la respuesta celular mediada por el TNF- $\alpha$ , volviéndolo biológicamente inactivo.	3,5 a 5,5 días	Subcutánea 2 veces por semana	Se pudo reemplazar la terapia con sulfasalazina sola por etanercept o la combinación de ambos por una mayor eficacia del producto biológico.
Adalimumab	Es un anticuerpo monoclonal humano recombinante. Se une específicamente al TNF- $\alpha$ (factor de necrosis tumoral) inhibiendo su efecto proinflamatorio.	2 semanas aprox.	Subcutánea, en semanas alternas	La terapia con adalimumab-MTX mostró mejores resultados en cuanto a eficacia y reducción de la progresión radiológica de la enfermedad en comparación con MTX solo. Su administración cada dos semanas demostró ser más eficaz y bien tolerada a largo plazo.
Golimumab	Es un anticuerpo monoclonal inmunomodulador humano mediante tecnología de DNA recombinante, capaz de unirse al TNF- $\alpha$ libre o unido a membrana.	12 $\pm$ 3 días en sujetos sanos	Subcutánea cada 4 semanas	Se observó la reducción de la enfermedad con dosis de 100 mg de golimumab en comparación con 50 mg y el grupo de placebo, sin presentar efectos adversos malignos. Se traduce en una mejora del 57-60%.

da a la AR, no constituyen un marcador específico de esta enfermedad, ya que pueden estar presentes en diferentes condiciones, por lo que se utilizan en conjunto con los otros marcadores mencionados. Los anticuerpos anti-CCP son más específicos, por eso, su detección ayuda a confirmar el diagnóstico, además de estar asociados a una mala evolución de la enfermedad.

### Tratamiento

Anteriormente, las opciones terapéuticas estaban limitadas, y los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), junto con los glucocorticoides, constituían la columna vertebral del tratamiento. Luego, a finales del siglo XX, aparecieron los fármacos antirreumáticos modificadores de la en-

fermedad (FAME) [*disease modifying anti-rheumatic drugs*, DMARDs, por sus siglas en inglés], que trajeron uno de los cambios más significativos en el panorama terapéutico de la enfermedad<sup>9</sup>.

Los AINE se utilizan en la respuesta de fase aguda, por su acción analgésica, antipirética y antiinflamatoria<sup>10</sup>. Los FAME son agentes farmacológicos que se utilizan para promover la remisión de la AR, ya que suprimen la actividad autoinmune y retrasan y/o previenen la degeneración de las articulaciones. Asimismo, abarcan una gama más amplia en términos de origen y mecanismos de acción, por eso, se clasifican como sintéticos convencionales, biológicos y sintéticos dirigidos (Tabla II)<sup>11</sup>.

Con la aparición de estos agentes farmacológicos, las op-

ciones de tratamiento para AR han cambiado. Actualmente, las recomendaciones de ACR y EULAR se basan en un abordaje de la enfermedad desde dos perspectivas: el tratamiento sintomático y el manejo modificador de la enfermedad<sup>11</sup>.

El tratamiento sintomático utiliza principalmente AINE y glucocorticoides. Ambos grupos generan una buena respuesta, aunque los glucocorticoides tienen mayor potencia y eficacia debido al mecanismo de acción<sup>11</sup>. En cuanto al perfil de seguridad, si bien ambos generan efectos adversos, los AINE suelen presentar una menor incidencia de efectos secundarios en comparación con los glucocorticoides. Debido a que los glucocorticoides generan efectos adversos graves a largo plazo, en caso de elegir esta terapia, se recomienda hacer tratamientos cortos que no sean interrumpidos abruptamente<sup>11</sup>.

La remisión de la enfermedad se realiza con FAME. Puesto que las citoquinas desempeñan un papel crucial en la patogénesis de la AR, lo más importante en el aspecto terapéutico es restringir mediadores inflamatorios<sup>5</sup>. En pacientes con AR recién diagnosticada, se recomienda iniciar el tratamiento lo antes posible con un FAME convencional, preferentemente el metotrexato, que es el más estudiado y económico. En caso de que el tratamiento de primera línea no se tolere bien o sea ineficaz, se recomienda sustituir la terapia con FAME sintéticos dirigidos o biológicos<sup>11</sup>. Estos últimos, suelen ser los más efectivos, pero también más caros y con mayor riesgo de infecciones u otras complicaciones<sup>12</sup>. Por esa razón, se reservan para los casos de AR moderada a grave que no responden a los FAME convencionales<sup>13</sup>.

Dentro de los FAME biológicos, los más destacables son los inhibidores de TNF- $\alpha$ , y el Infliximab, el que mostró ma-

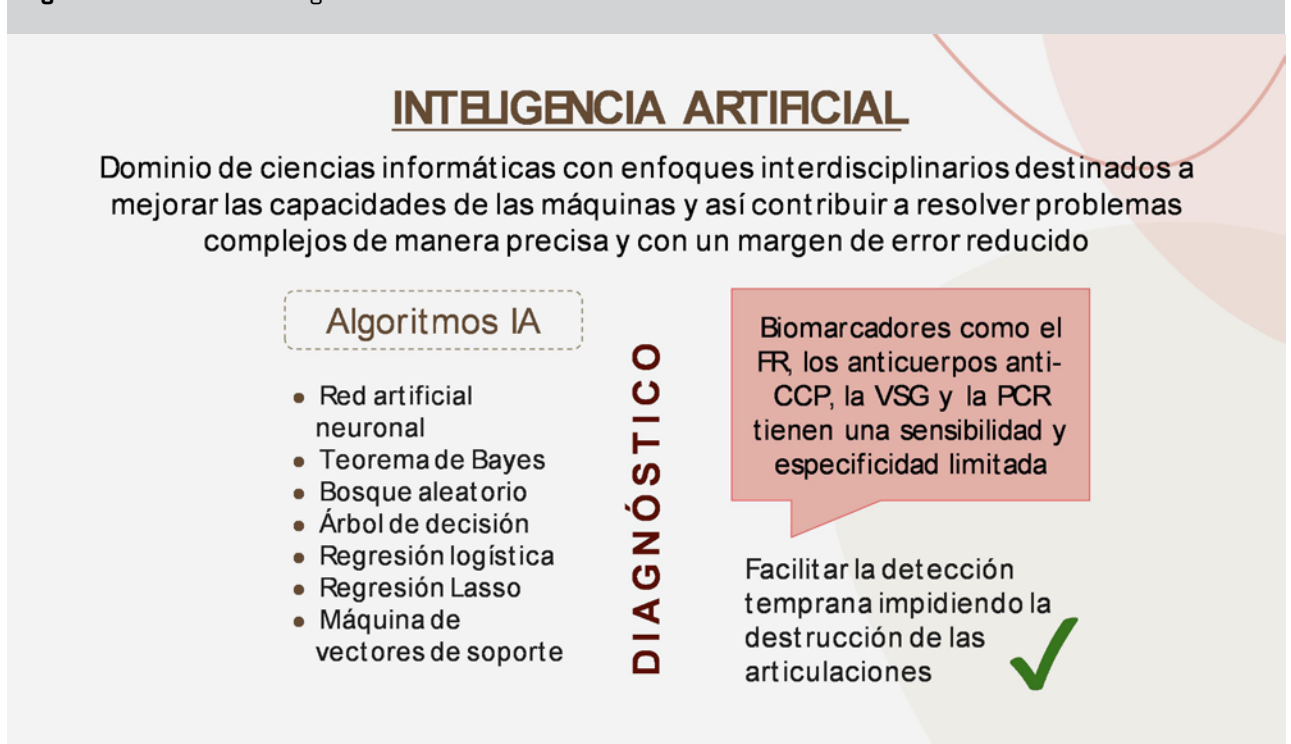
yor afinidad [Tabla III]<sup>5</sup>. Sin embargo, como se mencionó previamente, hay otras interleuquinas involucradas en la fisiopatología que pueden ser un posible blanco terapéutico, por ejemplo, anakinra, antagonista competitivo de IL-1, que desempeña un papel fundamental en el aumento del bloqueo de los receptores de IL-1 y en el modelado de la progresión de la enfermedad<sup>5</sup>.

El tratamiento de AR se encuentra en constante cambio gracias al estudio continuo de la fisiopatología de la enfermedad. En la actualidad, se siguen desarrollando posibles agentes farmacológicos, principalmente, FAME biológicos y FAME sintéticamente dirigidos (*targeted synthetic DMARD*, *tsDMARD*, por sus siglas en inglés) a nuevos objetivos moleculares. La identificación de biomarcadores de respuesta al tratamiento es clave para optimizar la respuesta terapéutica y superar el enfoque de prueba y error.

Una forma innovadora, pero todavía en estudio, de optimizar estas terapias es la monitorización terapéutica de drogas (MTD) (*therapeutic drug monitoring*, TMD, por sus siglas en inglés). Esta herramienta consiste en medir la concentración sanguínea de un biofármaco en un tiempo determinado y evaluar el cumplimiento de un rango terapéutico definido; de esta manera, sirve para relacionar la dosis administrada con el efecto terapéutico esperado<sup>14</sup>.

La relación entre la concentración sanguínea de biofármacos y el resultado del tratamiento se ha descrito en estudios observacionales prospectivos y análisis retrospectivos de ensayos clínicos controlados, aleatorizados. La duración del estudio es generalmente de hasta 1 año, y los resultados del tratamiento varían ampliamente. Se observó que, en el orden poblacional, las concentraciones sanguíneas más

**Figura 1.** Resumen de los algoritmos más utilizados en IA.



altas de biofármacos se correlacionaron con un mejor resultado del tratamiento y/o una menor actividad de la enfermedad. La evidencia es más sólida para los antagonistas o inhibidores del factor de necrosis tumoral (TNF) en AR (con adalimumab/infliximab/etanercept) y en espondiloartritis axial (axSpA) (con adalimumab/etanercept/golimumab)<sup>15</sup>.

Aunque la TDM se ha mostrado prometedora como estrategia potencial para optimizar o personalizar el tratamiento, aún persisten varios desafíos y controversias en el monitoreo de productos biofarmacéuticos debido a la falta de ensayos clínicos aleatorios que aborden su eficacia; además, los rangos terapéuticos de concentración sanguínea y las concentraciones mínimas efectivas que son esenciales para guiar la TDM en la práctica diaria siguen en gran medida sin definir<sup>15</sup>.

### Avances en el uso de la inteligencia artificial

La inteligencia artificial (IA) es un dominio de ciencias informáticas con enfoques interdisciplinarios, destinados a mejorar las capacidades de las máquinas y así contribuir a resolver problemas complejos de manera precisa y con un margen de error reducido. Para ello, combina procesos mediante el reconocimiento de patrones de datos a través de algoritmos, en estructuras de capas como redes neuronales, desarrollando herramientas tanto para la detección temprana de la AR como para monitorear la respuesta al tratamiento<sup>16</sup> (Figura 1).

Dado que los biomarcadores actualmente utilizados tienen una sensibilidad y especificidad limitada, el análisis mediante el uso de estos algoritmos (Figura 1) facilitaría la detección temprana impidiendo la destrucción de las articu-

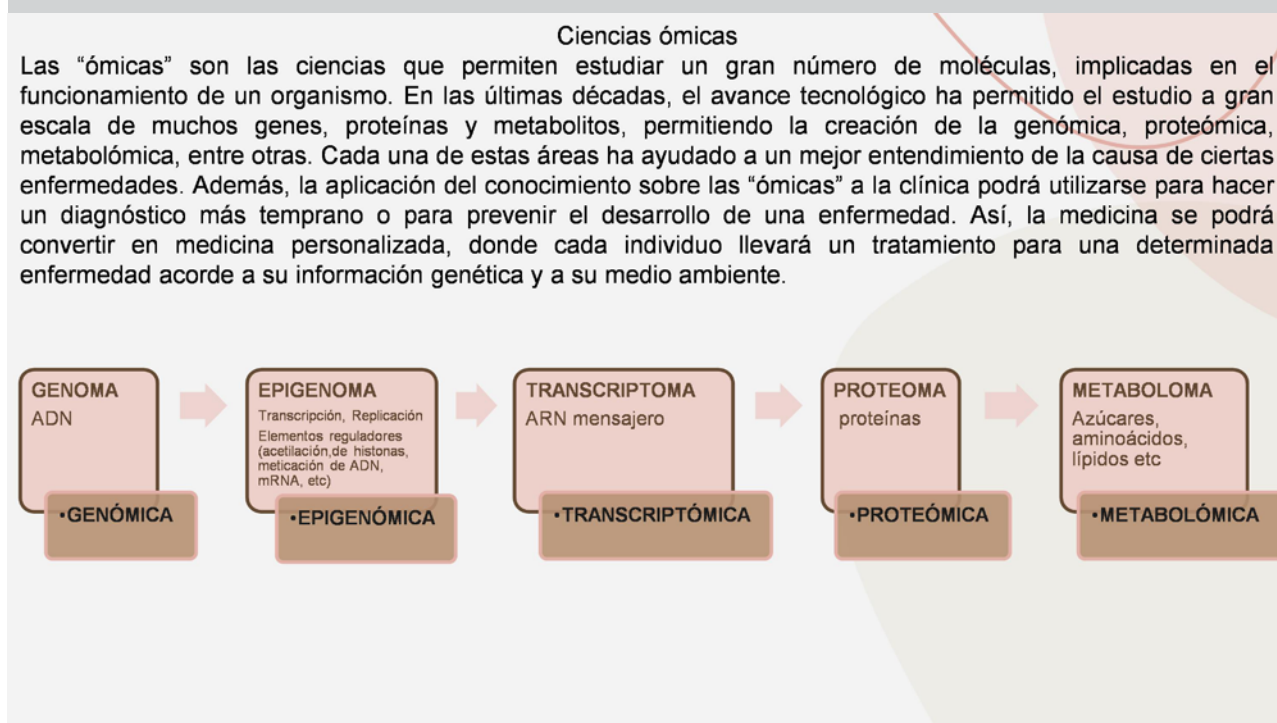
laciones y, por ende, obteniendo mejores resultados<sup>16</sup>.

Para el monitoreo de la respuesta al tratamiento, se puede utilizar la medicina personalizada, que se basa en el perfil biológico de cada paciente y permite reducir los errores de tratamiento al utilizar variables simples (sexo y edad) y datos complejos (proteómica, transcriptómica y farmacogenómica)<sup>16</sup> (Figura 2).

Se ha demostrado que los algoritmos de aprendizaje automático (AA) (*Machine Learning*, ML, por sus siglas en inglés) pueden predecir la respuesta al metotrexato utilizando datos demográficos, clínicos, antecedentes médicos y resultados de laboratorio. Por un lado, la utilización de datos “ómicos”, resultó más beneficiosa para predecir la respuesta a los FAME biológicos -de segunda o tercera línea- que para predecir la respuesta al metotrexato, pero se creó un modelo de bosque aleatorio que, utilizando datos del microbioma intestinal, podría identificar los respondedores de metotrexato. Por otro lado, un algoritmo de máquina de vectores de soporte reconoció a los pacientes que respondieron a infliximab, utilizando datos genómicos. Además, para evaluar la respuesta al tratamiento, mediante datos de imágenes, se desarrolló un sistema de puntuación basado en la gravedad de la sinovitis, tenosinovitis y enteritis en imágenes de ultrasonido en pacientes con AR y espondiloartritis<sup>16</sup>.

Para el monitoreo del curso de la enfermedad y el pronóstico, pueden usarse otras herramientas como, por ejemplo, la puntuación de actividad de la enfermedad en 28 articulaciones, que es una de las medidas de gravedad más utilizadas en la AR y puede calcularse en función de varios marcadores inflamatorios (VSG o PCR) mediante una red neuronal profunda adaptativa. Asimismo, el índice de actividad de la

**Figura 2.** Descripción de parte de las ciencias ómicas.



enfermedad clínica, que es otro sistema de puntuación que solo utiliza datos clínicos, también se puede calcular más rápidamente mediante un modelo utilizando redes neuronales para predecir la actividad de la enfermedad<sup>16</sup>.

Se sabe que la AR está asociada con una amplia gama de comorbilidades, por eso, cabe destacar que los clasificadores de ML superaron la puntuación clásica de riesgo de enfermedad cardiovascular (incluidos biomarcadores sanguíneos de laboratorio e imágenes de ultrasonido). A su vez, en cuanto a las complicaciones musculoesqueléticas, los factores de riesgo de pérdida ósea (como la pérdida ósea del cuello femoral, índice de masa corporal y niveles séricos de vitamina D) fueron identificados utilizando regresión logística convencional, regresión Lasso y métodos de bosque aleatorio. En última instancia, mediante dispositivos portátiles se puede hacer un seguimiento de los brotes (inflamación aguda) que pueden experimentar los pacientes con AR y que se asocian a la progresión de la enfermedad y peores resultados. Su seguimiento con el desarrollo de un modelo de Bayes, que utiliza información de actividad física, a partir de un reloj para la detección de brotes, mostró una sensibilidad del 95,7% y una especificidad del 96,7%, lo que lo hace potencialmente confiable para su monitoreo<sup>16</sup>.

La IA también puede contribuir con el desarrollo de nuevos fármacos mediante modelos de AA (ML) que proponen tratamientos potenciales, a partir de la inspección de perfiles de expresión de pacientes tratados con un fármaco eficaz y la presentación de objetivos que darían como resultado perfiles de expresión similares. Para poder encontrar dichos objetivos, se utilizaron algoritmos de máquina de vectores de soporte y bosque aleatorio desplazando el flujo de investigación a estudios basados en datos conocidos y analizados anteriormente, y no, en suposiciones e hipótesis<sup>16</sup>.

Como todo nuevo método, la aplicación de IA aún tiene sus limitaciones y desafíos técnicos, como la variación entre el conjunto de datos de entrada obtenidos de diferentes entornos sanitarios donde cambia el método de adquisición de datos, la codificación y la población de pacientes<sup>16</sup> (Figura 1).

## Discusión

La AR es una enfermedad autoinmune compleja, caracterizada por la presencia de autoanticuerpos, como el FR y los anticuerpos anti-CCP. Estos desencadenan una respuesta inmune que involucra la formación de inmunocomplejos, la activación del sistema del complemento y la liberación de factores quimiotácticos, lo que lleva a una respuesta inflamatoria local en las articulaciones y, eventualmente, a una respuesta sistémica. La comprensión de estos mecanismos es crucial para el desarrollo de tratamientos más efectivos y específicos para abordar la enfermedad.

Se destaca la importancia que tienen el diagnóstico precoz y la aplicación de un tratamiento adecuado en las fases iniciales para tratar de conseguir la remisión de la enfermedad o de evitar la progresión de la misma.

El tratamiento de la AR, que en principio dependía de AINE

y glucocorticoides, ha ido evolucionando con los avances tecnológicos y científicos, hasta incorporar los FAME. El enfoque terapéutico actual aborda tanto el alivio sintomático como la modificación de la enfermedad, para lo cual el metotrexato es una opción de primera línea. Los FAME biológicos, como los inhibidores de TNF- $\alpha$ , son efectivos, aunque comparativamente, más costosos y requieren de un estricto monitoreo del paciente por riesgo de infecciones y otros efectos adversos.

La investigación continua se centra en nuevos agentes y biomarcadores. La TDM es una herramienta innovadora para personalizar el tratamiento, aunque aún persisten varios desafíos y controversias en su implementación. En la actualidad, el tratamiento de la AR busca una aproximación más personalizada y eficaz, a partir del uso de la diversidad de opciones terapéuticas que hay disponibles.

En cuanto a los avances en el uso de la IA, los algoritmos pueden contribuir al diagnóstico de la AR mediante la incorporación de ómicas; imágenes; datos clínicos; sensores; el análisis del fenotipado; la evaluación de la respuesta al tratamiento; el seguimiento del curso de la enfermedad; la determinación del pronóstico y la creación de nuevos fármacos. A pesar de los resultados prometedores logrados por los modelos de IA, estos no están completamente listos para incorporarse a la práctica clínica. Se requieren investigaciones futuras para garantizar el desarrollo de algoritmos confiables y generalizables mientras se busca cuidadosamente cualquier fuente potencial de sesgo o mala conducta.

Los avances en el diagnóstico y tratamiento de la AR aquí descritos se deben en gran parte a la introducción de terapias nuevas y efectivas y a una mejora notable en los resultados clínicos. Existen potenciales terapias biológicas y de biomarcadores clínicos que se sumarán al arsenal terapéutico (temas que se abordarán en otras revisiones). A futuro, esto debería permitir lograr la remisión en un número cada vez mayor de pacientes. Es necesario entender los factores que provocan la pérdida de tolerancia y la inflamación en las articulaciones, buscar maneras de favorecer la resolución inmunológica o equilibrio interno, reparar las articulaciones dañadas y esclarecer los mecanismos detrás de los diferentes trastornos sistémicos que disminuyen la calidad y duración de la vida.

El tratamiento para pacientes con AR debe adaptarse a los perfiles clínicos individuales y, sin duda, los aportes de la biotecnología han permitido en muchos casos mejorar la calidad de vida de los pacientes. Por esto, es importante estar al tanto de los resultados de nuevas investigaciones que puedan identificar mejores biomarcadores y biofármacos específicos.

## Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Susana Llesuy y al Dr. Miguel Ángel De Cristófano por su apoyo y colaboración en la corrección de este artículo.

La revisión fue realizada en la asignatura Biotechnología y Biotecnología Farmacéutica del último año de las carreras de Bioquímica y Farmacia del Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

## Referencias bibliográficas

- McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2011 ;365(23):2205–19. <https://doi.org/10.1056/nejmra1004965>
- FEFARA Federación Farmacéutica; 2023. Día Mundial de la Artritis Reumatoidea. Disponible en: <https://www.fefara.org.ar/12-de-octubre-dia-mundial-de-la-artritis-reumatoidea/>
- Wasserman A. Rheumatoid Arthritis: Common Questions About Diagnosis and Management. *Am Fam Physician* 2018 1;97(7). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29671563/>
- Gravallese EM, Firestein GS. Rheumatoid Arthritis - Common Origins, Divergent Mechanisms. *N Engl J Med.* 2023 ;388(6):529–42. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2103726>
- Patel JP, Konanur Srinivasa NK, Gande A, Anusha M, Dar H, Bajji DB. The Role of Biologics in Rheumatoid Arthritis: A Narrative Review. *Cureus.* 2023 (1):e33293. <https://doi.org/10.7759/cureus.33293>
- Mateen S, Zafar A, Moin S, Khan AQ, Zubair S. Understanding the role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta.* 2016; 455:161–71. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.02.010>
- Stockinger B, Veldhoen M. Differentiation and function of Th17 T cells. *Curr Opin Immunol.* 2007 (3):281–6. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2007.04.005>
- Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO 3rd, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010;62(9):2569–81. <https://doi.org/10.1002/art.27584>
- Findeisen KE, Sewell J, Ostor AJK. Biological Therapies for Rheumatoid Arthritis: An Overview for the Clinician. *Biologics.* 2021;15:343–52. <https://doi.org/10.2147/btt.s252575>
- Lin YJ, Anzaghe M, Schülke S. Update on the Pathomechanism, Diagnosis, and Treatment Options for Rheumatoid Arthritis. *Cells* 2020;9(4). <https://doi.org/10.3390/cells9040880>
- Radu AF, Bungau SG. Management of Rheumatoid Arthritis: An Overview. *Cells.* 2021 Oct 23;10(11). Disponible desde: <http://dx.doi.org/10.3390/cells10112857>
- Fraenkel L, Bathon JM, England BR, St Clair EW, Arayssi T, Carandj K, et al. 2021 American College of Rheumatology Guideline for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Care Res.* 2021;73(7):924–39. <https://doi.org/10.1002/acr.24596>
- GUIPCAR: guía de práctica clínica para el manejo de la artritis reumatoide en España. 2001. 230 p.
- Leslie Escobar QF. Monitorización terapéutica de fármacos y aspectos prácticos de farmacocinética. *Rev médica Clín Las Condes.* 2016;27(5):605–14. <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2016.09.006>
- Krieckaert C, Hernández-Breijo B, Gehin JE, le Mélédo G, Balsa A, Jani M, et al. Therapeutic drug monitoring of biopharmaceuticals in inflammatory rheumatic and musculoskeletal disease: a systematic literature review informing EULAR points to consider. *RMD Open.* 2022 1;8(2):e002216. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2022-002216>
- Momtazmanesh S, Nowroozi A, Rezaei N. Artificial Intelligence in Rheumatoid Arthritis: Current Status and Future Perspectives: A State-of-the-Art Review. *Rheumatol Ther.* 2022;9(5):1249–304. <https://doi.org/10.1007/s40744-022-00475-4>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución -No Comercia- Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (mezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## SOLICITUD DE INSCRIPCION

ASOCIACION  
BIOQUIMICA  
ARGENTINA



### ASOCIACION BIOQUIMICA ARGENTINA

Fundada el 3 de septiembre de 1934

#### Miembro Fundador:

*Confederación Unificada Bioquímica de la Republica Argentina (CUBRA); Coordinadora de Colegios Bioquímicos de Ley de la República Argentina; Sociedad de Bioquímica y Patología Clínica del MERCOSUR.*

#### Institución Invitada:

*Ente Coordinador de Unidades Académicas de Facultades de Farmacia y Bioquímica (ECUAFyB)*

#### Miembro Adherente:

*Asociación Latinoamericana Patología Clínica.*

#### Integrante:

*Comisión Nacional de Certificación Bioquímica (COCERBIN); Comisión de Elaboración de Normas y Guías de Laboratorio del Ministerio de Salud y Acción Social; Consejo Asesor y del Comité de Auditoría Interna Programa de Acreditación de Laboratorios de la Fundación Bioquímica Argentina.*

La ASOCIACION BIOQUIMICA ARGENTINA es la primera entidad Bioquímica de nuestro país, y la precursora de muchas otras en Latinoamérica.

#### Los objetivos que llevaron a su creación, siguen vigentes en la actualidad:

- 1 | Promover la educación continua de los bioquímicos.
- 2 | Editar la Revista Bioquímica y Patología Clínica, que es la revista científica de la Asociación, de distribución cuatrimestral.
- 3 | Desarrollar cursos de capacitación y actualización, en la Ciudad de Buenos Aires y el Interior del País.
- 4 | Cada 2 años, organiza en los años pares el Congreso Nacional Bioquímico y en los años impares, las Jornadas de Actualización ABA.
- 5 | En su sede tiene un aula docente de 30 asientos y un moderno laboratorio de trabajos prácticos.
- 6 | Asimismo, la Asociación ha implementado el Programa de Certificación Bioquímica, mediante el cual se puede acceder a los Certificados de Especialista, y de Actualización en una determinada especialidad o en Bioquímica Clínica.
- 7 | En la Asociación funcionan además, diferentes Comisiones Internas y las Divisiones / Secciones, encabezadas por prestigiosos profesionales, para asesorar a la Comisión Directiva y a sus socios.
- 8 | La ABA tiene convenios de cooperación institucional con universidades nacionales, privadas y fundaciones científicas de prestigio.

Los socios de la ABA gozan de aranceles preferenciales en cualquier actividad que desarrolla la Institución y reciben la Revista ByPC sin cargo adicional.

## SOLICITUD DE INSCRIPCION

ASOCIACION  
BIOQUIMICA  
ARGENTINA



Para asociarse, debe hacernos llegar esta solicitud completa en letra clara de imprenta y sin omitir ningún dato. Adjuntar una foto carnet, una fotocopia del título (anverso y reverso, tamaño 10 x 15 cm) y -de elegir este sistema de pago- el formulario de ingreso al sistema de débito automático por tarjeta de crédito VISA o MASTERCARD (\$45/mes). En su defecto deberá abonar un año por adelantado (\$540/año)

En el caso que usted optara por el pago anual, puede hacerlo en efectivo en nuestra secretaría o mediante cheque y/o giro postal a la orden de "Asociación Bioquímica Argentina", completo, sin abreviaturas.

Apellido y Nombre .....

D.N.I. – L.C. – L.E. – C.I. ....

Fecha de Nacimiento .....

Domicilio .....

Localidad ..... C.P. ....

Provincia ..... País .....

Teléfono ..... e-mail .....

Título profesional ..... Otorgado por .....

Año ..... Nro. Matrícula .....

Lugar de trabajo .....

Domicilio .....

Teléfono ..... e-mail .....

### INFORMES

Secretaría de la Asociación Bioquímica Argentina Venezuela 1823 Piso 3  
1096 – Ciudad de Buenos Aires. e-mail: info@aba-online.org.ar.  
TELEFAX (011)4384-7415 - TEL: (011) 4381-2907

Horario: Lunes a Viernes de 15:00 a 19:00 Hs.